

胚中心におけるT細胞セレクション機構の解析

課題番号11670322

平成11年度～平成12年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 古澤修一
(広島大学生物生産学部助教授)

研究組織

研究代表者：古澤修一（広島大学生物生産学部 助教授）

研究分担者：堀内浩幸（広島大学生物生産学部 助手）

研究経費

平成11年度	1,800 千円
平成12年度	1,800 千円
計	3,600 千円

研究発表

学会誌等

Matsuda,H., Horiuchi,H., Nakamura,N., Furusawa,S., Mohri,S. and Kitamoto,T. A chicken monoclonal antibody with specificity for the N-terminal of human prion protein., *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 23:189-194, 1999.

Fukushima,K., Murata,Y., Seto,T., Furusawa,S., and Matsuda,H. In vitro system for immunoglobulin class switching using BHK cells transfected with murine recombinant CD40 ligand., *J. Vet. Med. Sci.* 61:615-619, 1999.

Kitao,H., Arakawa,H., Kuma,K., Yamagishi,H., Nakamura,N., Furusawa,S., Matsuda,H., Yasuda,M., Ekino,S., and Shimizu,A. Class switch recombination of the chicken immunoglobulin heavy chain genes: implications for the primordial switch region repeats., *Int. Immunol.*, 12: 959-968, 2000.

Nakamura,N., Aoki,Y., Horiuchi,H., Furusawa,S., Yamanaka,H., Kitamoto,T., and Matsuda,H.

Construction of recombinant monoclonal antibodies from a chicken hybridoma line secreting specific antibody., *Cytotechnol.* 31:1-8, 2000.

Barua,A., Furusawa,S., and Yoshimura,Y. Influence of aging and estrogen treatment on the IgY concentration in the egg yolk of chicken *Gallus domestics.*, *J. Poult. Sci.* 37:280-288, 2000.

Zheng,W.M., Furusawa,S., Izaki,J., and Yoshimura,Y. Localization of immunoglobulin G g-chain mRNA-expressing cells in the oviduct of laying and diethylstilbestrol-treated immature hens., *General Comparative Endocrinology* 120:345-352, 2000.

Sakai,T, Fujita,M and Furusawa,S., Ichishima,K., and Yamamoto,S. Daily changes of arterial and venous plasma catecholamine concentrations and the responses of those immobilization in laying hens., *Animal Sci. J.* 72:26-21, 2001.

Sakai,T, Fujita,M, and Furusawa,S. Cytokine mRNA expression of the heat exposed lying hens., *Animal Sci. J.* in press, 2001.

Otsubo,Y., Chen,N., Kajiwara,E., Horiuchi,H., Mastuda,H., and Furusawa,S. Role of bursin on the development of B lymphocytes in chicken embryonic bursa of Fabricius., *Dev. Comp. Immunol.* in press, 2001.

口頭発表

梶原栄二、古澤修一、堀内浩幸、松田治男、ニワトリパイエル氏板の個体発生に関する研究、1999年4月藤沢、第127回日本獣医学会。

胚中心内T細胞リセプターの解析、1999年4月藤沢、第127回日本獣医学会、塚脇優子、古澤

修一、堀内浩幸、松田治男。

抗プリオンニワトリモノクローナル抗体産生ハイブリドーマを用いたファージディスプレイ抗体の作成、1999年4月藤沢、第127回日本獣医学会、中村尚登、青木悠里、三多弘幸、堀内浩幸、古澤修一、山中八郎、北本哲之、松田治男。

ニワトリ PDGF 遺伝子のクローニングと発現解析、1999年4月藤沢、第127回日本獣医学会、井上 武、堀内浩幸、古澤修一、松田治男。

ニワトリ卵管における IgG 鎖 mRNA 発現細胞の分布に及ぼすエストロジェンの影響、1999年10月鹿児島、第96回日本畜産学会、鄭 維明、吉村幸則、古澤修一、岡本敏一。

産卵鶏のサイトカイン産生に及ぼす高温暴露の影響、1999年10月鹿児島、第96回日本畜産学会、酒井俊昌、藤田正範、一島 圭、古澤修一、山本禎紀。

3種のニワトリ PDGF-A 鎖遺伝子の特徴とその発現解析、1999年10月熊本、第128回日本獣医学会、堀内浩幸、井上 武、古澤修一、松田治男。

ニワトリ免疫機構に及ぼす緊縛および高温暴露の影響、1999年10月熊本、第128回日本獣医学会、重田暁子、井上 武、堀内浩幸、古澤修一、松田治男。

cDNA cloning and mRNA expression of PDGF in chicken thrombocytes. March 16-17, 2000, Tsukuba, International Veterinary Cytokine and Vaccine Conference., H. Horiuchi, T. Inoue, S. Furusawa, and H. Matsuda

Expression of chicken gp130 in various chicken organs and cells., March 16-17, 2000, Tsukuba,

International Veterinary Cytokine and Vaccine Conference., T. Inoue, H. Horiuchi, S. Furusawa, and H. Matsuda

ニワトリ末梢血Tリンパ球サブセットの3カラーフローサイトメトリー解析、2000年4月つくば、第129回日本獣医学会、吉田佳世、重田暁子、堀内浩幸、古澤修一、松田治男。

ニワトリ gp130 遺伝子の発現解析およびそのリコンビナントタンパクの作成、2000年4月つくば、第129回日本獣医学会、井上 武、堀内浩幸、古澤修一、松田治男。

出版物

なし。

目次

序論	2
材料と方法	5
成績	10
考察	12
まとめ	15
参考文献	16

【序論】

胚中心は T 細胞依存性抗原刺激後に一過性にリンパ節や脾臓内に形成される濾胞構造であり、B 細胞、濾胞樹状細胞、及び少数の T 細胞から構成される。胚中心には増殖を続ける芽球様 B 細胞が多数存在し¹⁾、また免疫記憶 B 細胞も存在すること²⁾が 1980 年代に報告され、胚中心が B 細胞の分化成熟に重要な場であることが明らかとなった。その後、外来抗原に対して高親和性な免疫グロブリンを発現する B 細胞の特異的な選択と、記憶細胞の出現に胚中心が関与することも示された²⁾。1990 年代に入ってから、胚中心 B 細胞免疫グロブリン遺伝子に体細胞突然変異が誘導されることが初めて証明され³⁾、この微小環境が B 細胞の成熟とその選択にきわめて重要な役割を果たすことが明らかとなった。つまり胚中心は、抗体の可変領域遺伝子の体細胞突然変異 (somatic hypermutation)、抗体のクラススイッチ、親和性の成熟 (affinity maturation)、記憶 B 細胞の出現などの、適応免疫応答において重要な過程が進行する場である。

