

論文審査の結果の要旨

氏名 児玉 昌美

本論文では、抗体遺伝子を多様化する2つのメカニズム、(1) V(D)J 組み換えと (2) 体細胞高頻度突然変異について論じている。

(1) V(D)J 組み換えの研究では、組み換え複合体を世界に先駆けて単離しフットプリント法により解析した。抗体遺伝子では、分断された遺伝子セグメントを DNA 組み換えによってつなぎ合わせ、組み合わせによる多様化を行っている。更に、その組み換え結合部にヌクレオチドの挿入及び欠失を生じさせることにより更なる多様性を生み出している。本研究では先ず、V(D)J 組み換えの為に2組のシグナル配列 (recombinational signal sequences : RSS) と、組み換え活性化遺伝子 (recombinational activating genes) によってコードされる RAG 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、これまで解析されている RAG/RSS の一次複合体とは異なり、DNA 切断点周辺に強い相互作用が検出された。この一連の解析により、12/23 組み換えルールの分子構造学的基礎や、組み換え酵素と基質 DNA との位置関係に関して重要な知見が得られた事は高く評価される。

V(D)J 組み換えにおいては、RAG/RSS 高次複合体が形成された後、RSS を含む基質 DNA が切断されてコーディング末端 (CE) とシグナル末端 (SE) が生じる。本研究では、RSS 切断後 SE の 3'OH 末端にリン酸基が転移する反応を新たに見出し、リン酸基のドナーと転移反応の分子機構を解析した。その結果、CE の 3' 末端が多様化の為に欠失を受け、その末端に残った 3'リン酸基が SE の 3'OH 末端に転移する事が示唆された。ここで発見された 3'-リン酸基の転移反応は、CE 末端がつなぎ合わされて V(D)J 構造が形成されるの

に不可欠であるのみならず、細胞にとって有害となる SE 末端の染色体への再挿入を抑制するという意味でも極めて重要である。

(2) 体細胞高頻度突然変異の研究では、変異導入のメカニズムについて新しい知見が得られた。抗体遺伝子は、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行っている。本研究では、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 Igk トランスジーンでは、変異の導入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と言われてきた 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 1 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た点重要である。

本研究では、V(D)J 組み換えと、高頻度突然変異、それぞれについて、幾つかの重要な発見がなされている。これらはいずれも、抗体遺伝子多様化の分子機構について、これまで重要とされながらも手つかずであった部分に新しい手掛かりを与えるものとして高く評価できる。なお、本論文第 1 章に記述された内容は、名川、石黒、西原、坂野、また第 2 章は、林、西住、名川、竹森、坂野各博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断した。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。