



Title	Pre-B細胞特異的に発現される遺伝子のクローニングとその構造の解析
Author(s)	阪口, 薫雄
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35778
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

氏名・(本籍)	さか 阪 口 薫 雄
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 7890 号
学位授与の日付	昭和 62 年 10 月 13 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	Pre-B 細胞特異的に発現される遺伝子のクローニングとその構造の解析
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 岸本 進 教授 谷口 維紹

論文内容の要旨

[目的]

リンパ球は胎生期の肝臓あるいは生後の骨髄にある血液幹細胞から由来し、pre-B 細胞、成熟 B 細胞へと分化すると考えられた。この様な B 細胞の分化過程における細胞表面抗原の発現の変化や、細胞内での分子化学的变化を研究することを目的とする。

[方法ならびに成績]

pre-B 細胞特異的に発現される cDNA のクローニング

マウス pre-B 細胞ライン 70Z / 3 細胞から ploy A⁺ RNA を抽出、一本鎖 cDNA を作成し T 細胞ハイブリドーマの ploy A⁺ RNA によって T 細胞にも存在する cDNA のサブトラクションを行った。その後 λgt11 ベクターを用いて B 細胞特異的 cDNA ライブラリーを作成した。一次スクリーニングで 70Z / 3 に存在し、T 細胞には発現されていないクローン 200 個を単離した。各々のインサート DNA を抽出、32P 標識してプローブとした。これらのプローブを用いて様々な in vitro 培養細胞 mRNA の Northern ハイブリダイゼーションを行なった。pre-B 細胞として 70Z / 3 および Dr. Rosenberg (Tuft 大学) より供与された Abelson ウィルストラ NS-HOMM pre-B 細胞を用いた。その結果、一つのクローン pZ183 は pre-B 細胞にのみ発現されていて、Ig.H 鎮遺伝子の D - J のみおよび V - D - J rearrange の pre-B 細胞のすべてに発現されていた。また、Ig-L 鎮遺伝子の non-rearrange, rearrange あるいは、μ 鎮タンパクの存在や pre-B 細胞確立時の組織材料やマウス系のいかんにかかわらず、70Z / 3 と同様のサイズの mRNA (1.2kb) がすべての pre-B 細胞ラインにみられた。しかし成熟した B 細胞 (WEHI-279, WEHI-231, A-20-3, M124-O, K46.R.18, 2PK3), 骨髓腫 (MPC11, Sp

2/0, X63, J558), T細胞 (EL4, BW5147, K62), 单核球 (P388D₁, WEHI-3) やL細胞の細胞ラインにはpZ183mRNAは検出されなかった。更にこのpZ183mRNAが正常のマウス組織にも存在するかどうかをin situ mRNAハイブリダイゼーション法を用いて検討した結果、マウス胎生期15~16日の肝細胞の2~4%, 成熟マウス骨髄の1~2%の細胞に存在した。しかし成熟マウス肝、肺、心、胸腺、脳、脾には検出されなかった。

pre-B細胞特異的に発現される遺伝子の構造の解析

次にこのcDNAインサートをM13ベクターを用いてDNAシークエンスを決定したところ、最長のopen reading frameが627塩基で、209アミノ酸をコードすると考えられた。コンピュータによる既知の遺伝子との近似性を検索した。停止信号より上流314塩基の部分がマウス免疫グロブリン λ_1 鎖の定常領域と、それに引き続く上流39塩基がやはりJ領域と67~78%の高いホモロジーを示した。又、その部分の推定アミノ酸構造も免疫グロブリン固有のコンセンサス配列を保っていた。この結果から、この遺伝子を λ_5 遺伝子と名付けた。一方、それよりアミノ末端側に位置する部分は免疫グロブリンの可変領域とは類似していなかった。

次に、この免疫グロブリン λ 鎖類似の λ_5 遺伝子のゲノム中の構造を調べるためにBDF₁マウス肝臓、70Z/3のDNAを用いてザザンプロット解析を行った。Pst I切断による4.5kbサイズのDNA断片上に全構造が存在することが示され、又B細胞の分化、発達に伴って遺伝子のrearrangementをしないことが示唆された。

[総括]

1. サブトラクション法によってマウスB細胞特異的に発現されているcDNAのライブラリーを作成し、そのライブラリーからpre-B細胞特異的に発現されているcDNAクローンを単離した。
2. そのcDNAのシークエンスを行い、それが免疫グロブリン λ_1 light chainの定常領域、J領域と高いホモロジーを示し、推定アミノ酸構造も免疫グロブリン固有の構造をしていることから λ_5 遺伝子と名付けた。
3. この λ_5 遺伝子は従来の λ 鎖の可変領域とは類似する部分を持たず、又、B細胞の分化、発達に伴ってrearrangementはしていない。
4. この λ_5 遺伝子はpre-B細胞のステージでの細胞内分子化学的変化を解析する上で興味ある遺伝子と思われる。

論文の審査結果の要旨

骨髄の幹細胞からpre-Bリッパ球に分化した細胞の時期に特異的に発現されているmRNAに対するcDNAをサブトラクション法を用いた選択的cDNAクローニング法により単離した。そのcDNAの構造の解析から、それが免疫グロブリン λ_1 light chainの定常領域、J領域と高いホモロジーを示し、推定アミノ酸構造も免疫グロブリン固有の構造をしていることから λ_5 遺伝子と名付けた。この λ_5 遺伝子

は、従来の λ 鎖の可変領域とは類似する部分を持たず、又、B細胞の分化、発達に伴って rearrangement はしていない。この λ_5 遺伝子は pre-B 細胞特異的なマーカーとして有用であるだけでなく、pre-B 細胞のステージでの細胞内分子化学的変化を解析する上で興味ある遺伝子と思われる。

この論文は、B細胞分化に伴って特異的に発現される新しい遺伝子を見つけ、その構造を明らかにしたものであり、博士論文に値する。