哺乳類の胚中心の形成とその維持は以下の様に行われる。periarteriolar lymphoid sheath (PALS) においてヘルパー T 細胞により活性化された B 細胞の一部は、その一部は短命ではあるが最初の循環抗体源である IgM あるいは IgG、IgA を分泌する形質細胞へと分化する。また他の B 細胞の一部は一次リンパ濾胞内へ移動し、胚中心が形成される。そこで B 細胞は急速に増殖を開始し⁴⁾、中心芽細胞となる。中心芽細胞は増殖を繰り返して密集し、胚中心内で暗領域と呼ばれる領域を形成していく。この増殖の過程で免疫グロブリン遺伝子は体細胞高頻度突然変異を受け³⁾多様性を拡大する。中心芽細胞は成熟するに従って分裂を停止し、中心細胞と呼ばれる小型リンパ球となる。この中心細胞は暗領域から移動し、明領域を形成していく。胚中心内の大半の T 細胞はこの明領域に存在する。明領域では濾胞樹状細胞が長い突起を張り巡らして網状構造を形成している。濾胞樹状細胞は、その表面の Fc 受容体あるいは補体受容体を介して抗体と複合体を形成した抗原を長期に保持しており、これらの抗原により高親和性免疫グロブリンを表示した B 細胞の選択が行われる。高親和性 B 細胞は、濾胞樹状細胞上の抗原抗体複合体により膜型免疫グロブリンの架橋を受け、活性化される⁵⁾。T 細胞は CD40 リガンド、Fas リガンドの発現や、各種サイトカインの産生を行い、B 細胞はこれら T 細胞からのシグナルに依存して形質細胞や記憶細胞へと分化する。このように、B 細胞の成熟や記憶 B 細胞の産生は、胚中心という微小環境内での細胞間の相互作用に依存して起こる現象と考えられている。

マウスでは胚中心内免疫グロブリン遺伝子の VH 領域のレパートリーが、CD4 陽性 T 細胞に影響されていることが報告されている⁶⁾。胚中心内の B 細胞は T 細胞由来 IL-

2 や IL-10 などのサイトカイン刺激により形質細胞へ分化し、これに T 細胞膜上の CD40 リガンドとの接触が加わることにより、記憶 B 細胞へと分化する⁷⁾ ことも知られている。このように胚中心内の T 細胞が B 細胞の分化・成熟に重要な役割を果たしていることが明らかとなってきたが、T 細胞の抗原特異性に関して、その性状等は依然未解明な部分が多い。

T 細胞はクラス II 分子に提示された抗原を、クラス II 分子と共に認識しており、TCR の抗原結合部位の遺伝子配列は、クラス II 及び抗原との親和性を決めるという重要な役割を果たしている。TCR は α 鎖と β 鎖、及び γ 鎖と δ 鎖の S-S 結合によるヘテロダイマーから構成されている。抗体遺伝子と同様に α 鎖と γ 鎖は V、D、J、C の、 β 鎖と δ 鎖は V、J、C の各領域を持ち遺伝子再編成により多様性を獲得している⁸⁾。多様性は再編成時の V,D,J の組み合わせと、V-D 間、D-J 間の N 配列の付加、体細胞突然変異により獲得される。抹消リンパ組織の T 細胞はそのほとんどが $\alpha\beta$ T 細胞である。

TCR 遺伝子上には、特に変異に富む CDR1、CDR2、CDR3 (CDR:complementarity-determining region) と呼ばれる領域が存在し、TCR はこの CDR 領域によりクラス II 及び抗原を認識している。

マウスの胚中心内 T 細胞では、 α 鎖で体細胞突然変異が起きていることが報告されているが⁹⁾、ヒトの胚中心内ヘルパー T 細胞の TCR β V 領域では体細胞突然変異が起きないことが示されており¹⁰⁾、ニワトリでも V β の CDR1 と CDR2 の領域は、それぞれ V β ファミリーの変異部位と考えられている。しかしながら、CDR3 領域は V-N-D-N-J の結合部の遺伝子産物よりなり、特に変異が高い部位と考えられている。

哺乳類ではその構造の複雑さから胚中心を単離することは困難であり、現在、peanut agglutinin 等を用いて胚中心の構成細胞を選別し、その解析が行なわれている。一方ニワトリの脾臓内で、胚中心は結合組織の被膜に覆われ、動脈の分岐した部位に構築されるが、血管系からは隔離されて存在している。このような構造の単純さから胚中心のみを単離することが可能であり、個々の胚中心内の反応の解析が可能である。

ニワトリ TCR の、V β 遺伝子には V β 1 ファミリーと V β 2 ファミリーの 2 種類が¹¹⁾、D β 遺伝子には 1 種類の遺伝子が¹¹⁾、J β 遺伝子には J β 1340、J β 4、J β 1280、J β 1336 の 4 種類の遺伝子が¹²⁾報告されている。胚中心内の T 細胞は主に V β 1 ファミリーが使われていることが報告されている¹¹⁾。

当該研究者が DNP-BSA 免疫 7 日後のニワトリ単一胚中心内の TCR 遺伝子 V β 1-D β -J β 1340 領域の塩基配列のレパートリー解析を行ったところ、TCR CDR3 領域でレパートリーが収束することが示された¹³⁾。さらに、同じ CDR3 配列を持ちながら、異なった V β 1 が使用されていることもわかった。このことは、胸腺内で CDR3 部位のレコ

ンビネーションを起こして分化し、自己にとって有用なT細胞として選択されて末梢に出てきたT細胞が、胚中心の中で CDR3 領域を保持したまま V β 1 遺伝子を交換するという再レコンビネーション、つまりリセプターエディティングを起こしている可能性を提示した。

これらの事より、本研究計画では 1) 胚中心形成の各段階での TCR 遺伝子の配列および収束状況を解析し、この収束が最初から選択されたのか、胚中心の中で選択されたのかを検討し、また 2) レコンビネーションに関与する RAG1 および RAG2 遺伝子発現の解析、および 3) レコンビネーション時に作成されると予想される環状 DNA の検出を行なった。

【材料と方法】

1. 供試動物

本実験では、供試ニワトリとして近交系白色レグホン種 H-B 15 系（フィンランド、チュルク大学の Vianio 博士より供与され、本研究室で継代維持）を用いた。

2. 抗原と免疫

抗原は dinitrophenylated-bovine serum albumin (DNP₄₆ - BSA) を、PBS で 1 mg/ml に調整した。これを約 6 週齢の H-B 15 の翼下静脈に 500 μ g/body 投与した。

3. 胚中心の単離

免疫 4 日後、7 日後、14 日後のそれぞれの H-B15 の脾臓の動脈分岐点に形成された胚中心を次の方法で単離した。ニワトリを放血屠殺した後、脾臓を摘出して組織培養用ハンクス液（日水製薬(株)、東京）に移した。被膜、赤脾髄、白脾髄、及び静脈をピンセットを用いて動脈から取り除き¹⁵⁾、胚中心を含む動脈をコラゲナーゼ（2 mg/ml）（Sigma、MO）で 37 °C、30 分処理し、穏やかにピペティングした。単離された胚中心を、実体顕微鏡下でマイクロピペッターを用いて、ハンクス液に浮遊させた状態でエッペンドルフチューブに回収し、-80 °C で保存した。

