

氏名	たしろじゅんこ 田代純子
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2375号
学位授与の日付	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科分子医学系専攻
学位論文題目	Palindromic but not G-rich sequences are targets of class switch recombination 免疫グロブリンクラススイッチ組み換えは回文配列とその高次構造を認識する
論文調査委員	(主査) 教授 湊 長博 教授 坂口志文 教授 本庶 佑

### 論文内容の要旨

免疫グロブリンクラススイッチ組換え (CSR) は、免疫グロブリン重鎖遺伝子の C 領域上流に位置する S 配列を介して行なわれ、 $C\mu$  の上流の S 配列 ( $S\mu$ ) と各アイソタイプの S 配列間で起こる組換え現象である。

CSR において、S 配列はアイソタイプ特異性、方向特異性がないことを我々のグループによって示されたが、組み換え酵素にどういった特徴が認識されているのかはわかっていない。S 配列のどのような配列、構造が組み換え酵素に認識されるのかを明らかにするため、人工基質に様々な配列を S 配列として、マウス B 細胞株 CH12F3-2 の染色体に人工基質を組み込んだ CSR を再現した系を用いた。

S 配列は方向特異性を持たない事から、ほ乳類の S 配列の特徴である(1)G に富み、(2)繰り返し配列であり、(3)回文配列に富む配列の各特徴のいずれかに欠いた、鳥類、両生類の S 領域として、ニワトリの  $S\mu$ 、アフリカツメガエルの  $S\mu$ 、あるいは人工的に作成された塩基配列として、テロメア、Multiple Cloning Site (MCS) を S 配列として用い、それらを人工基質に組み込み、クラススイッチ組換えが誘導されるかどうかを検討した。ポジティブコントロールとしてマウスの S 配列を、ネガティブコントロールとしてほ乳類の S 配列の特徴を持たないイントロン配列を用いた。

哺乳類の S 配列同様に G に富む反復配列からなるテロメア配列は S 領域として認識されず、哺乳類の S 配列の特徴の一つである回文配列に富む配列を持つ、鳥類のニワトリの  $S\mu$ 、Multiple cloning site (MCS) は S 領域として機能した。AT に富む両生類のアフリカツメガエルの  $S\mu$  はわずかに CSR が認められた。これら三種の S 配列に共通する特徴は回文配列に富み、2次構造のステムループ構造を取る事である。

これらの組み換え点を検討したところ、これまでに報告されてきた CSR の組み換え点同様、非相同性かつ多様性が認められ、周辺の点変異が見られた。特に C に富む反復配列からなる鳥類の S 配列においても組み換え点が認められ、この事は CSR の組み換え酵素が各アイソタイプの S 配列の一次配列や方向による特異性を持たない事実と合致する。

また、これらの組み換え点の2次構造上での分布を調べたところ、ループ領域とステム領域の境界(ネック領域)の近傍に組み換え点が集中していることが観察された。

鳥類の S 配列、MCS において組換えが見られ、両生類の S 配列でわずかに認められた事は、種を超えて組換えの機構が保存されている事が示唆され、また、組換えに先立って起こる転写に際し、回文配列に富む S 配列が一過的に形成する特殊な2次構造が認識される事を示唆している。

### 論文審査の結果の要旨

免疫グロブリンクラススイッチ組換え (CSR) において、切断される S 配列のどのような配列、構造が組み換え酵素に認識されるのかはわかっていない。これらを明らかにするため、マウス B 細胞株 CH12F3-2 の染色体に人工基質を組み込んだ CSR を再現した系を用いて解析を行った。鳥類、両生類の S 領域としてニワトリの  $S\mu$ 、アフリカツメガエルの  $S\mu$ 、人

工的に作成された塩基配列として、テロメア、Multiple Cloning Site (MCS) を S 配列として用い CSR の誘導を検討した。

哺乳類同様に G に富む反復配列からなるテロメア配列は S 領域として認識されず、哺乳類の S 配列の特徴の一つである回文配列に富む、鳥類のニワトリの S $\mu$ , MCS は S 領域として機能した。AT に富む両生類のアフリカツメガエルの S $\mu$  はわずかに CSR が認められた。この結果は先に、アイソタイプ特異性、方向特異性がないことを我々のグループによって示されたが、これと一致する。

これらの組み換え点の二次構造上での分布を調べたところ、ループ領域とステム領域の境界（ネック領域）の近傍に組み換え点が集まっていることが観察された。

これらから種を超えて CSR の機構が保存されている事が示唆され、又、組換えに先立って起こる転写に際し、回文配列に富む S 配列が一過的に形成する特殊な二次構造が認識される事が示唆された。

以上の研究は免疫グロブリンクラススイッチ組換え機構の解明に貢献し免疫学の進歩に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年2月27日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。