

Title	マウス免疫グロブリンH鎖定常部遺伝子群の構成
Author(s)	清水, 章
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/33324">http://hdl.handle.net/11094/33324</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

[15]

氏名・(本籍)	清 水 章
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5988 号
学位授与の日付	昭和58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	マウス免疫グロブリンH鎖定常部遺伝子群の構成
論文審査委員	(主査) 教授 本庶 佑 (副査) 教授 岸本 忠三 教授 近藤宗平

## 〔目 的〕

近年の遺伝子工学的手法による研究により、免疫グロブリン遺伝子の構造が詳細に解析された。未分化型と発現型の遺伝子の構造の比較から、本庶とその共同研究者は免疫グロブリンH鎖遺伝子群が分化の過程で二段階の組み換えを起して発現型に変換されるという「二段階組換えモデル」を提唱した。本研究では、このモデルから予想される免疫グロブリンH鎖遺伝子群の構造を直接DNAレベルで検証するため、マウスの本遺伝子群の全領域を一連のDNA断片として単離解析しこのモデルを検証することを目的とした。

## 〔方法及び成績〕

### 1. マウス免疫グロブリンH鎖定常部遺伝子群全領域の単離

適当な制限酵素を用いてBALB/cマウスDNAを部分分解した断片を、 $\lambda$ ファージのベクターに組み込んだ遺伝子ライブラリーより、既に単離されていた $\mu$ ,  $\gamma 3$ ,  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2b$ ,  $\epsilon$ ,  $\alpha$ の各遺伝子をプローブとして多数のクローンを単離した。これらのクローンを相互の部分的重複を利用して、もとの染色体上の配列順序に従って並べた。このようにして並べられたクローンの両端に位置する断片を単離した後再びプローブにし、ライブラリーから次のクローンを単離した。この操作をくり返すことにより、マウス免疫グロブリンH鎖定常部遺伝子群のほぼ全領域を単離できた。上述の方法で得ることが出来なかった $\delta$ 遺伝子及びその3'側は、該当するDNA断片をアガロースゲル電気泳動により部分精製したのち $\lambda$ ファージベクターに組み込み、クローンを単離した。これにより、BALB/cマウスの本遺伝子群の全構造が、5'側より、 $J_H$ -6.5キロ塩基対(kb)- $\mu$ -4.5kb- $\delta$ -55kb- $\gamma 3$ -34kb- $\gamma 1$ -21kb- $\gamma 2b$

15kb- $\gamma$ 2a-14kb- $\epsilon$ -12kb- $\alpha$  であることが決定された。

## 2. $J_H$ 遺伝子の存在位置

本遺伝子群の全領域をカバーするクローンDNAのどの領域が $\mu$  遺伝子の5'側に存在する $J_H$  遺伝子とハイブリダイズするかを検討することにより、 $J_H$  遺伝子が他にも存在するかを検索した。その結果 $J_H$  遺伝子は $\mu$  遺伝子の5'側以外には存在しないことが証明された。

## 3. S (スイッチ) 領域の存在

$\mu$  遺伝子と $J_H$  遺伝子の間に存在する $S_\mu$  領域をプローブとし、単離された全領域中に存在する類似配列を検索した。このプローブは各遺伝子の5'側に存在する各S領域とハイブリダイズし、その強さは強い順に $S_\epsilon$ ,  $S_\alpha$ ,  $S_{\gamma_3}$ ,  $S_{\gamma_1}$ ,  $S_{\gamma_2b} \approx S_{\gamma_2a}$ であった。この結果は塩基配列決定による解析結果と一致した。これらの領域以外に $S_\mu$  プローブとハイブリダイズする部分は本遺伝子群内には存在しなかった。

## 4. 偽遺伝子の検索

各構造遺伝子をプローブとして単離された領域内に偽遺伝子または未発見の遺伝子を検索したが、免疫グロブリン遺伝子とよく類似した構造は存在しなかった。

## 5. ゲノム中に散在する高頻度反復配列の検索

本遺伝子群全領域をカバーするDNAを、マウス全DNAと、高頻度反復配列のみが検出される条件下にハイブリダイズさせた。この結果少なくとも2種類の高頻度反復配列が本領域内に存在することが明らかとなった。

## 6. BALB/cマウス免疫グロブリンH鎖定常部遺伝子群の制限酵素地図の作成

本研究により単離されたクローンDNAを用いて、本遺伝子群全領域にわたる制限酵素切断部位地図を、EcoRI, HindIII, BamHI, XbaI, XhoI, KpnI, SacI, SalIの8種について決定した。

## 7. BALB/cとC57BL/6両マウスの本遺伝子群の構造比較

BALB/c とハプロタイプの異なる C57BL/6 マウスからも多数のクローンを単離し、制限酵素地図をBALB/cマウスのものと比較した。単離できなかった部分については全DNAのSouthern法による比較を行なった。両マウスの本遺伝子群は非常によく類似した構造をしており、主な相異点はS領域の長さであった。

### 〔総括〕

1. 遺伝子歩行法により、BALB/cマウスの免疫グロブリンH鎖定常部遺伝子群全領域、およそ200 kbを単離した。
2. 本遺伝子群の構成は5'- $J_H$ - $\mu$ - $\delta$ - $\gamma$ 3- $\gamma$ 1- $\gamma$ 2b- $\gamma$ 2a- $\epsilon$ - $\alpha$ -3'である。
3.  $J_H$  遺伝子は $\mu$  遺伝子の5'側にのみ存在し、 $\delta$ を除く各遺伝子の5'側にはS領域が存在する。
4. 以上の構造は本庶らの提唱したモデルから予想されたものと完全に一致した。
5. マウスの本遺伝子群の単離された範囲には偽遺伝子は存在しない。
6. 本遺伝子群内には少なくとも2種類の高頻度反復配列が存在する。
7. 8種類の制限酵素について本遺伝子群全領域にわたる切断地図を作成した。

8. BALB/cマウスとC57BL/6マウスの本遺伝子群の構造はS領域の長さ以外はきわめてよく類似している。

### 論文の審査結果の要旨

本論文は、遺伝子歩行法という新しい手法を用いて、マウス免疫グロブリンH鎖定常部遺伝子群の約20万塩基対に及ぶ広大な領域を一連のDNA断片群として単離、解析したものである。その結果、定常部各遺伝子の配列順序等、当遺伝子群の構成が、先に提唱された二段階組み換えモデルの予想と一致する事をDNAレベルで明らかにした。これにより同モデルに明確な証明を与えた点は非常に意義深い。更に本論文は、当遺伝子群全域の制限酵素地図、ハプロタイプ間の差異等、免疫グロブリン遺伝子の発現や進化の研究に不可欠な情報を提供している。

従って本論文は博士論文に値する。