

## Probe walking : development of novel probes for DNA fingerprinting

著者	Washio Keiko, Misawa Shogo, Ueda Shintaroh, Ueda Shintaro
内容記述	Thesis--University of Tsukuba, D.M.S.(A), no. 786, 1990. 3. 23 Offprint. Originally published in: Human genetics, v. 83, pp. 223-226, 1989 Joint authors: Shogo Misawa and Shintaroh Ueda Includes supplementary treatises
発行年	1990
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/948">http://hdl.handle.net/2241/948</a>

氏名(本籍)	鷺尾慶子(兵庫県)		
学位の種類	医学博士		
学位記番号	博甲第786号		
学位授与年月日	平成2年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	Probe walking. development of novel probes for DNA fingerprinting (プローブウォーキング: DNAフィンガープリントのプローブ検索)		
主査	筑波大学教授	医学博士	濱口秀夫
副査	筑波大学教授	医学博士	小磯謙吉
副査	筑波大学教授	医学博士	大菅俊明
副査	筑波大学教授	医学博士	小形岳三郎
副査	筑波大学助教授	薬学博士	井柳堯

## 論文の要旨

### <目的>

ヒトなどの生物種のゲノムDNAには、短いDNA配列が繰り返し並んだ領域(直列型反復配列)が複数の箇所が存在する。この直列型反復配列の繰り返し単位のコピー数には、個体差が存在して高度な遺伝的多型性を示すことがある。したがって、適切な直列型反復配列をプローブとして用いたSouthernプロット法により、多数のDNA断片からなる、各個体に特異性の高いパターンを得ることができる。このDNA断片パターンは、「DNAフィンガープリント」と呼ばれ、個体識別や親子鑑定などに広く利用されつつある。しかし、現在までに報告されているプローブはまだ少なく、一般に手に入りにくい。

本研究は、1)ヒトの癌遺伝子c-Ha-ras-1の下流に存在する28塩基直列型反復配列がDNAフィンガープリントのプローブとして有用であるかどうか、2)この28塩基直列型反復配列をプローブとして用いることにより、ヒトゲノムからDNAフィンガープリント用の新しいプローブをクローニングできるかどうか、の2点を明らかにすることを目的として行われた。

### <材料と方法>

ヒトの末梢血リンパ球から調製したDNAを、制限酵素で切断し、ヒトc-Ha-ras-1遺伝子下流の28塩基直列型反復配列または新たにクローニングした33塩基直列型反復配列をプローブとして用いたSouthernプロット法により分析した。新しい33塩基直列型反復配列クローンは、まずヒトのゲ

ノムライブラリーから上記の28塩基直列型反復配列をプローブとして低いストリンジェンシーの条件下で組換え体ファージをスクリーニングし、これをさらにサブクローニングすることにより得た。

#### <結果と考察>

1) ヒトの DNA を、低いストリンジェンシーの条件下で、c-Ha-ras-1 遺伝子下流の28塩基反復配列をプローブとして用いたSouthernプロット法で分析したところ、4キロ塩基対以上の DNA 断片が、HinfI 切断 DNA で15個、Sau 3 AI 切断 DNA で18個検出できた。これらの DNA 断片の泳動パターンは、血縁関係のない21人の個体間で互いに異なっていた。このデータから、二人の他人がまったく同じ泳動パターンを示す確率は、HinfI 切断 DNA で $2.0 \times 10^{-10}$ 、Sau 3 AI 切断 DNA で $9.3 \times 10^{-12}$ であると算定できた。さらに6家系について家系分析を行ったところ、これらの DNA 断片は、Mendel の独立遺伝の法則にしたがって遺伝することがわかった。このデータから、上記の28塩基反復配列プローブで検出できる DNA 断片は、遺伝的に安定であり、連鎖していない多数の DNA 領域から由来していることがわかった。

2) 血縁関係のない15人の DNA を HinfI で切断し、新しい33塩基反復配列をプローブとして用いて低いストリンジェンシーの条件下で Southern プロット法により分析したところ、泳動パターンが個体間で互いに異なる多数の DNA 断片が検出できた。これらの DNA 断片の多くは上記の28塩基反復配列プローブで検出できる DNA 断片と易動度が異なっていた。このデータは、33塩基直列型反復配列が DNA フィンガープリントの新しいプローブであることを示唆している。

#### <結論>

c-Ha-ras-1 遺伝子下流に存在する28塩基直列型反復配列は、DNA フィンガープリントのプローブとして有用である。本研究の結果はまた、既存の DNA フィンガープリントプローブを用いて、新しいDNAフィンガープリントプローブをクローニングできることを示唆している。

### 審 査 の 要 旨

DNA フィンガープリントは、法医学を中心に、今後医学領域でますます活用されていくと考えられる。鷲尾氏が本研究で、既存の DNA フィンガープリントプローブを用いてることにより、新しい DNA フィンガープリントプローブをクローニングできる可能性を示したことは高く評価できる。また、c-Ha-ras-1 遺伝子下流の28塩基直列型反復配列が、DNA フィンガープリントプローブとして有用であることを明らかにしたことも重要である。

よって、著者は、医学博士の学位を受けるに十分な資格があるものとみとめる。