4. DNA の抽出

方法 3 で得られた単一の胚中心は、1 mg/ml proteinase K (Sigma、MO)、1 mg/ml RNase A (Nacalai Tesque、京都)、1 % polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Nacalai Tesque、京都) で 37 °C、120 分間処理後、エタノール沈殿した。抽出した DNA は 10 μ l の distilled water (D.W.) に溶解した。

5. TCR 遺伝子 V β 1-N-D β -N-J β 1340 領域の増幅

塚脇の方法に順じプライマーは、genomic V β 1 の遺伝子配列を基に、5' 側は genomic V β 1 の CDR1 上流域に TCR-B#1 を、3' 側は genomic J β の下流域に TCRB-#2 を、遺伝子解析ソフトウェア OLIGO4.0 を用いて設計し、プライマー合成を、北海道システム・サイエンス（株）に依頼した。プライマーの塩基配列は以下に示す。

TCR-B#1 : 5' -GCG GAT CCT TGT CCG ACT GGG AGA CTCT-3'

TCRB-#2-J β 1340 : 5' -GCA AGC TTA GTG CCC TGT CCA AAG TTCA-3'

方法4で得られた単一胚中心からのDNA (10 μ l) を鋳型とし、プライマーはTCR-B#1及びTCRB-#2の組み合わせで使用した。AmpliTaq Gold (PE Applied Biosystems、千葉) を用い、そのプロトコールに従って反応液を作成し、上記の遺伝子解析ソフトにより算出して得られた下記のプログラムにて増幅反応を行った。

<プログラム1>

1 : 95 °C 10 min
2 : (94 °C 1 min \rightarrow 54 °C 1 min \rightarrow 72 °C 2 min) \times 35 サイクル
3 : 72 °C 10 min
4 : 4 °C ∞

<プログラム2>

1 : 95 °C 10 min
2 : (94 °C 1 min \rightarrow 55 °C 1 min \rightarrow 72 °C 2 min) \times 40 サイクル
3 : 72 °C 10 min
4 : 4 °C ∞

プログラム2は塚脇が条件設定したプログラム1¹³⁾のアニーリング温度を1°C高くし、サイクル数を増やしたものである。

一次増幅反応後の反応液はエタノール沈殿した後、10 μ lのDWに溶解した。この内の1 μ lを鋳型とし、二次増幅反応を行った。反応液は1.5%アガロースゲルで電気泳動した後、エチジウムブロマイドで染色し、紫外線下で増幅DNA断片を検索した。7日後に回収した胚中心のTCR遺伝子増幅は一次増幅反応、二次増幅反応ともにプログラム1で行った。4日後に回収した胚中心のTCR遺伝子増幅は一次増幅反応をプログラム1で、二次増幅反応をプログラム2で行った。14日後に回収した胚中心のTCR遺伝子増幅は一次増幅反応をプログラム2で行い十分な増幅が確認できたので二次増幅反応を行わずにクローニングした。

6. TCR 遺伝子のクローニング

1) 挿入DNA断片の調整

増幅DNAの抽出はエタノール沈殿により行った。抽出したDNAはDWに溶解し、20UのBam H (宝酒造株、東京) 及び20UのHind (BioLabs、MA) で処理した。1.5%

アガロースゲルで電気泳動し、予想される 300~350bp のサイズのバンド部分を切り出して、エッペンドルフチューブに回収した。GenElute AGAROSE SPIN COLUMN (Sigma, MO) を用い、添付のプロトコールに従って DNA を精製した。

2) ライゲーション

調整した挿入 DNA 断片は、pBluescript SK⁻ (Stratagene, USA) へ DNA Ligation Kit Ver.1 (宝酒造(株)、東京) を用いて添付の説明書に従ってライゲーション反応を行った。

3) 形質転換

ライゲーション反応により得られた、TCR 遺伝子 V β 1-N-D β -N-J β 1340 領域の遺伝子断片を含むプラスミドは、competent cells に導入した。competent cells は、本研究室で維持している E.coli の XL1-Blue を用いた。-80°Cフリーザーにストックした competent cells 100 μ l を水中で融解し、これに 6-2) でライゲーションした 10 ng/ μ l のプラスミド DNA 溶液を 10 μ l 加え、37°C で 1 時間振盪培養した。0.2% ampicillin 含有 2 \times YT (10% NaCl, 10% yeast extract (Difco, MI)、16% bacto-tryptone (Difco, MI)) プレート (1.2% agar) に、50 μ l の 20% X-gal (Nacalai Tesque, 京都)、30 μ l の 100 mM IPTG (Nacalai Tesque, 京都) を塗布し、これに培養液をまいて 37°C で一昼夜培養した。

4) プラスミド調整

カラーセレクションによりプラスミドの導入された XL1-Blue のシングルコロニーを、2 \times YT 培地に植え継ぎ、37°C で一昼夜振盪培養した。培養した XL1-Blue から、アルカリ SDS 法により、プラスミド DNA を単離、精製した。

7. TCR 遺伝子 V β 1-N-D β -N-J β 1340 領域の塩基配列決定

精製したプラスミドに導入されている、TCR 遺伝子 V β 1-N-D β -N-J β 1340 領域の塩基配列は、dye terminator cycle sequencing 法 (PE Applied Biosystems, 千葉) を用いて、DNA auto sequencer model 373A (PE Applied Biosystems, 千葉) で決定した。プライマーには T3 及び T7 プライマー (Stratagene, USA) を用いた。得られた塩基配列は、GENETYX-MAC (S.D.C software) を用いて解析した。

8. 胚中心細胞からの全 RNA の抽出

7 週令のシェーバー鶏に peroxidase anti-peroxidase complex(PAP)を免疫し、3 日後、5 日後、8 日後の脾臓から胚中心を分離した。回収した胚中心をそれぞれ混合し、約 50 個の胚中心由来細胞に対して 500 μ l の ISOGEN (和光) を使用し、添付の方法に従っ

て全 RNA を抽出した。

9. RT-PCR による RAG-1、RAG-2 遺伝子発現解析

胚中心細胞由来全 RNA より、下記のプライマーを用いて、Superscript 法 (Gibco) により RAG-1、RAG-2 遺伝子発現解析を行なった。プライマーは RAG-1 と RAG-2 の遺伝子配列¹³⁾を基に、遺伝子解析ソフトウェア OLIGO4.0 を用いて設計し、プライマー合成を、北海道システム・サイエンス (株) に依頼した。プライマーの塩基配列は以下に示す。

CRAG-1F : 5' - CG GGATCC GGT ACA GGC TAT GAT GAG AA -3'
CRAG-1R : 5' - CG AAGCTT CTT CCT GAG ATG TTT GTC AA -3'

CRAG-2F : 5' - CG GGATCC TCT GGG AGG CCA TTC ACT TC -3'
CRAG-2R : 5' - CG AAGCTT TCA TCC GTT TCT GGT TGT CA -3'

