



Title	T細胞抗原受容体の組織特異的発現 : V $\beta$ プロモーターについて
Author(s)	三宅, 伸一
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38401">https://hdl.handle.net/11094/38401</a>
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名 三宅伸一

博士の専攻分野の名称 博士(医学)

学位記番号 第10345号

学位授与年月日 平成4年6月8日

学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当

学位論文名 T細胞抗原受容体の組織特異的発現: V $\beta$ プロモーターについて

論文審査委員 (主査) 教授 木下タロウ

(副査) 教授 平野俊夫 教授 谷口維紹

## 論文内容の要旨

## 【目的】

T細胞抗原受容体 (TCR) 遺伝子の $\alpha$ および $\beta$ 鎖は、T細胞の分化の際に、組織特異的に再配列が行なわれるため、完全な TCR の RNA 転写は T 細胞でしか行なわれない。さらにそればかりでなく、転写の際にも組織特異的に制御が行なわれているといふいくつかの証拠が得られている。ところが、いまだ TCR 遺伝子の組織特異的な転写制御の詳細な機構については不明な部分が多い。

マウスの TCRV $\beta$ 遺伝子のプロモーター領域において、V $\beta$ ファミリーを通じて非常によく保存されているデカマーシークエンス (コンセンサス: AGTGACATCA) は転写制御機構の重要な役割を果たしており、組織特異的な転写制御にも重要であることが予想されるが、一方 T 細胞以外の組織で発現調節に重要である Activating Transcription Factor (ATF) 結合シーケンスや Cyclic AMP Responsive Element (CRE) にも非常に似ている。本研究では、この TCRV $\beta$ プロモーターのデカマーシークエンスが T 細胞特異的な転写制御を行なうかどうかを、またその機構について検討を行なった。

## 【方法】

組織特異的な転写を確認するために、マウス TCRV $\beta$ 8.3プロモーター (-95~+104) のワイルドタイプ (WT) またはデカマーミュータント (DM) の下流に再配列済みの V $\beta$ 8.2-D $\beta$ 2-J $\beta$ 2.4を配置させたものをコンストラクトとして用い、T細胞である BW5147細胞および非T細胞である HeLa 細胞の核蛋白抽出物を用いて、in vitro の転写を行なった。

また、デカマーシークエンスに結合する蛋白を解析するために、BW5147核蛋白抽出物を用いたゲルシフトアッセイにより得られる、デカマーシークエンス特異的なバンドの DNA-蛋白複合体に対して速度論的な解析を行ない、その機構についての検討を行なった。

## 【成績】

in vitro 転写において、HeLa 抽出物を用いた場合には、WT, DM コンストラクトともに単なる基本的な転写のみ

が行われたのに対して、BW5147抽出物を用いた場合には、WT コンストラクトでは正常な転写生成物が得られるが、DM コンストラクトでは得ることができず、デカマーシークエンスの組織特異的な転写制御への関与が明らかとなつた。したがって、TCRV  $\beta$  の転写制御は単なる非組織特異的な ATF/CRE-TATA box の系ではなく、別個の系により組織特異的に行なわれていると考えられる。

ゲルシフトアッセイによって、デカマーシークエンスには、低濃度の核蛋白抽出物では2種の蛋白群が、高濃度の核蛋白抽出物では3種の蛋白群が結合していることが判明した。このうち、低濃度の核蛋白抽出物における2種の蛋白群は、いずれも複数分子として1分子のDNAに結合し、また互いに独立している。したがってこの2種の蛋白群は、すでに報告されている、異なる遺伝子によってコードされている ATF/CRE シークエンスに結合する蛋白のダイマーであろうと推定される。一方、高濃度の核蛋白抽出物では、ATF/CRE 結合蛋白のダイマーに、さらに別の蛋白が複合して DNA-蛋白複合体を形成している。in vivo または in vitro 転写の系では、ここでいう高濃度の核蛋白抽出物よりさらに高濃度であるため、この新たに見つけた蛋白が TCRV  $\beta$  の組織特異的な転写制御に重要な役割を果たしていると考えられる。

### 【総括】

TCRV  $\beta$  プロモーターの転写制御機能を in vitro 転写系によって検討した結果、デカマーシークエンスが組織特異的な転写制御に重要な役割を果たしていることが判明した。さらにデカマーシークエンスとT細胞の核蛋白との結合をゲルシフトアッセイを用いて検討した結果、デカマーシークエンスは、非組織特異的な ATF/CRE シークエンスと同一ではあるが、TCRV  $\beta$  プロモーターにおいては、ATF/CRE 結合蛋白にさらに別個の蛋白が複合してデカマーシークエンスに結合することにより、ATF/CRE-TATAbox 系とは異なる制御系によって、組織特異的な転写制御を行なっていることを明らかにした。

## 論文審査の結果の要旨

Tリンパ球の抗原受容体 (TCR) と Bリンパ球が産生する抗体は免疫系の中心分子であり、それぞれ Tリンパ球と Bリンパ球でのみ発現するので、遺伝子の組織特異的発現の研究の好材料である。

TCR と抗体の遺伝子はそれぞれ Tリンパ球と Bリンパ球でのみ再配列が行なわれて機能的に完成するので、そのレベルですでに組織特異的発現が決定されているが、さらに転写のレベルでも組織特異的に発現調節されている。本研究では、マウス TCR  $\beta$ 鎖の組織特異的発現のメカニズムを解析した。その結果、可変領域遺伝子 V $\beta$  のプロモーター内に存在するデカマーシークエンスが Tリンパ球特異的転写に重要である事を in vitro の転写系で確認し、さらにゲルシフトアッセイによる速度論的解析から、Tリンパ球の複数の核タンパク質がこのデカマーシークエンスに結合する事と、Tリンパ球特異的であるらしい DNA-タンパク質複合体が存在する事を示した。

本研究は、V $\beta$  プロモーターの組織特異的発現を司る核タンパク質を追究する上での重要な知見を示したものであり、学位論文に値すると認められる。