

Title	グッピーの主要組織適合抗原複合体遺伝子の同定
Author(s)	佐藤, 秋絵
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40308
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

氏名	佐藤 秋 絵
博士の専攻分野の名称	博士 (歯 学)
学位記番号	第 12635 号
学位授与年月日	平成 8 年 6 月 11 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	グッピーの主要組織適合抗原複合体遺伝子の同定
論文審査委員	(主査) 教授 重永 凱男 (副査) 教授 栗栖浩二郎 助教授 小川 知彦 講師 村上 伸也

論文内容の要旨

[研究目的]

硬骨魚綱・真骨上目・Cyprinodontiformes 目に属するグッピー *Poecilia reticulata* はベネズエラ・ブラジル・ギアナなどに分布し、今世紀初頭から鑑賞魚として世界各地で飼育されてきた。グッピーの近縁種は、組織適合性遺伝子群の研究に最初に用いられた変温脊椎動物の一つである。グッピーは求愛行動や交配選択行動といった性選択の実験モデルとして用いられてきた動物であって、交配選択と雄の色彩との共進化が見られ、主要組織適合抗原複合体(MHC)との関係に興味もたれている。また、免疫学的な寄生者宿主間相互作用が存在し、MHC との相互関係が考えられる。さらには生態学的あるいは進化学的遺伝学の研究に非常に良く用いられてきた動物でもあったが、実際にはどの雄が父親であるかの正確な決定が困難であって、この目的にも MHC のタイピングが有用であると考えられる。このような研究は、グッピーの MHC 遺伝子の同定および特性の検討から手をつけられて初めて意義あるものとなる。この論文では、グッピー MHC のクラス I およびクラス II 遺伝子群について記載する。

[研究方法・結果]

養殖グッピー脾の mRNA から作成した λ gt10cDNA ライブラリーを用いて、ゼブラフィッシュ塩基配列 2 種を合成プライマーとして PCR をおこなった。その結果、相互に若干の塩基対を異にする 3 個のクラス I 遺伝子を得た。次いで、同じ λ gt10cDNA ライブラリーより、淡水魚シクリッドのクラス II B 遺伝子をコードする cDNA をプローブとした DNA ハイブリッド法によって、2 個のクラス II B 遺伝子を得た。

野生グッピーの MHC 遺伝子についても検討を行った。クラス I 塩基配列 DNA を合成プライマーとして、4 系統野生グッピーの genomic DNA を用いて PCR を行った。7 種の相互に塩基配列の若干異なるクラス I 遺伝子を得た。これら全ては前記の養殖グッピーの塩基配列とは異なっており、しかもそのうちの 5 個は 6 塩基 (2 アミノ酸) の挿入がみられた。塩基配列の点変異は、クラス I タンパクの $\alpha 1$ および $\alpha 2$ domain のループをコードする領域において特にしばしば見いだされた。クラス II 塩基配列の合成プライマーを用いた同様の PCR 法では、塩基配列が相互に少しずつ異なった 4 種のクラス II 遺伝子を得られた。

genomic DNA を 3 種の制限酵素で切断し、クラス I および II プローブを用いてサザンブロット解析を行った。強いシグナルを示すバンドのパターンから、発現されているクラス I 遺伝子は、ハプロイドあたり 1 個、多くても 2 個であることがわかった。また、発現されているクラス II B 遺伝子はハプロイドあたり 1 個であることが明らかであった。

得られた塩基配列またはアミノ酸配列の相互の差異から遺伝的距離を求めグッピー系統間および他の魚類も含めた系統樹を描いた。クラス I タンパクの $\alpha 2$, $\alpha 3$ domain を用いた場合、クラス I 遺伝子の exon 2 または exon 3 を用いた場合で、それぞれ若干異なる系統樹が得られた。また、クラス II 全体のアミノ酸配列を用いた場合、およびクラス II 遺伝子の exon 2 を用いた場合でも、それぞれ系統樹が得られた。

[結 論]

cDNA ライブラリーにおける各クローンの表現、塩基配列、およびサザンブロット法による解析から、発現されているクラス I およびクラス II の MHC ゲノム数は少ないらしいこと、すなわち、発現されているクラス II 遺伝子座は 1 個のみで、クラス I 遺伝子座は 1 個もしくは 2 個であるらしいことが明らかとなった。また養殖されているグッピーの系統の遺伝的変異は大変少ないことがわかった。この遺伝的均質性はおそらく養殖家と商社によって行われている交配慣行から来るものと思われる。野性のグッピー集団を少しサンプリングしただけでも自然界では両クラスの遺伝子座に非常な MHC の多形性がみられた。

グッピーの MHC 塩基配列を他の脊椎動物の配列と比較したところ、多くの点変異の他に、一部の系統に一組の挿入／欠失が見いだされた。この変異は、脊椎動物の系統と MHC 遺伝子群との間での系統進化論的な相互関係を推論する上での系統分岐論的な解析を行うにあたってのメルクマールとして用いることのできるものである。

論文審査の結果の要旨

本研究はグッピーにおける主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) の同定を目的としたものである。

その結果養殖グッピーと野性グッピーから MHC クラス I 遺伝子、クラス II 遺伝子それぞれを複数個ずつ同定し、遺伝子座の数も推定することができた。

以上により本研究はグッピーの MHC 遺伝子と他の脊椎動物の MHC 遺伝子との系統関係と MHC 遺伝子の進化を推察する上できわめて重要な指針を与えたものであり博士 (歯学) の学位を得る資格があるものと認める。