プライマーは CRAG-1F と CRAG-1R 及び CRAG-2F と CRAG-2R の組み合わせで使用した。AmpliTaq Gold (PE Applied Biosystems、千葉) を用い、そのプロトコールに従って反応液を作成し、上記の遺伝子解析ソフトにより算出して得られた下記のプログラムにて増幅反応を行った。

1 : 94 °C 4 min
2 : (94 °C 1 min → 53 °C 1 min → 72 °C 2 min) ×40 サイクル x 2
3 : 72 °C 2 min
4 : 4 °C ∞

一次増幅反応後の反応液はエタノール沈殿した後、10 μl の DW に溶解した。この内の 1 μl を鋳型とし、二次増幅反応を行った。反応液は 1.5 % アガロースゲルで電気泳動した後、エチジウムブロマイドで染色し、紫外線下で増幅 DNA 断片を検索した。

9 . RAG 遺伝子のクローニング

挿入 DNA 断片の調整

増幅 DNA の抽出はエタノール沈殿により行った。抽出した DNA は DW に溶解し、20U の Bam H (宝酒造株、東京) 及び 20U の Hind (BioLabs、MA) で処理した。1.5 %

アガロースゲルで電気泳動し、予想されるのサイズのバンド部分を切り出して、エッペンチューブに回収した。GenElute AGAROSE SPIN COLUMN (Sigma, MO) を用い、添付のプロトコールに従って DNA を精製した。その後、上述の 6, 7 の方法に従い、RAG 遺伝子のシーケンスを行なった。

【成績】

1. 単一胚中心由来 TCR 遺伝子 $V\beta$ -N-D β -N-J β 領域の塩基配列の決定

免疫 4 日後のニワトリの脾臓から回収した 1 個の胚中心 GC₄-1 に由来する 13 個のクローン、免疫 7 日後のニワトリの脾臓から回収した 1 個の胚中心 GC₇-4 に由来する 19 個のクローン、免疫 14 日後のニワトリの脾臓から回収した 3 個の胚中心 GC₁₄-1、GC₁₄-2、GC₁₄-3 に由来する 39 個、29 個、34 個のクローンについて、TCR 遺伝子 $V\beta$ -N-D β -N-J β 領域の塩基配列を決定した (図 2,3,4,5,6)。クローン名は以下に示す。

GC₄-1 由来クローン : 4d-1,2,3,16,52,53,56,65,73,82,83,84, 89

GC₇-4 由来クローン : 7d4-2,6,10,11,18,23,26,29,30,32, 33,36,37,41,43,45,49,55,57

GC₁₄-1 由来クローン : 14d1-7,9,10,12,17,20,21,22, 24,25,26,28,29,30,31,32,33,34,35,
36,37,39,41,42,43,45,46,47,48,51,57,59,60, 62,63,64,65,67,68

GC₁₄-2 由来クローン : 14d2-2,4,7,8,9,10,11,12,13, 15,16,18,19,20,23,24,30,31,36,37,
38,39,40,41,42,44,46,49,51

GC₁₄-3 由来クローン : 14d3-1,2,3,4,5,6,7,9,10,11,12,13,17,19,20,21,22,24,25,27,29,
30,31,32,33, 35,36,43,44,45,47,49,51,52

2. 単一胚中心由来 $V\beta 1$ 遺伝子のレパートリー解析

免疫 4 日後、7 日後、14 日後の胚中心内 T 細胞の TCR $V\beta 1$ 遺伝子の塩基配列のレパートリー解析を行った。H-B15 ニワトリの $V\beta 1$ 遺伝子配列は、まだ報告されていない。そこで本実験で得られた 134 個のクローン、塚脇の 58 個のクローン¹³⁾、本研究室で継代維持している 2 系統の T 細胞株 MSB1 及び RP1 をアミノ酸 2 個以上の差を基に $V\beta 1.1$ から $V\beta 1.31$ のメンバーの $V\beta 1$ ファミリーに分類した (図 7)。さらにそれぞれのメンバーは 1 アミノ酸の差を基に計 56 のサブメンバーに分類した。その結果、 $V\beta$ メンバーの使用頻度には偏りがあることが示された。クローン 14d1-21 は図 4.2 に示すように CDR1 と CDR2 の間にストップコドンがあったが、Taq 酵素の読み間違いと見なし T を C として解析し $V\beta 1.31a$ に入れた。

3. 単一胚中心由来 TCR 遺伝子 CDR3 領域のレパートリー解析

T 細胞は、TCR 遺伝子の CDR3 領域を介して抗原認識を行う。胚中心内 T 細胞の抗原特異性について検討するため、前期、中期、後期の単一胚中心由来 CDR3 領域の遺

伝子配列の多様性を比較した (図 8)。クローン 14d2-07、37 及び 14d3-22、44、51 は図 5.3、6.5 に示すように、CDR3 領域に # 1、# 2 の配列から一塩基の異なる配列を示すが、これらは Taq 酵素の読み間違いと見なし解析した (図 8.8、8.9)。

単一胚中心 GC₇-4 由来のクローンは、19 クローンが 7 パターンの、GC₄-1 由来のクローンは、13 クローンが 2 パターンの、GC₁₄-1 由来のクローンは、39 クローンが 2 パターンの、GC₁₄-2 由来のクローンは、29 クローンが 2 パターンの、GC₁₄-3 由来のクローンは、34 クローンが 2 パターンのレパートリーを示した。

単一胚中心内 T 細胞の多様性が収束していることが示された。

4. 単一胚中心由来 TCR 遺伝子 CDR3 領域のアミノ酸の長さの解析

単一胚中心由来 TCR 遺伝子 CDR3 領域のアミノ酸の長さを比較した。CDR3 領域に相当するアミノ酸は、Dunon らの報告¹²⁾に基づいて決定した。単一胚中心 GC₇-4 由来 CDR3 領域のアミノ酸の長さの標準偏差は 14.4 ± 1.6 、GC₄-1 では 14.6 ± 1.6 、GC₁₄-1 では 14.2 ± 1.5 、GC₁₄-2 では 13.9 ± 1.4 、GC₁₄-3 では 14.1 ± 1.5 であった (図 9)。7 日後の 4 つの胚中心の平均は 12.9 ± 1.9 であり、14 日後の 3 つの GC の平均は 14.1 ± 1.5 であった。

5. 単一胚中心由来 TCR 遺伝子 CDR3 領域のレパートリーの経時的変化

単一胚中心由来 TCR 遺伝子 CDR3 領域の経時的な変化を比較した。14 日後の胚中心では 4 日後、7 日後よりも CDR3 の N 配列のレパートリーが収束していた (図 10)。これにより胚中心内で T 細胞の抗原特異性の選択が行われている可能性が示された。

6. 胚中心における RAG-1 および RAG-2 遺伝子発現の解析

免疫後、3日、5日、8日目の胚中心をそれぞれ約 50 個集め、RT-PCR により胚中心における RAG-1 および RAG-2 遺伝子発現の解析を行なった。免疫 5 日後の胚中心でのみ、RAG-1 および RAG-2 の mRNA が確認できた (図 11 & 12)。

