

遺伝子ライブラリーデータの解析手法の自動化とデータマイニング

著者	岩佐 達郎, 森下 義和, 施 建明
雑誌名	サテライト・ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー年報
巻	6
ページ	65-66
発行年	2004
URL	http://hdl.handle.net/10258/336

遺伝子ライブラリーデータの解析手法の自動化とデータマイニング

著者	岩佐 達郎, 森下 義和, 施 建明
雑誌名	サテライト・ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー年報
巻	6
ページ	65-66
発行年	2004
URL	http://hdl.handle.net/10258/336

3) 学内公募研究課題 A

遺伝子ライブラリーデータの解析手法の自動化とデータマイニング

岩佐達郎¹、森下義和¹、施 建明²
室蘭工業大学 ¹材料物性工学、²情報工学

1. 要旨：本研究では、我々がこれまで行ってきたイモリ嗅上皮 cDNA ライブラリーの EST 解析において、解析の及んでいなかったデータの中から有益なデータを見出すことを試みた。まず、これまでの EST 解析では相同な遺伝子の報告が無いか、あっても相同性のきわめて低かった遺伝子群について、これらを Smith-Waterman の解析によりグループ分けした。グループの中でクローン数の多かったものについて、遺伝子配列、発現部位解析を行い、生物学的意義付けを行った。その結果、これらのグループに属する遺伝子は嗅上皮、脳に発現しているまったく新奇なものであることがわかった。

つまり、これまでの EST 解析で解析の進んでいなかった未知遺伝子群の予備的解析手法として、本解析方法は有効であることがわかった。

2. イモリ嗅上皮 cDNA ライブラリーの EST 解析：我々は生き物の感覚に近い「匂いセンサー」を開発するには「匂い感覚」についてより理解する必要があると考え、におい分子受容体、におい分子相互作用と「匂い感覚」との関連を明らかにしようと、イモリ嗅上皮 cDNA ライブラリーを作成し、その網羅的解析を行ってきた。その結果、図に示されているように解析したクローンの半分以上が全く新規なものであるか、相同性のきわめて低いものであった。これらのクローンからのデータ探索は極めて有意義なものであると思われるが、同時に時間の掛かることが予想される。そこで、これら未知遺伝子群の解析の

手始めとして、未知遺伝子群を Smith-Waterman の手法でグループ分けすることを試みた。

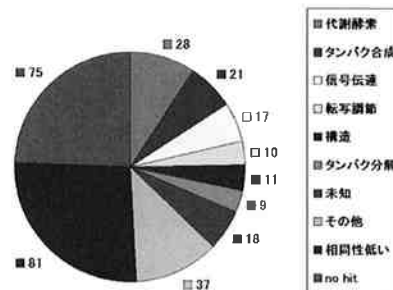


図1. EST解析によるクローンの分類

3. Smith-Waterman による未知遺伝子群のグループ分け：手始めとして、156 クローンある未知遺伝子群から任意に 76 クローンを選択し、Smith-Waterman の手法で分析した。任意の二つのクローンの配列を比較し、ポイントを与えるが、1000 以下ではほとんど同一の配列であると思われる。そこで、2000 ポイントを閾値とし、それ以下の値を示す組をグループ分けした。

その結果、グループA (12 クローン)、グループB (3 クローン)、グループC (2 クローン) が見出された。今回は最もクローン数の多かったグループAに注目し、このようにして見出された遺伝子群が生物学的に意味のあるものであるか検討した。

4. RT-PCR による発現解析：まず、これらの遺伝子群がどの組織で発現しているかを RT-PCR の手法で解析した。イモリの各組織より全 RNA を抽出し、その 2 ug を鋳型として cDNA を合成した。この cDNA に対してグルー

プAのクローン 294 より作成した特異的プライマーを用いてRT-PCRを行った。結果は図2に見られるように、調べた組織では脳と嗅上皮のみに発現が認められた。

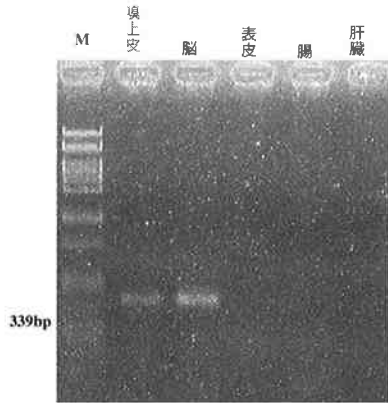


図2. RT-PCR

5. 嗅上皮凍結切片を用いた in situ ハイブリダイゼーション：図2の結果からグループAの遺伝子群は脳、神経系に発現しているようなので、嗅上皮ではどの細胞に発現しているのかをイモリの鼻丸ごと凍結切片を用いて調べた。図3上は凍結切片にRNAプローブをかけ、発色させた後の切片を明視野で観察したものであり、発色部位がよくわかる。図3下は同じ切片を位相差観察したものであり、細胞の様子がよくわかる。両者を比べてみると、シグナルは嗅上皮ボーマン腺を構成する細胞に認められることがわかる。ボーマン腺は嗅上皮を覆う粘液を分泌する腺組織である。

6. グループA遺伝子はタンパク質を作る遺伝子なのか？ これまでのグループA遺伝子発現解析では神経系特異的と思われる発現パターンを示し、嗅上皮ではボーマン腺に発現していた。これらの結果からはグループA遺伝子が何らかのタンパク質として発現され、

神経系で機能していることが予想される。そこで、グループAのクローンのDNA配列を決定し、予測されるアミノ酸配列を解析してみた。残念ながら、現在決定された配列からは適当な長さを持つ翻訳領域は推定できなかった。しかし、得られた配列の3末端側にはポリアデニレーション配列が認められた。これはその遺伝子が mRNA となり、翻訳されてタンパク質となることを示唆するものである。現在得られている配列の更に5側に翻訳領域が存在する可能性が考えられるので、現在解析を続けている。

7. 結論：今回我々がとった手法は EST 解析での未知遺伝子群を解析するための簡便な手法として有用なものであると考えられる。

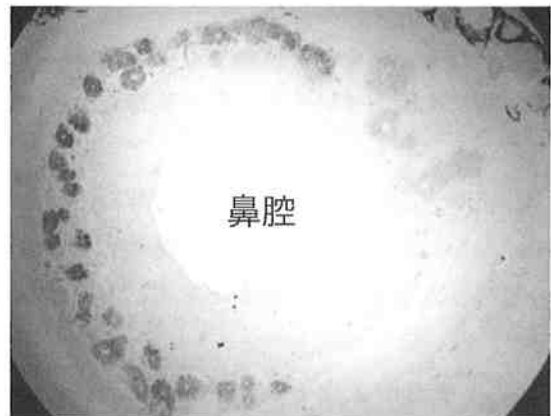


図3上. 紫色の遺伝子発現を示すシグナルが左側のボーマン腺に認められる。下. 位相差観察

