



Title	マウス免疫グロブリン $\varepsilon$ 鎖遺伝子の単離とそのH鎖遺伝子群における位置の決定
Author(s)	西田, 育巧
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33113">https://hdl.handle.net/11094/33113</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	西 田 育 巧
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5546 号
学位授与の日付	昭和 57 年 3 月 3 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	マウス免疫グロブリン $\epsilon$ 鎖遺伝子の単離とその H 鎖遺伝子群における位置の決定
論文審査委員	(主査) 教授 本庶 佑 (副査) 教授 岸本 忠三 教授 濱岡 利之

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

発現型免疫グロブリン H 鎖遺伝子は、B リンパ球の分化の過程で遺伝子の構造変換により、V (可変部) · D (多様性部) · J (連結部) · C (定常部) 遺伝子の各分節が連結されることにより形成される。免疫グロブリンは、H 鎖の違いにより、IgM · IgG · IgA · IgD · IgE の 5 クラスに大別されるが、この内、IgE は即時型アレルギー症に関与する。遺伝子操作法により、マウス IgE ハイブリドーマ DNA から、J 遺伝子に連結した発現型  $\epsilon$  鎖 (IgE の H 鎖) 遺伝子を単離し、その構造解析を行なった。

Honjo & Kataoka (1978) により、マウス C<sub>H</sub> 遺伝子の配列が、5' - C <sub>$\mu$</sub>  - C <sub>$\alpha$</sub>  - C <sub>$\gamma$</sub>  - C <sub>$\gamma_2$</sub>  - C <sub>$\gamma_3$</sub>  - C <sub>$\sigma$</sub>  - 3' であることが示唆されていたが、C <sub>$\epsilon$</sub>  遺伝子の位置については全く知られていなかった。単離した  $\epsilon$  鎖遺伝子群における C <sub>$\epsilon$</sub>  遺伝子の位置を明らかにした。

## 〔方法ならびに成績〕

マウス IgE ハイブリドーマ DNA を制限酵素 Sau 3 AI で部分分解し、入ファージ由来の Charon 28 をベクターとして、遺伝子ライブラリーを作成した。発現型  $\epsilon$  鎖遺伝子に J 分節が含まれることを利用して、既に単離されている J 遺伝子断片をプローブとして、ライブラリーより約 60 万個のファージを検索し、5 個のクローンを得た。この内 3 個のクローン (Ch 28 · M · Ig  $\epsilon$  - 1, Ch 28 · M · Ig  $\epsilon$  - 2, Ch 28 · M · Ig  $\epsilon$  - 3) を、IgE ハイブリドーマより抽出した poly(A)<sup>+</sup> RNA に相補的な [<sup>32</sup>P] cDNA プローブとのハイブリダイゼーション、制限酵素地図作製、R ループ法、および塩基配列決定による解析から、発現型  $\epsilon$  鎖遺伝子と同定した。

塩基配列決定より推定されたアミノ酸配列は、既知のヒト  $\epsilon$  鎖 C<sub>H3</sub> ドメインのアミノ酸配列に最も

類似しており、その相同性は42%であった。一方、マウス $\mu$ ・ $\gamma$ ・ $\alpha$ 鎖との相同性は、約25%しか認められなかった。

Rループ法による解析から、V領域および4つのC領域ドメインに対応して、遺伝子も介在配列によりへだてられた5個のエキソン(exon)から成る分節構造をしていることが明らかになった。

H鎖のクラス変換は、遺伝子レベルで、V・D・J遺伝子とC<sub>H</sub>遺伝子の中間部が欠失することによって行なわれる。従って、種々のH鎖を產生しているミエローマDNAにおけるC<sub>ε</sub>遺伝子の欠失プロフィールを調べることにより、C<sub>H</sub>遺伝子群におけるC<sub>ε</sub>遺伝子の位置を推定することができる。その結果、 $\alpha$ 鎖產生ミエローマにおいて、C<sub>ε</sub>遺伝子の欠失が認められたが、 $\mu$ ・ $\gamma_3$ ・ $\gamma_1$ ・ $\gamma_{2b}$ ・ $\gamma_{2a}$ 鎖產生ミエローマでは保たれていた。このことは、C<sub>ε</sub>遺伝子がC $\gamma_{2a}$ とC $\alpha$ 遺伝子の中間に存在することを示唆する。更に、C<sub>ε</sub>遺伝子周辺の染色体領域に由来する、互いに重複したクローンを単離し、C $\gamma_{2a}$ -C<sub>ε</sub>-C $\alpha$ の連関を直接的に証明した。

#### 〔総括〕

遺伝子の構造変換により、H鎖遺伝子がJ遺伝子分節を含む多くの遺伝子断片から構成されるという知見に基づき、J遺伝子断片をプローブとしてIgE産生ハイブリドーマDNAより、発現型マウス $\epsilon$ 鎖遺伝子の単離に成功した。この方法は、同様にヒト $\epsilon$ 鎖遺伝子の単離にも利用された。

ヒト $\epsilon$ 鎖とのアミノ酸配列の相同性は比較的低く、進化の過程で、 $\mu$ ・ $\gamma$ ・ $\alpha$ 鎖のようには、強く保存されなかつことを示唆するが、C<sub>H3</sub>ドメインのS-S結合部位や糖鎖結合部位の位置はよく保存されている。 $\epsilon$ 鎖遺伝子の分節構造は、H鎖遺伝子が介在配列を介してドメイン単位での重複により進化してきたことを示唆する。また、既知の知見とあわせて、マウスC<sub>H</sub>遺伝子群の配列が、5'-C $\mu$ -C $\delta$ -C $\gamma_3$ -C $\gamma_1$ -C $\gamma_{2a}$ -C<sub>ε</sub>-C $\alpha$ -3'であることが明らかになった。

### 論文の審査結果の要旨

IgEはアレルギーに関与するが、マウスではIgEミエローマが得られておらず、その性質については殆ど知られていない。本研究は、発現型H鎖遺伝子が、いくつかの遺伝子分節の連結により完成されるという最新の知見を巧みに利用して、マウス発現型 $\epsilon$ 鎖遺伝子の単離に成功したもので、IgEの構造と発現機構の解明に重要な意義を有する。特にC $\gamma_{2a}$ -C<sub>ε</sub>-C $\alpha$ の連関の証明により、マウスH鎖C遺伝子群の全配列を明らかにしたことは、大きな貢献である。更に、マウスでと同様の方法論により、ヒト $\epsilon$ 鎖遺伝子の単離にも成功し、複数個のC<sub>ε</sub>遺伝子の存在など、重要な知見を得ている。

以上学位授与に値すると認める。