【考察】

本実験では 4 日後、7 日後、14 日後の単一胚中心で共に、TCR 遺伝子配列のレパートリーが限定されていた。このことは、胚中心内 T 細胞が抗原特異的に選択されていることを示唆する。図 8 に示す様に、異なる $V\beta$ 遺伝子を使いながら同一の CDR3 領域を持つ TCR 遺伝子が観察された。CDR3 領域の多様性は TdT によるランダムな塩基の付加、つまり N 配列によるもので方向性は無いと考えられる。このため、それぞれ別の $V\beta$ を使う複数の T 細胞が同一の CDR3 領域を獲得することよりも、抗原特異的な CDR3 領域を獲得した T 細胞がクローン増大の過程で、 $V\beta$ 領域に変異を起こす可能性が高いと思われる。このことから、胚中心内 T 細胞でレセプター編集が起こっている可能性が示唆されている¹³⁾。

単一胚中心で、免疫 4 日後から 7 日後にかけて CDR3 のレパートリーは拡大している。同様に 7 日後から 14 日後にかけてはレパートリーが収束している。(図 10) 免疫 7 日後よりも 4 日後の胚中心でレパートリーが収束している結果になったが、これは 4 日後の胚中心で塩基配列を決定できたクローン数が 13 と少ないことによりレパートリーが限定されているような結果になった可能性がある。しかし、4 日後の N 配列のレパートリーは 14 日後と同じ #1、#2 の 2 つのパターンを示している (図 8)。さらに 14 日後と同様に、同一の CDR3 を持ちながら異なる $V\beta$ 領域を使うクローンが見られた。このことから、4 日後の胚中心では最初から CDR3 領域が収束し、 $V\beta$ 領域が異なる T 細胞が選択を受けて胚中心内に入ってきた可能性も考えられる。7 日後の 4 つの胚中心では多様性が拡大していることから、形成前期の段階で既に収束した T 細胞が、さらに抗原特異性を得るために再編成を起こす可能性が考えられる。また、胚中心内 B 細胞で RAG の発現が確認されていることから、B 細胞に RAG の発現を誘導する因子の影響を受け T 細胞でも RAG が発現したために再編成が起こり、多様性が拡大した可能性も考えられる。本実験では 4 日後の胚中心は 1 つしか解析していないため、今後免疫 4 日後の胚中心のサンプル数を増やし解析する必要がある。

図 8 に示すように、GC₄-1 及び GC₁₄-1,2,3 の CDR3 領域では #1、#2 の 2 パターンのクローンしか無いことから、この 2 パターンが抗原特異的な塩基配列である可能性が示唆される。今後 DNP-BSA 特異的な TCR の塩基配列を決定するために、DNP-BSA 特異的なモノクローナル T 細胞の TCR 遺伝子の解析が必要と思われる。

塚脇の研究によると、正常脾細胞由来 CDR3 領域よりも、単一胚中心由来 CDR3 領域のアミノ酸の長さが短く収束していたことを報告していた¹³⁾。しかし本実験の結果より、CDR3 のアミノ酸の長さは 4 日後では 14.4 ± 1.6 、7 日後の 4 つの胚中心の平均

¹³⁾では 12.9 ± 1.9 、14 日後の 3 つの胚中心の平均では 14.1 ± 1.5 であった。このことから、CDR3 のアミノ酸の長さには明らかな収束があったとはいえない。

単一胚中心内の塩基配列を決定した結果、塩基配列が完全に一致するクローンも見られた (表 1)。これは PCR による遺伝子増幅の結果、同一遺伝子から増幅されたクローンの可能性も考えられる。しかし、他のクローンとは塩基配列が完全に一致しない独立したクローンが複数存在することや、異なる胚中心で同じ塩基配列を持つクローンも多く存在することから、PCR 遺伝子増幅による同一遺伝子クローンによるものだけではなく、選択の結果として塩基配列が完全に一致したと考えられる。

GC₇-4 では N 配列がはいることで、CDR3 以後でフレームシフトが起こり、C 領域の早い段階でストップコドンが入るクローンが 2 クローン (7d4-26,30) 見つかった。この 2 クローンの CDR3 はそれぞれ個々の N 配列を示していた。これは、対立遺伝子の内、発現されていない方の遺伝子である可能性も考えられる。すなわち、実際に発現される 7 日後の胚中心のレパートリーは 5 となる。7 日後でフレームシフトと終止コドンが見られることは塚脇の成績とも一致する¹³⁾。

GC₁₄-1 ではクローン 14d1-21 で V 領域の CDR1 と CDR2 間の 35 番目のアミノ酸でストップコドンが見つかった。このクローンは他のクローンと同様に収束した CDR3 配列を示していたことから、PCR 増幅反応での Taq 酵素の読み間違いである可能性が考えられ、他のクローンと同様に 104 番目の T を C と見なし解析した。今後、PCR 増幅時に読み間違いの少ないポリメラーゼを用いる必要がある。

図 7 に示す V β ファミリーで、13 番目のアミノ酸が (H) もしくは (D) が多くを占めている。同様に 18、20 番目のアミノ酸では (AWT) もしくは (NWN) が、32,33 番目のアミノ酸では (AT) もしくは (TS) が、39~42 番目のアミノ酸では (RSVE) もしくは (HSMK) が、63,64 番目のアミノ酸では (EK) もしくは (GN) が多くを占めている。このことから V β の 5 ケ所の領域は方向性を持つ変異を起こしており、遺伝子変換 (gene conversion) が起きている可能性が考えられる。

さらに、RAG の mRNA 発現を観察した結果より、胚中心形成の 5 日後でのみ発現が確認された。このことと先の 7 日後におけるレパートリーの拡大は、胚中心形成の 5 - 7 日にかけて胚中心内 T 細胞にレセプター編集が起きたことを示唆するものである。

以上のことを図 13 にまとめた。つまり、4 日目でレパートリーの集束していた胚中心は、RAG 発現が観察された直後の 7 日目になるとフレームシフトを含めて多様性を拡大させ、14 日目で再度レパートリーが集束することがわかった。

さらに、CDR3 の多様性に対する、V β の多様性を観察すると、図 14 に示すように、4 日から、7 日、14 日と、後半に行けば行くほど V β の多様性が拡大することも観

察された。

これらのことは、T細胞は胚中心内で特異性を拡大させるためにレセプター編集、あるいは遺伝子変換などの変異を起こしていることが強く示唆された。

【まとめ】

胚中心は T 細胞依存性抗原刺激後にリンパ節や脾臓内に一過性に構築される組織で、適応免疫応答において重要な B 細胞の親和性成熟や、記憶 B 細胞産生が生じる場である。胚中心は、B 細胞、樹状細胞、及び少数の T 細胞から構成される。胚中心内 T 細胞は、胚中心の形成、維持、B 細胞のレパトリー形成等に関与することが報告されている。最近の研究から、胚中心内 T 細胞の抗原特異的な面での役割についても明らかにされつつある。本研究室においても、胚中心単離の容易なニワトリを用い、免疫 7 日後の単一胚中心内 T 細胞 TCR 遺伝子 $V\beta 1 - D\beta - J\beta 1340$ 領域塩基配列決定し解析した結果、CDR3 のレパトリーは収束していた¹³⁾。

