

75 ジーンターゲットイング法を用いたリム結合蛋白Ldb1の解析

旭川医大
山下 剛、石川睦男

〔目的〕近年リム遺伝子 (LIM) と呼ばれる一群の転写因子が、頭部形成をはじめ下垂体、神経、血液といった生物の基本コンポーネントにおいて、その発生および機能発現の重要な調節因子であり、悪性腫瘍の一部においてもその異常が発癌と関連していることが報告された。今回我々は、これらのリム遺伝子に結合し、その制御を行うと予想されるLIM-domain binding protein 1(Ldb1)のクローニングを行い、実際の生体内での機能をモデル動物を作成して解析した。(方法)モデル動物の作成にはジーンターゲットイング法を用いた。129/sv mouse genomic libraryよりLdb1cDNAを用いてscreeningされたクローンより、全長約4kbのcoding regionを含む部位の塩基配列を決定し、ターゲットとなるエクソン2から9までをNeoで破壊したベクターを作成した。エレクトロポレーション法で胚性幹細胞に組み込んだ後、陽性クローンを胚盤胞に注入した。誕生したキメラマウスの交配後、ヘテロおよびホモマウスが作成されこれらが解析に用いられた。(成績)ヘテロには異常は認めなかったが、ホモマウスでは致死であった。8日目胚における解析では、心臓の形成を認めず、尿膜の強い変形が認められた。また頭部の欠損が認められ、約40%に体軸の2重化が認められた。(結論)この結果はすでに報告されているリム遺伝子のノックアウトマウスの表現型と酷似しており、Ldb1が実際の生体の中で、リム遺伝子を制御している可能性が強く示唆された。

76 Gonadotropin, thyrotropin受容体類似の二種のG蛋白結合7回膜貫通型受容体cDNAのクローニング

帝京大学市原病院1、Stanford大学2
梁 善光1、Aaron J.W. Hsueh2、貝原 学1

〔目的〕LH/CG, FSH, TSHの各受容体はG蛋白結合7回膜貫通型受容体の中でも特徴的なleucine-rich repeat (LRR)よりなるN末端細胞外領域を有し、glycoprotein hormone receptorsとして分類されるが上記3種以外のものは知られていない。今回この群に属する新しい2種の受容体(LGR4&5: Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled Receptor 4&5)のクローニングに成功したので報告する。〔方法〕ショウジョウバエでクローニングされたglycoprotein hormone様受容体の塩基配列を基にデータベースを検索し、これに類似し、しかも既知の3受容体とは異なる2種のヒトDNA部分断片を得た。これに基づき各specific primerを作製しcDNA libraryより5', 3' RACE法を用いてこの2種のcDNA配列を決定した。〔成績〕1. LGR4 cDNAとして全長3504bpがラット卵巣より得られた。Open reading frame (ORF)は951アミノ酸より構成される。2. LGR5 cDNAはヒト胎盤から得られた4208bpであり、ORFは907アミノ酸よりなる。3. 両者とも17回のLRRを含むN末端細胞外領域、7回膜貫通部、C末端尾部を有すると推定され、既知の3受容体に構造的に類似していた。またこの2種は相互に高いホモロジーを認めた(細胞外54%、膜貫通部49%)。4. LGRsは既知の3受容体に比べ約200bp長い細胞外領域を有する。両群のアミノ酸配列の比較では、細胞外領域で約20%、膜貫通部で約25%の相同性が認められた。他方、C末端尾部では相同性は乏しかった。〔結論〕LH/CG, FSHおよびTSH受容体に類似する新たな二種の受容体をクローニングした。現時点ではligandsは不明であるが、その類似性から生殖生理への関与が期待される。