

<p>サブテーマ名：マウス長鎖 cDNA の取得・構造解析とそのための効率化技術の開発 小テーマ名：①cDNA ライブラリー作製とクローン取得 ② cDNA 配列のコンピューター解析 ③マウス長鎖 cDNA アレイの作製</p>
<p>サブテーマリーダー（所属、役職、氏名）千葉県産業振興センター（主任研究員）古閑 比佐志 小テーマリーダー（所属、役職、氏名）かずさDNA研究所、室長、長瀬 隆弘 研究従事者（所属、役職、氏名）かずさDNA研究所、室長、長瀬 隆弘、及び主任研究員、菊野 玲子、及び研究員、小原 令子</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>①研究の概要 平成13年度には、ヒトKIAA遺伝子に対するマウス相同遺伝子取得のために必要な遺伝子ソースであるライブラリーの作製及び、相同遺伝子を効率良く取得するための技術を開発した。クローン選択に必要な末端配列解析を行い、最終的には180309の末端配列解析結果がかずさDNA研究所内で利用可能となった。末端配列の相同性からのみでは、取得できない相同遺伝子に関しては、新たにMUCH (multiplex cloning of homologous genes)法というハイブリダイゼーションの技術を利用したクローニング法を開発し、その取得に努めた(Biotechniques, 2004 May;36(5):798-800, 802, 804 passim)。コア研究室で得られた全長配列結果を用いてコンピュータによる相同性評価やゲノム配列と照らし合わせることで染色体領域の決定等も行なった。これらのcDNA情報はROUGE (Rodent Unidentified Gene-Encoded Large Proteins)データベースを構築し、世界の研究者へ向けての情報も発信した。さらにコア研究室で蓄積・管理しているマウス遺伝子クローンを用いて、ナイロン膜メンブランを基盤としたcDNAマイクロアレイを作製し共同研究先に配布するとともに、コア研究室においてもこれを用いた発現情報を蓄積した。</p> <p>②研究の独自性・新規性 従来行われてきたcDNAプロジェクトの多くは盲目的に遺伝子の集積を行ってきた。しかしながら我々は脳や免疫系に比較的発現が高い長鎖の遺伝子(KIAA遺伝子)のマウス相同遺伝子を取得することに特化したプロジェクトを行ってきた。このような遺伝子資源は脳あるいは免疫系疾患の研究に極めて有用な基盤的リソースとなった。また独自に開発したCDS(蛋白質をコードする領域)予測プログラム(GeneMark)やヒト遺伝子解析で培ったコンピュータ技術 (http://www.kazusa.or.jp/huge/) は、派生する情報という観点から、さらに我々の遺伝子資源の付加価値を高めていると言える。</p> <p>cDNAマイクロアレイに関しては得られたcDNAクローンとナイロン膜メンブランを用いることで廉価でかつ利便性の高い(特別な機材のない研究室でも解析可能な)アレイを提供できた点では評価できるものである。しかしながらアフィメトリックス社を代表するようなコマーシャルレベルでのオリゴDNAマイクロアレイが主流となった現在、どのようにcDNAマイクロアレイを展開していくかは次なる大きな課題である。いずれにしても、本事業において遺伝子資源からマイクロアレイまで、自己完結型の体制を整えたことは特筆すべき点と考える。</p> <p>③研究の目標 (フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に) フェーズⅠ (H13-H15) :フェーズⅠにおいては2000種類のヒトKIAA遺伝子に対するマウス相同遺伝子の全長配列解析を目標としているが、この目標はフェーズⅠ内に達成した。 フェーズⅡ (H16-H18) :フェーズⅡではmKIAA以外の長鎖cDNAに研究の幅を広げ、最終的に250クローンについてマウス長鎖 cDNAクローン(mKIBB)を取得した。 フェーズⅢ (H18. 11.25事業完了日以降) : マウス長鎖 cDNAを創薬研究用及び遺伝子解析等の基礎研究用ツールとして提供するビジネスへ展開する。</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況 (目標と対比して) 平成13年度は目標どおりライブラリーの作製、hybridization技術を利用した新規遺伝子取得法開発及び250相同遺伝子の取得を達成した。平成14年度においても目標であった1500遺伝子の選択を達成した。フェーズⅠの最終年であった平成15年度には目標どおり2000遺伝子の取得が達成された。さらにフェーズⅡにおいてmKIAA, mFLJ以外の長鎖cDNAへの解析の範囲を広げリソースの拡充に努めた。また全長配列解析が終了したcDNA配列に対しては随時コンピュータ解析を加え、最終的に2169遺伝子を公共のROUGEデータベースで閲覧できるよう解析を済ませた。共同研究先からは配布したcDNAマイクロアレイの結果が国際誌に複数掲載され、いずれも当初目標を超えるレベルまで到達した。</p>

