

159

ヤギ成長ホルモン遺伝子のクローニングと家畜育種の展望

(京大・農・農化、*畜産) ○駒野 徹、酒井 裕、山野好章、*入谷 明、
*内海恭三

1) 目的。微生物で得られた分子育種に関する知見は次第に高等生物に応用され、特定の遺伝子を目的とする生物において発現させようとする試みが多くなされてきており、有用物質の生産に、医薬の諸分野に応用されている。本研究は成長性、泌乳性を向上させるための家畜の分子育種を目的としたもので、一連の研究を通して動物の育種に役立つことを念願としている。

2) 方法。ヤギ成長ホルモン(gGH)cDNAは、ヤギ脳下垂体よりpoly(A)RNAを抽出、精製した後、Okayama-Berg法により調製し、ウシGHcDNAをプローブとして分離した。成長ホルモンゲノムDNAは、ヤギ脾臓より高分子DNAを抽出し、これを制限酵素Bgl II、BamHIで消化し、cDNAをプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行い、16-21 kbp 画分のDNAをシャロン28、およびEMBL3のBamHI切断部位にクローニングしてスクリーニングをした。その結果、陽性シグナルをそれぞれ得てgGH1 およびgGH2と命名した。gGHを用いた形質転換マウスを作製するために、gGHの上流にメタロチオネイン遺伝子のプロモーターを連結したものを受精卵にマイクロインジェクション法により導入した。形質転換マウスを検出するためにマウス個体からDNAを抽出し、精製した後、cDNAをプローブとしてスロットブロットハイブリダイゼーションを行った。陽性のシグナルの得たものについてサザンハイブリダイゼーションで確認した。

3) 結果。gGHの全塩基配列を決定した結果、ウシ、ラット、ヒトのGHとgGHとはアミノ酸配列において99%, 83%, 66% のホモロジーを有していた。gGHのcDNAのシグナルペプチド部分の下流にある制限酵素切断部位で切断し、その上流部位に合成DNAを連結してメチオニルGHをクローン化し、大腸菌に形質転換してGHの生産を試みたところ、Western-ELISA法によりGHの生産が確認された。

得られた2種類のDNAクローンのうち、gGH1には1つのGH遺伝子が、gGH2には2つのGH遺伝子が存在していた。gGH1は5つのエキソン、4つのイントロンからなり、第1イントロンにはグルココルチコイドリセプターの結合部位が存在した。また繰り返し配列が3つの遺伝子の上流、下流に同じように存在しており、Aluファミリーなどと同じような特徴を持つことから、遺伝子重複に何らかの役割があるものと考えられる。

約500個のマウスの受精卵にDNA溶液をマイクロインジェクションで導入し、約400個が物理的に生き延びた。一晚培養した後320個が2細胞に分裂した。このうち260個をレシビエントマウスの卵管に移植した結果、30匹の子孫マウスが得られた。マウスの尾のDNAを用いたスロットブロットハイブリダイゼーションで陽性のシグナルがえられたものは6個体であった。このうち2個体がサザンハイブリダイゼーションにより形質転換マウスと確認された。形質転換法についても討論を行いたい。