

ブタ *Mx1* およびウマ *Mx2* 遺伝子に関する研究

家畜生産生物学講座 家畜改良増殖学分野

大林 太樹

【背景と目的】 自然免疫遺伝子 *Mx* はウイルスの増殖を抑える *Mx* タンパク質を発現する遺伝子で、脊椎動物に幅広く存在する。しかし、家畜における *Mx* 遺伝子の研究はまだあまり進んでいない。ブタは *Mx1*、*Mx2* の2つのアイソフォームが存在し、*Mx1* はランドレース種に11塩基が欠損した11塩基欠損型が存在する。この11塩基欠損型は抗ウイルス活性が低下するという報告がある。しかし、この11塩基欠損型ブタ *Mx1* タンパク質の細胞内分布は免疫染色による報告が1件あるだけで、生細胞での知見は無い(Morozumi *et al.*, 2001)。また、ウマにおいては *Mx1*、*Mx2* の2つのアイソフォームが存在し、ウマ *Mx2* 遺伝子はサラブレッドゲノムからの配列予測が1件、当研究室での北海道和種馬のシーケンズデータが1件あるのみである。そこで、ランドレースのブタ *Mx1* 遺伝子、サラブレッドのウマ *Mx2* 遺伝子の塩基配列解析と GFP 発現ベクターを用いたタンパク質細胞内分布パターンを観察を行った。

【方法】 <実験1>ランドレース4頭とサラブレッド1頭から単離した血中単核細胞に *Mx* mRNA の発現を促し、total RNA を抽出、RT-PCR 法によって cDNA の ORF 全長をクローニングしシーケンズした。 <実験2>GFP 発現ベクターに各 *MxcDNA* 全長を組み込み *Mx*-GFP 融合タンパク質発現ベクターを構築しこれを生細胞に導入、24時間後、細胞内で各 GFP-*Mx* 融合タンパク質の蛍光パターンを観察した。

【結果】 <実験1>ブタ *Mx1* 遺伝子では1頭が11塩基欠損型であり、残りの3頭が通常型であった。ウマ *Mx2* 遺伝子では、配列予測ではサラブレッドに存在しないと予測されていた63塩基が北海道和種馬同様に存在した。 <実験2>GFP 発現ベクターによる細胞内分布パターンを観察した結果、ブタ *Mx1* タンパク質は通常型および11塩基欠損型において、共に細胞質に拡散して分布し、その蛍光パターンに差異は見られなかった。一方の、ウマ *Mx2* タンパク質は細胞質に凝集した蛍光パターンが観察された。

【考察および結論】 解析された塩基配列からアミノ酸配列を予測した結果、11塩基欠損がフレームシフトを引き起こし23アミノ酸の伸長を起こすと考えられた。11塩基欠損型のフレームシフト部分は重要領域である GED 上に存在し、LZ モチーフの末端のアミノ酸配列を変化させていた。また、ウマ *Mx2*cDNA における ORF 領域の塩基配列を決定した。細胞内分布パターンは、ブタ *Mx1* タンパク質では細胞質に拡散して分布し、免疫染色による過去の報告と一致した。一方、ウマ *Mx2* タンパク質は細胞質における核周辺に凝集して分布しており、本研究によってウマ *Mx2* タンパク質の細胞内分布パターンを初めて決定した。