

ヒト21番・22番染色体をモデルとするマクロ循環の遺伝に発現制御への関与

●丸山 和夫

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

研究の目的と進め方

プロモータなどの近傍の塩基配列だけで遺伝子の発現制御機構を解析しようとする従来の方法では、発現制御の全体像を把握することは困難であった。しかし、DNA マイクロアレイ技術の進歩によって、一度に万単位の遺伝子の発現を比較することが可能になり、さらに、染色体の全塩基配列が明らかになりつつある現在、遺伝子の発現制御を染色体というマクロな環境において解析することが可能となった。

本研究は、遺伝子の発現制御に関与する特異的塩基配列および同一染色体上の他の遺伝子・繰り返し配列・染色体の特異的構造などのマクロ環境が発現に与える影響を明らかにし、複雑な遺伝子発現に関与する多因子疾患の病態解明を目的としている。

モデルとして、全貌が明らかになったヒト21番・22番染色体を選んだ。塩基配列からヒト21番・22番染色体には、それぞれ225個・545個の活性を持つ遺伝子があると予想されている。2000年度は、21番染色体から66遺伝子、22番染色体から86遺伝子、計152遺伝子のマイクロアレイ化を行い解析した。2001年度は残りの遺伝子について解析を進めた。

2001年度の研究の当初計画

- ・残りの遺伝子のマイクロアレイ化
- ・公開データを利用した解析
- ・各種の細胞株あるいは薬剤処理前後の細胞での発現プロファイルを解析

2001年度の成果

マイクロアレイ化した遺伝子、計449遺伝子について解析を行った。内訳は、21番染色体が142遺伝子、22番染色体から307遺伝子であり、発現している遺伝子をほぼ網羅していると考えられる。

Rosetta Inpharmatics グループの大規模アレイ(22番染色体：Nature 409,922-927(2001))の利用を試みたが、公開されている情報だけでは信頼度の高い解析は不可能と判断し、断念。

薬剤により分化誘導される細胞を用いて、メチル化・アセチル化などの影響を解析した。

国内外での成果の位置づけ

上記 Rosetta グループが22番染色体の大規模アレイ(各遺伝子の全エキソンを網羅)の結果を報告しているが、本研究とは視点がまったく異なる。

達成できなかったこと、予想外の困難、その理由

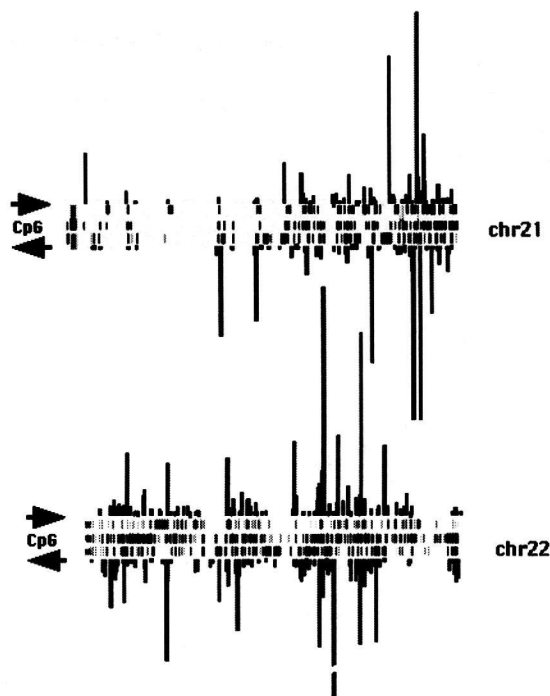
当初、Rosetta グループの公開情報の利用により高密度の発現解析が可能になると考え、解析を進めたが、有効には利用できなかった。マイクロアレイを用いて、半定量的に発現を解析することは、厳密なコントロール実験によるキャリブレーションが不可欠であるが、適切な実験系を組むことができなかった。染色体の各要素をどのように数値化してクラスタリングに用いるかを確定するまでには至らなかった。

今後の課題

公開情報の有効利用の仕方を再検討する必要がある(共同研究などの可能性を含め)。

マイクロアレイデータの信頼性を高めるために、塩基配列・塩基組成などの要素がシグナル(つまりハイブリッド強度)に与える影響を補正する基礎データの収集が必要である。

数百のサンプルを一度に解析できるリアルタイムPCRの技術の利用も検討する必要がある。



21番、22番染色体上の遺伝子発現レベルの一例
順方向・逆方向の遺伝子について、染色体上の遺伝子の位置を横棒で、発現量を上向き・下向きの棒の長さで示す。CpGジヌクレオチドの位置は間に示してある。細胞はNT2(未処理)。