そこで本実験では、胚中心形成の各段階における TCR 遺伝子 $V\beta 1 - D\beta - J\beta 1340$ 領域を PCR 法により増幅、クローニングした後、塩基配列を決定し、レパトリー解析を行った。この実験により下記の結果を得た。

1. CDR3 領域のレパトリーが、免疫 4 日後から 7 日後にかけて拡大し、免疫 7 日後から 14 日後にかけては収束していた。胚中心の発達段階前期、中期、後期で T 細胞が単一胚中心内外を出入りしていることは考え難く、このことから、T 細胞は胚中心内で抗原による刺激を受け、レパトリーに変化が起こることが示された。4 日後の胚中心を形成後期であると見なすと、胚中心内 T 細胞の TCR 遺伝子のレパトリーは経時的に収束していると考えられる。
2. 異なる $V\beta$ 遺伝子を使いながら、同一の CDR3 領域を持つ TCR 遺伝子が見られた。このことより胚中心内でレセプター編成が起きている可能性が示唆された。
3. CDR3 領域が同一で異なる $V\beta 1$ が使用されていたが、その $V\beta 1$ の多様性は、CDR3 の多様性とは無関係に 4 日から 7 日、14 日にかけて増大していった。このことは、胚中心形成の後期でレセプター編集による多様性の増大が観察されたものと考えられる。
4. 胚中心形成の 5 日後でのみ RAG1 と RAG2 の mRNA 発現が観察された。このことは、胚中心形成のこの時期でのみ、レセプター編集が起こっていることを示唆している。

【参考文献】

1. MacLennan, I. C., Y. L. Liu, and N. R. Ling. 1988. B cell proliferation in follicles, germinal centre formation and the site of neoplastic transformation in Burkitt's lymphoma. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 141:138-48.
2. Liu, Y. J., G. D. Johnson, J. Gordon, and C. M. MacLennan. 1992. Germinal centres in T-cell-dependent antibody responses. *Immunology Today* 13:17-21.
3. Jacob, J., G. Kelsoe, K. Raiewsky, and U. Weiss. 1991. Intracloal generation of antibody mutants in germinal centers. *Nature* 354:389-92.
4. MacLennan, I. C., Y. J. Liu, and G. D. Johnson. 1992. Maturation and dispersal of B cell clones during T cell-dependent antibody responses. *Immunol. Rev.* 126:143-61.
5. Szakal, A. K., M. H. Kosco, and J. G. Tew. 1989. Microanatomy of lymphoid tissue during humoral immune responses: Structure Function Relationships. *Ann. Rev. Immunol.* 7:91-109.
6. Yang, X., J. Stedra, and J. Cerny. 1996. Relative contribution of T and B cells to hypermutation and selection of the antibody repertoire in germinal centers of aged mice. *J. Exp. Med.* 183:959-70.
7. Arpin C, Banchereau J, Liu YJ. 1997. Memory B cells are biased towards terminal differentiation: a strategy that may prevent repertoire freezing. *J Exp Med* Sep 15;186(6):931-40
8. Tonegawa, S. 1983. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 14;302(5909):575-81
9. Biao zhen, Wei Xue, Garnett Kelsoe. 1994. Locus-specific somatic hypermutation in germinal center T cells. *Nature*. 372.8.556-559
10. Axel Robers, Martin Leo Hansmann, Klaus Rajewsky, and Ralf Kuppers. 2000 . Single-Cell PCR Analysis of T Helper Cells in Human Lymph Node Germinal Center. *Ame. J. Pathology*, Vol. 156, No. 3, 1067-1071
11. Cooper, M. D., C. L. Chen, R. P. Bucy, and C. B. Thompson. 1991. Avian T cell ontogeny. *Adv. Immunol.* 50:87-117.
12. Dunon, D., J. Schwager, J. P. Dangy, M. D. Cooper, and B. A. Imhof. 1994. T cell migration during development: homing is not related to TcR V beta 1 repertoire selection. *EMBO J.* 13:808-15.

13. 塚脇優子. 2000. 胚中心内 T 細胞のレパトリー解析. 広島大学大学院生物圏科学研究科修士論文
14. Tjoelker, L. W., L. M. Carlson, K. Lee, J. Lahti, W. T. McCormack, J. M. Leiden, C. L. Chen, M. D. Cooper, and C. B. Thompson. 1990. Evolutionary conservation of antigen recognition: the chicken T-cell receptor beta chain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87:7856-60.
15. Arakawa, H., K. Kuma, M. Yasuda, S. Furusawa, S. Ekino, and H. Yamagishi. 1998. Oligoclonal Selection on B cells after polyclonal gene conversion in chicken germinal centers. *J. Immunol.* in press.
16. Zheng, B., S. Han, Q. Zhu, R. Goldsby, and G. Kelsoe. 1996. Alternative pathways for the selection of antigen-specific peripheral T cells. *Nature* 384:263-6.
17. L.M. Carlson, M. Oettinger, D.G. Schatz, E.L. Masteller, E.A. Hurley, W.T. McCormack, D. Baltimore, C.B. Thompson. Selective expression of RAG-2 in chicken B cells undergoing immunoglobulin gene conversion. *Cell* 64:201-208, 1991.

<chicken genome>

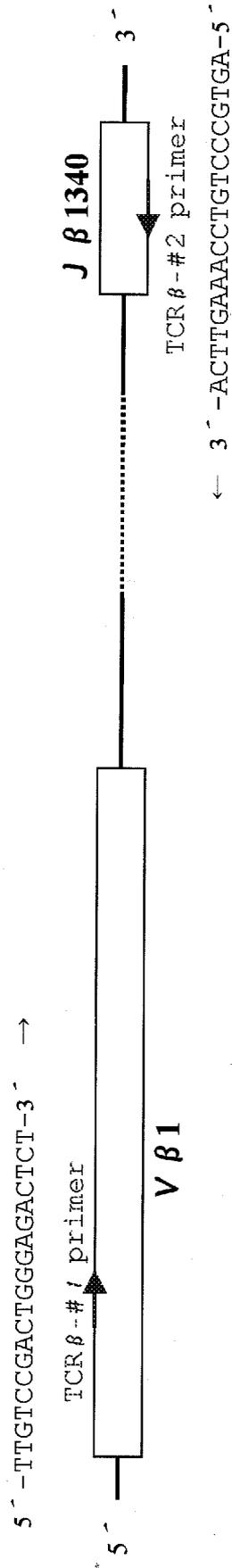


図 1. TCR V β 1¹⁴⁾ 遺伝子, TCR J β 1340¹⁴⁾ 遺伝子上上に設計したプライマーの位置

accession number : m37798, m37799

name of
clone

4d-01	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCAGACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
4d-02	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCAGACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
4d-03	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
4d-16	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
4d-52	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
4d-53	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
4d-56	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTTCACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
4d-65	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCAGACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
4d-73	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
4d-82	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
4d-83	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
4d-84	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCAGACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
4d-89	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTTCAGACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
4d-01	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCGTT	120
4d-02	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCGTT	120
4d-03	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
4d-16	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
4d-52	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
4d-53	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
4d-56	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
4d-65	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCGTT	120
4d-73	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
4d-82	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
4d-83	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
4d-84	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCGTT	120
4d-89	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCGTT	120
4d-01	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-02	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-03	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-16	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-52	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-53	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-56	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-65	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-73	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-82	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-83	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-84	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
4d-89	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180

