

論文審査の結果の要旨

氏名 松尾 恵

本論文は、硬骨魚メダカゲノム MHC クラス I 領域の塩基配列の決定により、本領域の遺伝子構成に関して詳細な解析を行った成果について述べている。

近交系が確立され遺伝的背景が均一な系を利用することができ、近年実験動物としての利用基盤が加速的に整えられているメダカを、実験動物として用いている。南日本集団由来の近交系 (Hd-rR 系統) メダカゲノム DNA より作成された BAC ライブラリーから、クラス IA、PSMB9 遺伝子に相同な配列を含むクローンを同定し、そのうち二クローン (188P8、187N22) の全塩基配列の決定を行った。その結果、425,862 塩基対の連続した配列が得られたが、これは現在ヒトに次いで二番目に長い MHC 領域の配列である。本領域には二十個の発現すると考えられる遺伝子、三個の偽遺伝子、二個の遺伝子候補が同定されたが、中でも CIZ 遺伝子は全脊椎動物を通じて初めて MHC 領域に存在することが示され、特記すべき事項である。遺伝子候補のうち CLEP (c-type lectin like protein) は c-type lectin 様構造を有する新規遺伝子であることが示された。反復配列、転移因子の同定も行われている。現在までに同定された配列の多くは高等脊椎動物由来であり、さらに、反復配列は種特異性が高い。よって、下等脊椎動物では多くが未解明であると考えられているが、メダカで多くの新規転移因子が同定されたことは、今後、下等脊椎動物の研究にとって価値あるものになると期待される。

本領域の遺伝子構成を他種硬骨魚類であるゼブラフィッシュ、フグと比較したところ、これら硬骨魚類三種はゲノムサイズが大きく異なるにも関わらず、領域のサイズ及び遺伝子メンバーの二点において高度に保存されていた。メダカはゼブラフィッシュと遺伝子の転写方向も含めて酷似していたが、フグでは多くの違いが認められた。系統学的にはメダカはフグに近縁で、ゼブラフィッシュとは遠い系統であることから、三種の共通祖先における遺伝子構成はメダカ、ゼブラフィッシュのクラス I 領域の様であり、フグは更にゲノム再編を経たと考察された。ところで、硬骨魚類では、ヒト MHC 遺伝子が別個の染色体に散在していることが、連鎖解析等の手法により明らかにされていた。しかしながら、今回クラス I 抗原ペプチドのプロセッシングおよび輸送にかかわる遺伝子群の連鎖が認められた。クラス IA 遺伝子、免疫プロテアソームの構成成分をコードする PSMB 遺伝子、抗原ペプチドの小胞体内部への輸送に関わる ABCB3 遺伝子、及びトランスポーターとクラス IA 分子の橋渡しをすると考えられる TAPBP 遺伝子の連鎖は、軟骨魚類から哺乳類に至る全有顎脊椎動物で保持されていた。その上、メダカ MHC 領域内ではこれらの遺伝子が他の遺伝子の介入無しに並んでいることから、クラス I 抗原提示関連の遺伝子群が MHC の中枢部分であることが示唆された。また、MHC 領域とは、クラス I 抗原提示システムの環境に適応した変化を保証する機構であると考えられた。

本論文では、個々の遺伝子についての詳細な解析もなされている。今回 Hd-rR 系統メダカゲノム中に同定された四個のクラス IA 遺伝子、HNI 系統 (北日本集団由来) メダカの cDNA 解析で同定されていた三個のクラス IA 遺伝子の併せて七遺伝子について解析を行った。抗

原ペプチドの結合に重要な九個のアミノ酸残基の解析、全アミノ酸配列を用いた系統学的解析の二手法により、古典的クラス IA 遺伝子(class Ia)と非古典的クラス IA 遺伝子(class Ib)とに分類した。系統樹を用いた解析により、メダカの class Ia、class Ib の分岐は硬骨魚類内で起きたことが示された。本論文中でも述べられているように、断定する為には更に発現分布・多型の解析が必要ではあるが、哺乳類以外で MHC 領域に存在する class Ib 遺伝子を同定したのは本研究が初めてである。

本領域に存在する PSMB8、PSMB9、PSMB9-like、PSMB10 遺伝子は、系統学的検討によると全て誘導型サブユニットであった。さらに、転写調節領域の精査から、硬骨魚類でも哺乳類と同様に IFN の制御を受けていると考えられた。また、PSMB9-like 遺伝子は PSMB9 遺伝子の重複により生じたと考えられたが、これは四足動物と硬骨魚類の共通祖先で起き、硬骨魚類の系統では残ったものの四足動物の系統で失われたことが、明確に示された。

なお、本論文は、浅川 修一・清水 信義・木村 博・野中 勝との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。