

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、 〈a href="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

【56】

氏名・(本籍)	さ 阪	ぐ 口	の 薫	お 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poly A⁺RNAを抽出, 一本鎖cDNAを作成しT細胞ハイブリドーマのpoly 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ウィルストランスホーム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鎖遺伝子の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鎖遺伝子のnon-rearrange, rearrangeあるいは, μ鎖タンパクの存在やpre-B細胞確立時の組織材料やマウス系のいかにかわらず, 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), 骨髄腫 (MPC11, Sp

2/0, X63, J558), T細胞 (EL4, BW5147, K62), 単核球 (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 シーケ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 サザンブ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 のシーケンスを行い, 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变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リン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变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。