

Title	マウス免疫グロブリン遺伝子の構造決定と進化に関する研究
Author(s)	片岡, 有里子
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32675">https://hdl.handle.net/11094/32675</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	片 岡 有 里 子
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 5 2 0 2 号
学位授与の日付	昭 和 5 6 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	マウス免疫グロブリン遺伝子の構造決定と進化に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 本 庶 佑 (副査) 教 授 濱 岡 利 之 教 授 松 原 謙 一

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目 的]

マウス免疫グロブリン IgG の H 鎖は、 $\gamma_1$ 、 $\gamma_{2a}$ 、 $\gamma_{2b}$ 、 $\gamma_3$  鎖の 4 つのサブクラスに分類される。そのうち、 $\gamma_1$ 、 $\gamma_{2a}$ 、 $\gamma_{2b}$  鎖では殆んどのアミノ酸配列が決定されている。これら  $\gamma$  鎖同士、或いは他種の  $\gamma$  鎖との比較から、マウスにおける  $\gamma$  鎖サブクラス遺伝子群の出現は、少なくとも種が分かれた後の遺伝子重複によるものであろうと考えられた。一方、現在迄に知られている H 鎖はすべて反復したドメインからなっていることから、H 鎖遺伝子そのものも、遺伝子重複によって進化してきたことが示唆された。しかし、実際の遺伝子構造、遺伝子配列については、全く未知であった。また、 $\gamma$  鎖サブクラス遺伝子群の進化についても不明瞭な点が多かった。これらを解明する目的で、本研究では  $\gamma_{2b}$  遺伝子の全塩基配列の決定を行い、さらにこの配列と  $\gamma_1$  遺伝子の配列との比較を行って、 $\gamma$  サブクラス遺伝子群の進化を考察した。

#### [方法ならびに結果]

[I] ファージベクター  $\lambda$ gt-WES に組込まれたマウス  $\gamma_{2b}$  鎖遺伝子を含む 6.6 キロ塩基対 (Kb) の DNA 断片を制限酵素 EcoRI の切断により切り出し、プラスミド pBR 322 に組込んで大量 (約 8 mg) の DNA を得た。詳細な制限酵素切断地図作製の後、R-loop, Southern hybridization の解析から予想された遺伝子の位置に基づいて適当な DNA 断片を選び、Maxam と Gilbert の方法によって塩基配列の決定を行った。

$\gamma_{2b}$  C 領域を含む 1834 塩基対の配列が決定された。 $\gamma_{2b}$  鎖ではアミノ末端側から順に CH1 ドメイン; ヒンジ, CH2, CH3 の各ドメインが連結した構造をとっているが、遺伝子上ではこれらの各領域が

介在配列(IVS)によって分断されていることが明らかになった。これら IVS は、一度転写された後、継ぎ換え機構 (splicing) によって除かれると考えられた。IVS の配列の比較を  $\gamma_1$  遺伝子とで試みたが、splicing に関与すると思われる共通な配列は何も見出せなかった。又、三つの IVS 各々の存在する位置 (ドメイン、ヒンジ間) は  $\gamma_1$  遺伝子と全く同じであること、その長さは転写の向きに順に 356/316, 98/107, 120/112bp ( $\gamma_1/\gamma_{2b}$ ) であり、完全に同一ではないが、比較的良く保たれていること等が明らかになった。

[II]  $\gamma_1$  遺伝子と  $\gamma_{2b}$  遺伝子の全塩基配列の比較を行い、塩基置換の割合を各領域ごとに算出した。その結果、全体として両遺伝子間にはかなりの塩基置換が見られるにも拘らず、非常に塩基置換が抑えられ、したがって類似性が高く保たれている領域が二カ所あることが判明した。一つは poly (A) 結合部位の周囲であり、この部分が機能的な要請から保たれていることは、他の遺伝子の場合からも明らかである。もう一カ所は CH1 ドメイン全体とそれに続く IVS 1 の一部を含む 500bp にも及ぶ長い領域である。この部分がタンパク質としての機能をはたす為に保たれているのではないことは、アミノ酸変化を起こさない塩基置換でさえも強く抑えられていることから明白である。また、これだけの長い領域を保持するための RNA 或いは DNA レベルからの強い要請機構は知られておらず、又、考え難い。結局、この領域の高い類似性は  $\gamma_1$ ,  $\gamma_{2b}$  両遺伝子が進化の途中で組換えを起こし、両遺伝子間でこの部分が統一された結果ではないかと推論された。その可能性を検討するために、さらに  $\gamma_{2a}$  鎖を加えた三つの  $\gamma$  鎖間でアミノ酸の類似性を求めたところ、 $\gamma_{2a}$ - $\gamma_{2b}$  間においても同様のドメイン単位の組み換えがあったことを示す結果が得られた。

#### [総括]

1. 免疫グロブリン H 鎖遺伝子は、ドメインをコードする遺伝子の重複によって生成されたのではないかというアミノ酸配列から予想された仮説は、遺伝子構造の解明により、各ドメイン間に IVS が存在しているということで、さらに強い支持が得られた。
2. Splicing には、特別な塩基配列は必要ではないこと、従って、RNA の二次構造、乃至、三次構造が関与することが推察できる。
3.  $\gamma_1$ ,  $\gamma_{2b}$  両遺伝子間での IVS の位置、長さの相似から、両遺伝子が遺伝子重複によって分岐した時期は進化の上で、かなり新しいことだと結論された。
4.  $\gamma$  サブクラス遺伝子群は、進化的に固定されたものではなく、それぞれの遺伝子に一旦分岐した後に遺伝子間で IVS を介して組換えを起こす動的な性質を持った遺伝子群であることを示唆する結果を得た。

### 論文の審査結果の要旨

- I. Complete nucleotide sequence of immunoglobulin  $\gamma_{2b}$  chain gene cloned from newborn mouse DNA (和訳: マウス免疫グロブリン  $\gamma_{2b}$  鎖の全塩基配列)

II. Nucleotide sequence divergence of mouse immunoglobulin  $\gamma_1$  and  $\gamma_{2b}$  chain genes and the hypothesis of intervening sequence-mediated domain transfer (和訳：マウス免疫グロブリン  $\gamma_1$ ,  $\gamma_{2b}$  鎖両遺伝子間の塩基置換と介在配列によるドメイン交換仮説)

本研究は、従来未決定であったマウス免疫グロブリン  $\gamma_{2b}$  鎖遺伝子の全塩基配列を明らかにし、先に決定された  $\gamma_1$  鎖遺伝子との比較から、両遺伝子が進化の途上で一部を交換した可能性を示した。これにより免疫グロブリン遺伝子群の進化の足跡が部分的に明らかになった。また、この研究は他の遺伝子群の進化一般にもあてはまる興味ある仮説を提唱したものとして十分評価に値する。