

学 位 論 文 題 名

Genetic analysis of Jumbled spine and ribs (*Jsr*)
mutation affecting the vertebral development in mice.

(マウス脊椎形成異常を来す jumbled spine and ribs (*Jrs*) 変異の遺伝学的解析)

学位論文内容の要旨

Jumbled spine and ribs マウス (CKH-*Jsr*) は自然発症突然変異マウスで、中軸骨格に強い異常が見られる。胎子における *Uncx4.1* 発現解析より、これらの異常形質は体節の分節化の異常により起きていることが示唆された。

精密マッピングの結果、*Lunatic fringe (Lfng)* および *11MMHAP75FRD8.seq (11MMseq)* が *Jsr* と同じ遺伝子座にマッピングされた。さらに、*Lfng* および *11MMseq* を含む bacterial artificial chromosome (BAC) をスクリーニングし、3 個の BAC クローンから成る BAC コンティグを作製した。また、*Jsr* の存在領域をより小さい領域に特定するために、*Jsr* 近傍の BAC コンティグを構成する BAC382-O-クローン(BAC382) のマッピングを行った。その結果、*Jsr* は BAC382 の sp6 側に位置することが強く示唆された。加えて BAC382 をマウスゲノムデータベース上で検索したところ、*galectin-related inter-fiber protein (Grifin)*, *Lfng*, 2900029G13Rik の 3 個の遺伝子が含まれることがわかり、この 3 個の遺伝子を *Jsr* の原因候補遺伝子としてコーディング領域の塩基配列解析を行った。その結果、ノーマルおよび *Jsr* ホモ接合体マウスの間でそれぞれ塩基置換は見られなかった。

Lfng を強制発現させた *Lfng* トランスジェニックマウスでは、PSM で *Lfng* が恒常的に発現することにより *Jsr* と同様の病態および遺伝様式を示すことが報告されている。そこで *Jsr* もこの報告と同様に PSM において *Lfng* が恒常的に発現しているかどうかを解析した結果、*Jsr* の PSM では *Lfng* の発現は周期的ではあったが、周期中の各ステージの持続時間に異常があることが示唆された。この結果は *Lfng* がやはり *Jsr* の原因遺伝子である可能性を支持している。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	安居院 高 志
副 査	教 授	斉 藤 昌 之
副 査	教 授	昆 泰 寛
副 査	助教授	佐々木 宣 哉

学 位 論 文 題 名

Genetic analysis of Jumbled spine and ribs (*Jsr*) mutation affecting the vertebral development in mice.

(マウス脊椎形成異常を来す jumbled spine and ribs (*Jrs*) 変異の遺伝学的解析)

Jsr 変異は愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所において、CTA/Idr 系統マウスから自然発症したものである。症状としては、軀幹及び尾の短縮、脊椎骨及び肋骨の癒合などが見られる。本研究はこの *Jsr* 変異を有するマウスの発生学的及び遺伝学的解析を行ったものである。

まず異常表現形質が胎生期における体節の形成異常に起因しているか否かを明らかにするために、胎齢 9.5 日胚を体節形成のマーカーである *Uncx4.1* 遺伝子について whole-mount *in situ* hybridization を行った。その結果、体節における *Uncx4.1* 遺伝子の発現はモザイク状に異常を呈し、*Jsr* マウスでは胎生期における体節の形成異常が起きていることが明らかとなった。

次に *Jsr* マウスと野生コントロール系統 MSM マウスを交配し、戻し交配交雑群を作製し、遺伝様式の決定及び *Jsr* 座位の染色体マッピングを行った。その結果、*Jsr* の遺伝様式は単一優性遺伝で、*Jsr* 座位は第 5 染色体 79 cM の位置にマップされた。更に artificial bacterial chromosome (BAC) contig を作製し、*Jsr* 座位の存在する BAC クローンには *Griffin*、*Lunatic fringe (Lfng)*、2900029G13Rik の 3 つの遺伝子しか存在しないことを明らかにした。これら 3 つの遺伝子のタンパク質翻訳領域にはいずれも変異は認められなかったが、胎生期において体節の分節が行われている presomitic mesoderm (PSM) における *Lfng* の発現異常は *Jsr* マウスと同様の症状を示すという報告があることから、*Jsr* 変異の原因は PSM における *Lfng* の発現異常である可能性が示唆された。そこで胎齢 9.5 日胚を *Lfng* 遺伝子について whole-mount *in situ* hybridization を行ったところ、*Jsr* 及び *Jsr/+* 胚において確かに発現の異常が観察された。以上のことから、*Jsr* 変異の本体は PSM における *Lfng* の発現異常であると結論付けた。

以上のように申請者は、*Jsr* マウスの病態の原因解明のため発生学的及び緻密な遺伝学的実験を重ね、その原因を推定するに至った。一連の研究成果は獣医学、こと

に実験動物学の分野において一定の水準を超えたものと判断された。よって、審査員一同は、上記博士論文提出者、岡野伸哉の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規定第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。