

## 個人研究報告

機能解析グループ 秦野伸二

### 1) 若年発症型家族性筋萎縮性側索硬化症 (ALS2) 原因遺伝子の単離同定

若年発症型家族性筋萎縮性側索硬化症 (ALS2) は、常染色体劣性遺伝形式を示す運動神経細胞疾患である。ALS2 遺伝子座は、ヒト第 2 染色体長腕 q33-q34 の 1.7cm(1)(3.3Mbp) 領域にマップされている。我々は、ALS2 原因遺伝子を単離・同定するために、ポジショナルクローニング法を用いた。まず、酵母人工染色体および大腸菌人工染色体クローンにより候補ゲノム領域のクローニングおよび物理地図の作成を行った。さらに、候補遺伝子領域からの原因候補遺伝子の包括的同定を行った。その結果、候補領域から 42 種類の独立した転写配列ユニットが同定された。さらにこれら転写配列とゲノム配列を比較した結果、42 個の転写配列ユニット中に合計 395 個のエクソンが存在することが明らかとなった。各エクソンを含む領域を ALS2 患者および正常人のゲノム DNA から増幅し、各々の塩基配列を決定した。その結果、8 個の ALS2 に連鎖する塩基配列多型を発見した。その中の一つは、新規遺伝子 ALS2CR6 遺伝子の第 3 エクソンに存在する一塩基欠失変異であり、ALS2 の原因遺伝子変異であると推定された。ALS2CR6 遺伝子は、ヒト脳組織を含めた多様な組織で発現する遺伝子であり、推定されるアミノ酸配列から新規 GTPase 調節因子をコードすると推定された。この一塩基欠失変異により正常タンパク質が生成されないため、その機能欠損が ALS2 における原因であると考えられた。以上より、ALS2CR6 遺伝子は ALS2 原因遺伝子であると結論された。

### 2) ハンチントン病遺伝子領域の転写地図の作成

ハンチントン病 (HD) 遺伝子を含むおよそ 1Mb のゲノム領域 (4p16.3) は、高密度に遺伝子が存在する領域であると推定されている。我々は、HD 遺伝子近傍領域にコードされている多数の遺伝子の構造・発現、遺伝子間の相互作用、および HD との関連を明らかにするため、HD 遺伝子を含むおよそ 1Mb の領域に存在する転写配列の分離および解析を行った。まず、HD 領域のゲノム DNA を保持した酵母人工染色体クローンから単一コピーのマイクロクローンプールを作製し、それらをプローブとして 3 種類のヒト脳 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。その結果、HD 領域にマップされる 627 個の cDNA クローンを得た。さらに、コスミドクローンを利用した高解像度マッピング、塩基配列の決定、ゲノム塩基配列との比較、RT-PCR/ノザン解析による遺伝子の発現および転写方向に関する検討を行ったところ、4 種類の既知遺伝子

(IT15、IT11、IT10C3 および ADD1)に加えて、最低でも 6 種類の新規遺伝子 (RES4-22~27) が存在することが判明した。これらの中で、RES4-24 と RES4-25 の 2 種類の新規遺伝子は、同一ゲノム態域上にオーバーラップして存在し、しかもそれぞれの遺伝子の転写方向が互いに逆向きであることが明らかとなった。

### 3) アポトーシス関連遺伝子のゲノム構造の解析

カスパーゼは、アポトーシスの引き起こす上で重要な機能を果たすことが知られ、哺乳動物では 14 種類存在することが知られている。本研究では、各カスパーゼの遺伝子構造を解明することを目的とした。本研究では、3 種類のカスパーゼ遺伝子 (caspase-8, caspase-9 および caspase-10) を選択し、それらの遺伝子構造を解明した。さらに caspase-8 の類似構造を持つ新規遺伝子 *usurpin* の遺伝子構造も明らかにした。