図2-1.単一胚中心GC₄-1由来クローン塩基配列

name of
clone

4d-01	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-02	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-03	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-16	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-52	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-53	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-56	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-65	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-73	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-82	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-83	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-84	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
4d-89	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240

4d-01	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCCTGAACTTTGGACAGG	300
4d-02	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
4d-03	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
4d-16	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
4d-52	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
4d-53	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCCTGAACTTTGGACAGG	300
4d-56	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
4d-65	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCCTGAACTTTGGACAGG	300
4d-73	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
4d-82	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCCTGAACTTTGGACAGG	300
4d-83	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCCTGAACTTTGGACAGG	300
4d-84	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCCTGAACTTTGGACAGG	300
4d-89	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCCTGAACTTTGGACAGG	300

4d-01	301	GCACT	305
4d-02	301	TTGGACAGGGCACT	314
4d-03	301	TTGGACAGGGCACT	314
4d-16	301	TTGGACAGGGCACT	314
4d-52	301	TTGGACAGGGCACT	314
4d-53	301	GCACT	305
4d-56	301	TTGGACAGGGCACT	314
4d-65	301	GCACT	305
4d-73	301	TTGGACAGGGCACT	314
4d-82	301	GCACT	305
4d-83	301	GCACT	305
4d-84	301	GCACT	305
4d-89	301	GCACT	305

図2-2.単一胚中心GC₄-1由来クローン塩基配列

□ はN配列

name of
clone

7d4-02	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGATTCTGGA	60
7d4-06	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGATTCTGGA	60
7d4-10	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGATTCTGGA	60
7d4-11	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGATTCTGGA	60
7d4-18	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGATTCTGGA	60
7d4-23	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
7d4-26	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGTAAATCCAGA	60
7d4-29	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
7d4-30	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
7d4-32	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGATTCTGGA	60
7d4-33	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
7d4-36	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGATTCTGGA	60
7d4-37	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
7d4-41	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGATTCTGGA	60
7d4-43	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
7d4-45	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
7d4-49	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
7d4-55	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
7d4-57	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACACAAAGAGAGTGGATTCCGGA	60
7d4-02	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-06	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-10	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-11	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-18	61	CCGTGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-23	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-26	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-29	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-30	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-32	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-33	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-36	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-37	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-41	61	CCGTGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-43	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-45	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-49	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-55	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
7d4-57	61	CCATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120

図3-1.単一胚中心GC7-4由来クローン塩基配列

name of
clone

7d4-02	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAGTGCAGTG	180
7d4-06	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-10	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-11	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-18	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-23	121	CATTGGTAGGTAACAAAGCAGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-26	121	CAGTGAAGGTAACAAAGCAGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCACTTCCAGAGCAGTG	180
7d4-29	121	CAGTGAAGGTAACAAAGCAGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-30	121	CAGTGAAGGTAACAAAGCAGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-32	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-33	121	CAGTGAAGGTAACAAAGCAGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-36	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-37	121	CATTGGTAGGTAACAAAGCAGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-41	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-43	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-45	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-49	121	CAGTGAAGGTAACAAAGCAGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-55	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-57	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT	GAGGAAGAATTCAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
7d4-02	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-06	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-10	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-11	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-18	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-23	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-26	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-29	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-30	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-32	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-33	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-36	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-37	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-41	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-43	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-45	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-49	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-55	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240
7d4-57	181	GGACTAAGGGGAACCTCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCTACTCAATGACTCAGGCA		240

図3-2.単一胚中心GC7-4由来クローン塩基配列

name of
clone

7d4-02	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGTTTCGAGCCGGGACACAACCACACCACTGAACTTTGGAC	300
7d4-06	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
7d4-10	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
7d4-11	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
7d4-18	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGTTTCGAGCCGGGACACAACCACACCACTGAACTTTGGAC	300
7d4-23	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGTTTCGAGCCGGGACACAACCACACCACTGAACTTTGGAC	300
7d4-26	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGATATCGGGACAGGGGGATCGCACACCACTGAACTTTGGA	300
7d4-29	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGTTTCGAGCCGGGACACAACCACACCACTGAACTTTGGAC	300
7d4-30	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGGGTCGAGGGGGGATCCCGCTAACACACCACTGAACTTT	300
7d4-32	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
7d4-33	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGTGGTCGGTAAGGAGGGGGATAGGACACTGAACTTTGGAC	300
7d4-36	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
7d4-37	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGTTTCGAGCCGGGACACAACCACACCACTGAACTTTGGAC	300
7d4-41	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGTTTCGAGCCGGGACACAACCACACCACTGAACTTTGGAC	300
7d4-43	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
7d4-45	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGCGACGGGACAGGGTCTCACTGAACTTTGGACAGGGCACT	296
7d4-49	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGTCTCGGGACAGGGGGATATTTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
7d4-55	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
7d4-57	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
7d4-02	301	AGGGCACT	308
7d4-06	301	TTGGACAGGGCACT	314
7d4-10	301	TTGGACAGGGCACT	314
7d4-11	301	TTGGACAGGGCACT	314
7d4-18	301	AGGGCACT	308
7d4-23	301	AGGGCACT	308
7d4-26	301	CAGGGCACT	309
7d4-29	301	AGGGCACT	308
7d4-30	301	GGACAGGGCACT	312
7d4-32	301	TTGGACAGGGCACT	314
7d4-33	301	AGGGCACT	308
7d4-36	301	TTGGACAGGGCACT	314
7d4-37	301	AGGGCACT	308
7d4-41	301	AGGGCACT	308
7d4-43	301	TTGGACAGGGCACT	314
7d4-45	296		296
7d4-49	301	GCACT	305
7d4-55	301	TTGGACAGGGCACT	314
7d4-57	301	TTGGACAGGGCACT	314

図3-3.単一胚中心GC7-4由来クローン塩基配列

□ はN配列

name of
clone

14d1-07	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-09	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-10	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-12	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-17	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-20	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-21	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-22	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-24	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d1-25	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-26	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d1-28	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d1-29	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-30	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-31	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-32	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-33	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-34	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-35	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-36	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTTTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d1-37	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-39	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-41	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-42	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-43	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-45	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-46	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-47	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-48	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d1-51	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d1-57	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-59	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-60	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-62	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-63	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-64	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAGCTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-65	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-67	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d1-68	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTTACACAAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60

