

## 肝臓特異的糖転移酵素発現異常マウスのゲノム解析

日大生産工（院） ○野口 翔太 日大生産工 野呂 知加子  
理化学研究所 中村 京子 東海大学 鈴木 明身

### 1 背景と目的

糖鎖は、核酸、タンパク質に続く「第3の生命線」とよばれ、近年注目されている。糖鎖は様々な生理機能や細胞間の情報伝達、細胞間の結合レセプターなどとして働き、またウィルスの侵入にも関係している。

生物の遺伝情報である DNA は RNA に転写され、リボソームにおいてタンパク質に翻訳される「セントラルドグマ」と呼ばれる一連の流れがあるが、糖鎖の構造決定自体はこのセントラルドグマの流れには含まれていない。糖転移酵素と呼ばれるタンパク質が触媒となって、多様な糖鎖構造多様な発現を決定している。糖鎖は生体内でタンパク質や脂質と結合し、糖タンパク質および糖脂質という複合糖質として存在している。その詳細な生成メカニズムについてはまだ不明な点が多いが、最近の先端機器により網羅的解析研究が進み、機能解明も進みつつある。また糖転移酵素の遺伝子クローニングや発現解析も進んでおり、遺伝子導入マウスの作成と解析など、遺伝子工学的応用も行われている。

本研究では、糖転移酵素の組織特異的発現制御機構の解明をめざし、肝臓特異的に、ある糖転移酵素の発現抑制を示す自然突然変異マウス系統のゲノム解析を行った。WHT/Ht 系統のマウスは、肝臓でのみ、B4galnt1 という糖転移酵素が発現せず GM2 という糖脂質を生成できない。脳で

は B4galnt1 が発現しており、GM2 が生成しているため、この糖転移酵素をコードする遺伝子自体が欠損しているわけではない。従って、肝臓特異的な遺伝子発現制御部位に何か変異があると予測される。そこで、WHT/Ht 系統、および肝臓でも GM2 を発現する Balb/C 系統と WHT/Ht 系統とのコンジュニックマウス（WHT/C 系統）のゲノム DNA を比較解析し、ゲノム上で差のある部位を特定することを目指した。

### 2 材料と方法

これまでの研究から、WHT/Ht 系統のゲノムには、B4galnt1 遺伝子 5' 上流約 3kb 付近に 221bp の反復配列の欠損があることが分かっているが、この部分の欠損は GM2 の肝臓特異的発現抑制と関係がないことが後に調べられた。本研究では、この欠損より上流の約 3.5~7kb の解析を行った。マウスゲノムデータベース配列を利用して、この領域に primer 設計し、WHT/Ht マウスと WHT/C マウスのそれぞれのゲノム DNA を鋳型として PCR を行い、電気泳動により産物のサイズの比較を行った。

### 3 結果と考察

B4galnt1 遺伝子 5' 上流約 3.5~7kb を PCR と電気泳動により調べた結果、上流 5.5~7kb 付近に、WHT/Ht 系統に Fig1 のような変異があることが見つけられた。

---

The genome analysis of WHT/Ht mice that show liver specific repression of B4galnt1  
Syota NOGUTI, Chikako YOSHIDA-NORO, Kyoko NAKAMURA and Akemi SUZUKI

