The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	マウス免疫グロブリンε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	https://hdl.handle.net/11094/33113
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【35】

氏名・(本籍)	西田育巧（にしだ やすよし）
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ε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 濵岡 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ε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_H遺伝子の配列が，5′-C_μ-$C_{\gamma3}$-$C_{\gamma1}$-$C_{\gamma2b}$-$C_{\gamma2a}$-C_α-3′であることが示唆されていたが，C_ε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ε鎖遺伝子群におけるC_ε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 3AIで部分分解し，λファージ由来のCharon28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ε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 ε-1，Ch 28・M・Ig ε-2，Ch 28・M・Ig ε-3）を，IgEハイブリドーマより抽出したpoly(A)$^+$RNAに相補的な[^{32}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ε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ε鎖C_{H3}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μ・γ・α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_H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鎖を産生しているミエローマDNAにおけるC_ε遺伝子の欠失プロフィールを調べることにより，C_H遺伝子群におけるC_ε遺伝子の位置を推定することができる。その結果，α鎖産生ミエローマにおいて，C_ε遺伝子の欠失が認められたが，μ・γ_3・γ_1・γ_{2b}・γ_{2a}鎖産生ミエローマでは保たれていた。このことは，C_ε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，$C\varepsilon$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，$C\gamma_{2a}$-$C\varepsilon$-$C\alpha$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ε鎖遺伝子の単離に成功した。この方法は，同様にヒトε鎖遺伝子の単離にも利用された。

ヒトε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，μ・γ・α鎖のようには，強く保存されなかったことを示唆するが，C_{H3}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。ε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_H遺伝子群の配列が，5′-$C\mu$-$C\delta$-$C\gamma_3$-$C\gamma_1$-$C\gamma_{2a}$-$C\varepsilon$-$C\alpha$-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ε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$C\gamma_{2a}$-$C\varepsilon$-$C\alpha$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ε鎖遺伝子の単離にも成功し，複数個の$C\varepsilon$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。