

| | |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title | 発現型免疫グロブリン γ 1鎖遺伝子の構造とクラススイッチの分子機構－姉妹染色分体交換モデル |
| Author(s) | 小幡, 雅則 |
| Citation | |
| Issue Date | |
| oaire:version | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/33275 |
| 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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について /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) | 小 幡 雅 則 |
| 学位の種類 | 医 学 博 士 |
| 学位記番号 | 第 5 6 0 3 号 |
| 学位授与の日付 | 昭 和 57 年 3 月 25 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 | 発現型免疫グロブリン γ_1 鎖遺伝子の構造とクラススイッチ の分子機構——姉妹染色分体交換モデル |
| 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〕

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2種類のDNA組換えを起こす。その第一は、V-D-J組換えと呼ばれ未分化型V(可変部)遺伝子、D(多様性部)配列、J(連結部)配列が連結してV領域遺伝子が完成される。このVはそのすぐ下流にC μ (μ の定常部)遺伝子がある為に、最初 μ 鎖として発現されるが、第二の組換え即ちS-S組換えによって別のC μ 遺伝子と連結して発現されるようになる。このS-S組換えはC μ 遺伝子の時方のS μ (μ のスイッチ領域)と、別のC μ 遺伝子の前方にあるSが連結し、その中間部分を欠失し、V遺伝子を新たなC領域と連結させる。これらのDNA組換えの分子機構を検討する為にマウスの γ 鎖産生骨髓腫から単離された発現型 γ 鎖遺伝子の構造と、更にその構成断片の由来する未分化型DNAの構造を比較検討した。

〔方法ならびに成績〕

1) 遺伝子のクローニング

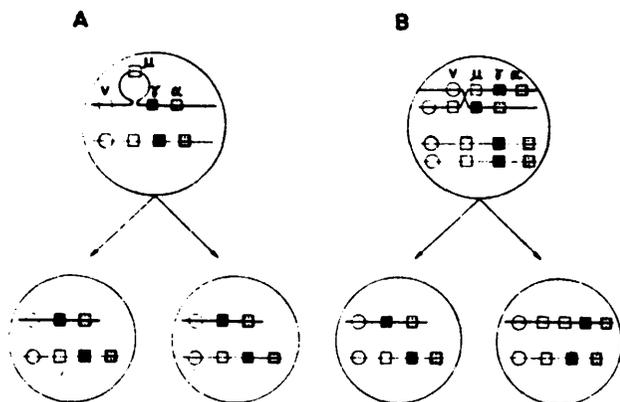
MCIODNAを制限酵素EcoRIで部分分解し、Charon 4 Aをベクターとして遺伝子ライブラリーを作製し、C γ_1 プローブでスクリーニングしたところ15kilobase(kb)の断片を含んだクローンch-M-lg γ_1 -704を得た。これはMCIo IのmRNAとのRloop法により、VおよびC遺伝子を完全に含んだ発現型 γ 鎖遺伝子である事が示された。そこでこのV領域をプローブとして胎児型遺伝子ライブラリーから、制限酵素地図が発現型 γ_1 鎖遺伝子のV領域と全く一致する未分型V遺伝子を得た。さきに片岡らが報告した λ gtWES-lgH 7との比較からは、今回のクローンch-M-lg γ_1 -704の3'側即ちC遺伝子とS領域を含んだものが λ gtWES-lgH 7であることが明らかとなった。

2) 遺伝子の構造解析

すでに MCIOI 中で発現している γ_1 遺伝子の S 領域には、 S_μ と S_{γ_1} が同定されたが、 S_μ と S_{γ_1} の間に由来の不明な約 0.5 kb の断片があった。この未知の DNA 断片に相当する未分化型 DNA として AgtWES · IgH 703 が既にクローン化されていたので、今回このクローンの塩基配列を Maxam & Gilbert 法により決定した。その結果未知の 0.5 kb 断片は S_α であることが判明した。 S_α の塩基配列は約 80 base pair を単位とした反復配列であることや GAGCT, GGGCT, TGGG という他の S 配列に共通する短い配列を多数含んでいる事が示された。またこの塩基配列決定に際し、制限酵素切断部位が一種しかなく、それが多数存在する場合でも Maxam & Gilbert 法によって塩基配列が決定できる方法を考察して実際に用いた。この方法は部分分解断片をクローン化してベクター中の制限酵素切断部位を利用するものである。

3) クラススイッチの分子機構

すでに遺伝子の配列順序は本庶らにより μ - γ - α と決定されていた。S-S 変換が 1 分子 DNA 上での環状中間欠失によると考えると (図 A), 発現型 γ_1 鎖遺伝子に S_α が存在することは説明が困難である。そこでこの矛盾を説明するため、姉妹染色分体間の不等交叉による S-S 変換モデルを提唱した。図 B



のように一方の娘細胞で遺伝子の重複が起こり、他方では欠失が起こる。数回の交叉により遺伝子の順序も変換し得るので、 $V-S_\mu-S_\alpha-S_{\gamma_1}-C_{\gamma_1}$ という構成も可能となる。但しすべての S-S 組換えがこの機構によるかどうかは不明である。中間欠失機構も同時に起こる可能性も考えられる。

[総括]

発現型 γ_1 鎖遺伝子が $V-S_\mu-S_\alpha-S_{\gamma_1}-S_{\gamma_1}$ という未分化型遺伝子断片から構成されていることが明らかとなった。 S_α が連続した単位反復配列から成り、他の S 領域と共連の短い配列を多数持っていることが判明した。 S_α が S_μ と S_{γ_1} の間に存在したことから、S-S 組換えの機構として、姉妹染色分体交換モデルを提示した。

論文の審査結果の要旨

申請者は免疫グロブリン H 鎖遺伝子の S-S 組換えの分子様構を探るために、マウスの発現型 γ_1 鎖

遺伝子のS領域を解析し、5'-S_μ-S_α-S_η-3'という塩基配列をとっている事を明らかとした。S_αがS_ηの5'側に存在した事からS-S組換えの分子機構として、姉妹染色分体交換モデルを提唱した。同時にS_αの塩基配列も決定した。

以上の研究は免疫遺伝学に重要な貢献をしたものであり学位に値する。