

4. メンケス症モデル Macular マウスの *Atp7a* 遺伝子の ミスセンス点突然変異

森 政之 西村 正彦

浜松医科大学 動物実験施設

目 的

一連の mottled 突然変異マウスは、ヒトのメンケス症に相当する銅代謝異常を示す。中でも Macular マウスは、出生後2週齢までに死亡する等、古典的メンケス症にきわめて類似した症状を呈し、同病の優れたモデルであると考えられている¹⁾。ヒトのメンケス症患者ではX染色体上の ATP7A (copper-transporting P-type ATPase) 遺伝子に異常があることが明らかにされている²⁾。今回我々は Macular マウスの *Atp7a* 遺伝子の異常を検索した。

方 法

ヘミ接合体雄 Macular マウス、および同腹正常雄の脾臓より mRNA を抽出し、RT-PCR 法により5つの互いに重複する DNA 断片として *Atp7a* 遺伝子のコード領域全長を含む cDNA を得、DNA 塩基配列を決定、比較した。点突然変異により、Macular マウスは *Bam*HI 認識配列を損失していることより、PCR/RFLP 法により遺伝子診断が可能であることが示唆された。そこで、正常雄 (X/Y)、正常雌 (X/X)、白色の雄 ($X^{Atp7aMo-M1}/Y$)、まだら色の雌 ($X^{Atp7aMo-M1}/X$) からなる一腹の Macular マウス群よりゲノミック DNA を抽出し、*Atp7a* 遺伝子の第22エクソンを PCR 増幅後、*Bam*HI 消化し、アガロースゲル上で電気泳動して遺伝子型を判定した。

結 果

Macular マウスの *Atp7a* cDNA では4223番目の T から C への置換 (T4223C) が見いだされた。この結果、UCC セリンコドンが CCC プロリンコドンに変化していた (S1382P)。このミスセンス点突然変異は

Atp7a 遺伝子の第22エクソン内、ATP7A 蛋白の第8膜貫通部位にあった。PCR/*Bam*HI-RFLP 法による遺伝子型の判定の結果、各個体の表型と遺伝子型は完全に一致しており、点突然変異が Macular 型の表型の原因であることが確認された。

結 論

プロリンは蛋白質の α ヘリックス領域に折れ曲がりを生じさせることより、膜貫通部位での出現頻度は非常に低いことが報告されている。さらに、蛋白の膜貫通部位でのプロリンへの置換による異常症は、Charcot-Marie-Tooth 病患者、およびそのモデルである trembler-J マウスの PMP-22 遺伝子や、myelin deficient rat の PLP 遺伝子にも報告されており、Macular マウスの ATP7A も機能的に欠陥があることが示唆される。Macular マウスの *Atp7a* 遺伝子のミスセンス点突然変異はこれまでに報告されている Dappled, Blotchy, Brindled 等、他の mottled 突然変異マウスの *Atp7a* 遺伝子に見られる異常³⁾とは異なっていた。これらマウスおよび Macular マウスにおいて *Atp7a* 遺伝子上の異常の程度と症状の程度とに関連があることが示唆された。Macular 型および正常型 ATP7A のさらなる解析は、生体の銅代謝機構の解明、ならびにヒトメンケス症の治療法確立に寄与することが期待される。

文 献

- 1) Nishimura, M. : *Exp. Anim.*, **24**, 185 (1975)
- 2) Vulpe, C. et al. : *Nature Genet.*, **3**, 7 (1993)
- 3) Levinson, B. et al. : *Nature Genet.*, **6**, 369 (1994)