主な成果
 具体的な成果内容：
 特許件数：7 論文数：46 口頭発表件数：12（海外2）

研究成果に関する評価
 1 国内外における水準との対比
 国内外を問わず同様のプロジェクトは行われていない。ヘリックス研究所などで行われたcDNAプロジェクトにおいても末端配列解析の結果のみから抽出した遺伝子である。我々のごとく新規遺伝子取得法を開発しそれを適応してcDNAクローンを選択するという試みは極めて稀有な研究といえよう。しかしながらこのような方法論を取ることで、通常の方法では取得困難な極めて発現量の少ない遺伝子も取得可能となったことは特筆に値する。また、特許性の有無を判断した後我々が公開している全長配列のコンピュータ解析結果は世界中の研究者がフリーに利用できるのみでなく、必要な情報がほぼ全て網羅されている。理化学研究所やNIHなどの大規模国家プロジェクトを除きこのような情報発信を行っている研究機関はかすさDNA研究所を含む極限られた研究機関のみである。更にその内容は前記プロジェクトと比較しても決して見劣りのするものではなくむしろ情報として優れた部分も多い。DNAマイクロアレイに関しては、廉価でかつ利便性の高いアレイを提供し、共同研究先で生物学的に重要なエヴィデンスが得られたことは十分評価できるものと捉えている。しかしながらアフメトリックス社を代表するようなコマーシャルレベルでのオリゴDNAマイクロアレイが主流となった現在、別の用途を模索する必要は避けがたい。

2 実用化に向けた波及効果
 ヒトゲノム計画が一応の終息をみせた現在、研究の一つの方向性として同一の遺伝子から得られる複数の異なる転写産物（alternative splicingなどの機構によって生じる産物）の解析は重要性を増した。これらの産物は特定の時期・条件などで生じると考えられているが、我々が行っているライブラリー作製法や新規に開発した遺伝子取得法はこのような産物の解析に極めて有用と考えられる。従って我々の研究成果はポストゲノム時代の研究の根幹をなす技術となろう。

残された課題と対応方針について
 哺乳類培養細胞を用いた遺伝子発現系は今後の研究発展のため極めて重要な技術と考えられる。このことを鑑み遺伝子発現技術の開発とともに、随時KIAA遺伝子発現細胞株の既に開始した。今後はこれをゲノムネットワークなどの後継プロジェクトにおいてさらに展開していく。

	J S T負担分（千円）							地域負担分（千円）							合 計
	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小 計	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小 計	
人件費								6,879	31,118	64,394	65,490	57,600	18,971	244,452	244,452
設備費								46,389						46,389	46,389
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)								91,573	232,318	185,853	153,867	167,231	68,086	898,928	898,928
旅費															
その他															
小 計								144,841	263,436	250,247	219,357	224,831	87,057	1,189,769	1,189,769

代表的な設備名と仕様 [既存（事業開始前）の設備含む]
 J S T負担による設備：なし
 地域負担による設備：キャピラリーDNAシーケンサー、マイクロアレイ作製装置、電気泳動装置、大型コンピュータシステム

※ 複数の研究課題に共通した経費については按分する。