

論文の内容の要旨

論文題目 抗原受容体遺伝子多様化の分子機構

氏名 児玉昌美

抗体遺伝子は、分断された V エクソンのセグメントを V(D)J 結合によって持ち寄り combinatorial diversity を獲得しているのみならず、その組換え結合部にヌクレオチドの挿入、欠失を生じさせることにより junctional diversity を生み出している。抗体遺伝子は更に、高頻度突然変異を導入することによって、affinity maturation という抗原結合能の微調整をも行なっている。本研究では、これら抗体遺伝子に体細胞変化をもたらす分子機構について解析した。

まず、V(D)J 組換えに関しては、2つの組換えシグナル配列(RSS : recombination signal sequences)が対合した RAG(recombination activating genes)タンパク質との高次複合体を単離し、そのフットプリントパターンを検討した。その結果、RAG/RSS 一次複合体では見られなかった切断点周辺の強い相互作用が検出された。これらの解析により、RAG/RSS 高次複合体における 12/23 組み換えルールの分子構造学的基礎や、切断反応

時の組み換え酵素と基質 DNA との位置関係に重要な示唆が与えられた。

本研究ではまた、V(D)J 組み換えの素過程の解明に大きな進展が見られた。RAG/RSS 高次複合体では、RSS が切断されて coding end (CE) と signal end (SE) が生成するが、本研究により、CE DNA の 3' 末端が RAG/RSS 複合体中で process されてリン酸基が生じ、これが SE の 3' 末端に転移されることが明らかとなった。この RAG による 3' プロセシング反応の発見は、junctional diversity の理解に極めて重要である。更に、これに続いて生じる 3'-リン酸基の転移反応は、CE 末端の ligation に不可欠であるのみならず、SE 末端の transposition の抑制にも重要な役割を果たしていることが示唆された。

本研究ではまた、体細胞高頻度突然変異の導入機構をトランスジェニックマウスを用いて解析した。3' エンハンサー内の PU.1/NF-EM5 結合配列に変異を持つ Igκ トランスジェンでは、変異導入の頻度が低下するのみならず、変異を受ける塩基が A/T に偏る事が明らかとなった。これらの結果は、高頻度突然変異導入に影響を与えてきた 3' エンハンサーのコア領域の内、PU.1/NF-EM5 結合配列がそのシスエレメントであることを特定し、更には、従来一つだと考えられていた突然変異の導入機構が、A/T biased と G/C biased の 2 つからなることを示している。