

Title	免疫グロブリンH鎖遺伝子のクラススイッチ組換え部位（S領域）の構造
Author(s)	片岡, 徹
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/32676
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	片 岡 徹
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 5 2 0 1 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	免疫グロブリンH鎖遺伝子のクラススイッチ組換え部位 (S領域)の構造
論文審査委員	(主査) 教授 本 庶 佑 (副査) 教授 岸 本 忠 三 教授 松 原 謙 一

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

1 個のBリンパ球が分化の過程で産生するH鎖は、可変(V)領域は不変であるが、定常(C)領域が μ から γ 又は α へと変化してゆく事が知られており、これをH鎖クラススイッチ現象という。1980年に我々は、マウス骨髄腫DNAより単離した発現型の γ_1 鎖遺伝子の構造解析の結果、H鎖クラススイッチ現象が少なくとも二回の遺伝子の構造変換により起こるとの仮説を提示した。遺伝子変換の第一は、V遺伝子、D領域遺伝子、J領域遺伝子という三つの遺伝子の組換えによる連結(V-Jrecombination)であり、この結果V領域が完成され μ 鎖遺伝子が発現される(図1)。

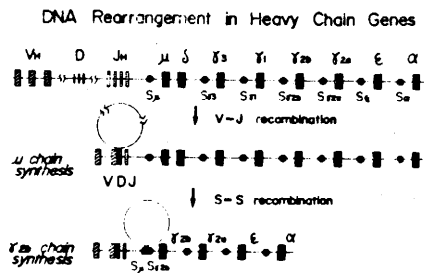


図 1

第二の変換は、各C遺伝子の前方に存在するS領域と命名した特定の領域間で起こるクラススイッチ組換え(S-Srecombination)であり、この結果第一の組換えで完成されたV遺伝子が別のC遺伝子に連結され、クラススイッチが完了する。図1は、 μ 鎖から γ_{2b} 鎖にスイッチする場合を示している。

このようにクラススイッチ組換えに関与する領域として定義されたS領域には、組換えの際の相互認識に必要な特殊な塩基配列又は構造の存在が予想され、本研究では各鎖S領域の構造の詳細な解析を行い塩基配列を決定し比較した。更に判明した構造をもとに、クラススイッチ組換えの分子的機構について考察を加えた。

[実験方法と結果]

(1) 発現型及び未分化型 γ_{2b} 鎖遺伝子の単離： γ_{2b} 鎖産生骨髄腫 MPC11 の DNA を制限核酸分解酵素 EcoRI で部分分解し λ ファージをベクターとする遺伝子組換え法を用いて、制限酵素切断部位を異にする 2 種類の γ_{2b} 鎖遺伝子を単離した。2 種類のうち一方は、MPC11 において発現されている γ_{2b} 鎖遺伝子であり、もう一方は未分化型の γ_{2b} 鎖遺伝子である事が判明した。両者の構造を制限酵素による切断とハイブリッド形成により解析、比較した所、発現型 γ_{2b} 鎖遺伝子は、未分化型 γ_{2b} 鎖遺伝子とその C 領域構造遺伝子の約 2.9 キロ塩基対上流で未分化型の γ_3 鎖遺伝子の前方の DNA 断片と連結された結果生じた事が明らかになった。

即ち、この遺伝子は、Bリンパ球内でクラススイッチが γ_3 から γ_{2b} へと起った結果構成されたものと考えられた。

- (2) γ_{2b} 鎖 S 領域 ($S_{\gamma_{2b}}$) の構造の決定：未分化型 γ_{2b} 鎖遺伝子との連結部位の周辺には、制限酵素、Kpn I, Bgl II, Xba I の 250~300 塩基対を周期とする反復が存在した。連結部印を更に詳細な制限酵素切断実験により決定し、発現型及び未分化型の両遺伝子について、連結部位周辺の約 1600 塩基対の配列を、Maxam & Gilbert 法により決定した。その結果、未分化型遺伝子の連結部位周辺の 1610 塩基対は、すべて 49 塩基対を一単位とする配列の連続した反復によって構成されていた。更にその反復が、連結部位の上流 2.3 キロ塩基対、下流 1 キロ塩基対の約 3.3 キロ塩基対にわたる事を周辺部位の部分的塩基配列決定により示した。発現型遺伝子では、49 塩基対の反復の中間部に存在する連結部位を境に、上流は γ_3 鎖遺伝子前方の塩基配列に移行していたが、その配列の中にも $S_{\gamma_{2b}}$ に類似の 49 塩基対を単位とする配列が約 350 塩基対にわたり存在した。この領域の近傍で連結を起こしている γ_3 鎖産生骨髄腫が発見されたので、この領域は S_{γ_3} 領域の一部であると結論した。
- (3) S 領域の配列間の比較：我々はすでに S_{γ_1} 領域の塩基配列を報告しているが、それを再検討した所、やはり $S_{\gamma_{2b}}$ に類似した 49 塩基対の単位配列の連続した反復が見出された。

S_{γ_1} , $S_{\gamma_{2b}}$, S_{γ_3} の 49 塩基対の反復単位の代表的配列を比較すると、図 2 のように共通性が非常に高い事がわかる。 S_{μ} 領域、 S_{α} 領域も反復単位の長さは異なるが単位配列の連続した反復によって構成されている事が報告されており、それらは S_{γ} 領域の単位配列との間に、GAGCTGGGG, TGGG, AGCT という短い共通配列を有している。

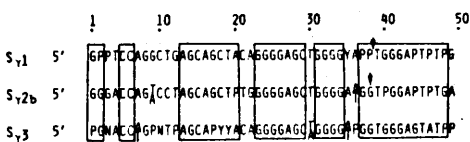


図 2

〔総括〕

以上のように S 領域は、短い共通配列を有する単位配列の少くとも数十回の連続した反復から成り立っている。クラススイッチの組換え部位近傍に、V-J 組換えの場合に報告されているような特定の構造、配列が見い出されない事から考えて、この組換えの機構は、連続して反復した共通配列間の homologous recombination であると推察される。

また反復した配列は互いの組換え頻度を著しく上昇させることが知られているので、S 領域の反復構造は、リンパ球の分化の過程の比較的短い期間に完了せねばならないクラススイッチ組換えの頻度

を上昇させるのに働らいていると推察される。

論文の審査結果の要旨

免疫グロブリン遺伝子は、高等動物において分化の過程で遺伝子構造の変換が起こる事の証明された唯一の例である。

本研究でとり上げられた免疫グロブリンH鎖のクラススイッチ現象に伴う遺伝子変換、クラススイッチ組換えは、遺伝子の欠失を伴う構造変換であり、その分子機構は明らかでなかった。

本研究は、広範かつ詳細な構造解析によって、各H鎖遺伝子のS領域が互いに共通配列を有する単位配列の連続した反復構造をとる事を証明し、クラススイッチ組換えの機構が、それらのS領域間のhomologous recombinationであることを初めて提唱したものであり、免疫学的のみならず、真核生物の遺伝子発現の機構の解明に対しても、大きな意義を有する。