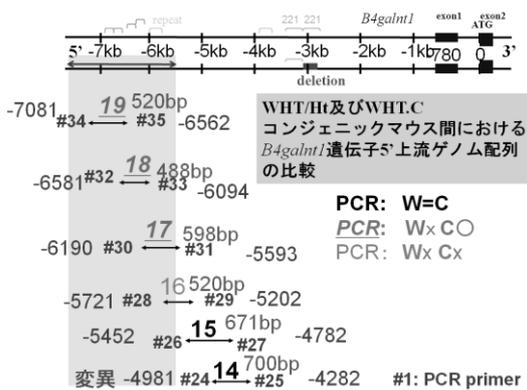
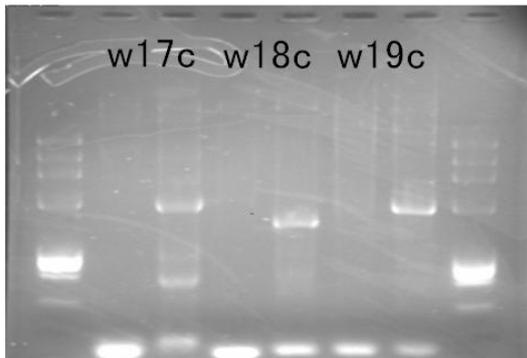


Fig.1 遺伝子上流 4~7kb 電気泳動結果  
 PCR17(5593~6019bp),18(6094~6581bp),  
 19(6562~7081bp)において WHT/Ht 由来の PCR  
 産物が現れなかった。 W: WHT/Ht C: WHT/C  
 さらにこの変異部位を詳しく調べるため  
 primer の組み合わせを変えて、PCR 実  
 験を行った。すると WHT/C 系統では予想  
 通りのサイズの PCR 産物が見られるが、  
 WHT/Ht 系統では見られないという同様の  
 結果となった。

この部分の変異について詳細な解析を  
 行うために、変異部分を挟む形で PCR 行  
 い、産物をクローニングして塩基配列解析  
 を行うことにした。上流約 7.5~8kb に新  
 たに primer を設計し、同様に実験を行っ  
 た。上流 7.5~8kb の中の primer の組み  
 合わせでは、WHT/Ht、WHT/C のどちら  
 も同じサイズの産物が確認された。従って、

WHT/Ht 系統マウスゲノムの変異は  
 B4galnt1 遺伝子 5' 上流 5593~7520kb  
 付近に 2kb ほどの幅である可能性である  
 ことがわかった。さらに詳細に変異箇所を  
 特定し、塩基配列解析を行う予定である。

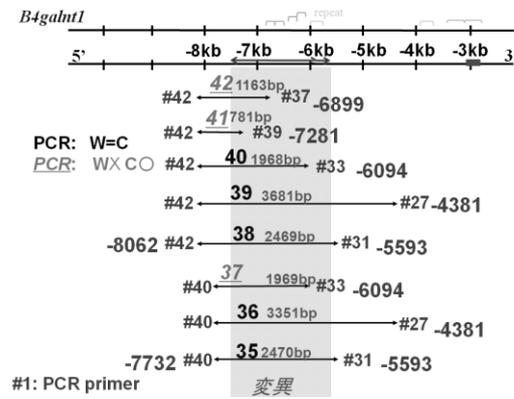


Fig.2 B4galnt1 遺伝子上流の変異部位近辺にお  
 ける電気泳動結果

今後は、塩基配列から、肝臓特異的遺伝子  
 発現に関連することが知られている転写  
 因子の結合箇所を確かめ、その部分に変異  
 があるかどうかについて調べる。また変異  
 箇所が実際に遺伝子発現抑制に関係して  
 いるかどうかについて、この部分をルシフ  
 ェラーゼ遺伝子に結合させ、プロモーター  
 アッセイを行う予定である。

#### 4 参考文献

- 1) The expression of IV6 beta[Gal beta 1-4(Fuc alpha 1-3)GlcNAc]-Gb5Cer in mouse kidney is controlled by the Gsl-5 gene through regulation of UDP-GlcNAc:Gb5Cer beta 1-6N-acetyl-glucosaminyltransferase activity. Sekine M, Hashimoto Y, Inagaki F, Yamakawa T, Suzuki A.(1990) J. Biochem, 108(1)103-108.
- 2) きちんとわかる糖鎖工学 白日社産総研,
- 3) 糖鎖 I 糖鎖と生命 永井克考,
- 4) 糖鎖のはなし 平林淳