図4-1.単一胚中心GC₁₄-1由来クローン塩基配列

name of
clone

14d1-07	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-09	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-10	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-12	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-17	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-20	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-21	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGTAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-22	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-24	61 CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-25	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-26	61 CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-28	61 CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-29	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-30	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-31	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-32	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-33	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-34	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-35	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-36	61 CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-37	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-39	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-41	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-42	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-43	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-45	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-46	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-47	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-48	61 CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-51	61 CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-57	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-59	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-60	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-62	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-63	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-64	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-65	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-67	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d1-68	61 ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120

図4-2. 単一胚中心GC₁₄₋₁由来クローン塩基配列

※14d1-21のTは読み間違いと見なし、解析では他のクローンと同様にCとした。

name of
clone

14d1-07	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-09	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-10	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-12	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-17	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-20	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-21	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-22	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-24	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-25	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-26	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-28	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-29	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-30	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-31	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-32	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-33	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-34	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-35	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-36	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTA	180
14d1-37	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-39	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-41	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-42	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-43	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-45	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-46	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-47	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-48	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-51	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGCTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-57	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-59	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-60	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-62	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-63	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-64	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-65	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-67	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d1-68	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTT GAGGAAGAATT CAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180

図4-3.単一胚中心GC₁₄-1由来クローン塩基配列

name of
clone

14d1-07	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-09	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-10	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-12	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-17	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-20	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATTACTCAGGCA	240
14d1-21	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-22	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-24	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-25	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-26	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-28	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-29	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-30	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-31	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-32	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-33	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-34	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-35	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-36	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-37	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-39	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-41	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-42	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-43	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-45	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-46	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-47	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-48	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-51	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-57	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-59	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-60	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-62	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-63	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-64	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAGTGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCG	240
14d1-65	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-67	181	GGACTAAGGGGGACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d1-68	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240

図4-4.単一胚中心GC₁₄-1由来クローン塩基配列

name of
clone

14d1-07	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-09	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-10	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-12	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-17	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-20	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-21	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-22	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-24	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-25	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-26	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-28	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-29	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-30	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-31	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-32	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-33	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-34	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-35	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-36	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-37	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-39	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-41	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-42	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-43	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-45	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-46	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-47	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-48	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-51	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-57	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-59	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-60	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-62	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-63	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-64	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d1-65	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-67	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d1-68	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300

図4-5.単一胚中心GC14-1由来クローン塩基配列

□ はN配列

※14d1-68のGは読み間違いと見なし、解析では他のクローンと同様にAとした。

name of
clone

14d1-07	301	GCACT	305
14d1-09	301	GCACT	305
14d1-10	301	GCACT	305
14d1-12	301	GCACT	305
14d1-17	301	GCACT	305
14d1-20	301	GCACT	305
14d1-21	301	GCACT	305
14d1-22	301	GCACT	305
14d1-24	301	GCACT	305
14d1-25	301	GCACT	305
14d1-26	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-28	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-29	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-30	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-31	301	GCACT	305
14d1-32	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-33	301	GCACT	305
14d1-34	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-35	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-36	301	GCACT	305
14d1-37	301	GCACT	305
14d1-39	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-41	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-42	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-43	301	GCACT	305
14d1-45	301	GCACT	305
14d1-46	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-47	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-48	301	GCACT	305
14d1-51	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-57	301	GCACT	305
14d1-59	301	GCACT	305
14d1-60	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-62	301	GCACT	305
14d1-63	301	GCACT	305
14d1-64	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d1-65	301	GCACT	305
14d1-67	301	GCACT	305
14d1-68	301	TTGGACAGGGCACT	314

図4-6. 単一胚中心GC₁₄-1由来クローン塩基配列

name of
clone

14d2-02	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-04	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-07	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-08	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-09	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d2-10	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-11	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-12	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d2-13	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-15	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-16	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-18	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-19	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-20	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d2-23	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d2-24	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-30	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-31	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d2-36	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d2-37	241	CTTATTTCTGCGCTGAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-38	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-39	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d2-40	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-41	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d2-42	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCCGACAGGGGTCTGCGTAACACACCACTGAACT	300
14d2-44	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-46	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-49	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-51	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGATTATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d2-02	301	GCACT	305
14d2-04	301	GCACT	305
14d2-07	301	GCACT	305
14d2-08	301	GCACT	305
14d2-09	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d2-10	301	GCACT	305
14d2-11	301	GCACT	305
14d2-12	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d2-13	301	GCACT	305
14d2-15	301	GCACT	305
14d2-16	301	GCACT	305
14d2-18	301	GCACT	305
14d2-19	301	GCACT	305
14d2-20	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d2-23	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d2-24	301	GCACT	305
14d2-30	301	GCACT	305
14d2-31	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d2-36	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d2-37	301	GCACT	305
14d2-38	301	GCACT	305
14d2-39	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d2-40	301	GCACT	305
14d2-41	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d2-42	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d2-44	301	GCACT	305
14d2-46	301	GCACT	305
14d2-49	301	GCACT	305
14d2-51	301	GCACT	305

図5-3.単一胚中心GC₁₄₋₂由来クローン塩基配列 はN配列

※14d2-07のTは読み間違いと見なし、解析では他のクローンと同様にCとした。

14d2-37のGは読み間違いと見なし、解析では他のクローンと同様にAとした。

name of
clone

14d3-01	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CAGACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d3-02	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-03	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-04	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-05	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-06	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-07	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-09	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-10	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-11	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-12	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-13	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CAGACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d3-17	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-19	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CAGACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d3-20	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-21	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-22	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-24	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-25	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-27	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-29	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-30	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CAGACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d3-31	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CAGACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d3-32	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-33	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CAGACAAAGAGAGTGGAGCCTGGA	60
14d3-35	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-36	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-43	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-44	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-45	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-47	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-49	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACCCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-51	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60
14d3-52	1	TTGTCCGACTGGGAGACTCTCTGACTCTGAACTGTT CACACAAAGAGAGTGGAAACTGGA	60

図6-1. 単一胚中心GC₁₄-3由来クローン塩基配列

name of
clone

14d3-01	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGCTCGTT	120
14d3-02	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTAATT	120
14d3-03	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-04	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-05	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-06	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-07	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-09	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-10	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-11	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-12	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-13	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-17	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-19	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGCTCGTT	120
14d3-20	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-21	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-22	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-24	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-25	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-27	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-29	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-30	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-31	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-32	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-33	61	CCATGCTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGCTCGTT	120
14d3-35	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-36	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-43	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-44	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACGCCACTTTGCAGCTGATTGCTCGTT	120
14d3-45	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-47	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-49	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-51	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120
14d3-52	61	ACATGTTCTGGTACAAGCTGCCAGTGGGGAAGAACACCTCTTTGCAGCTGATTGTTTCATT	120

図6-2.単一胚中心GC₁₄₋₃由来クローン塩基配列

name of
clone

14d3-01	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-02	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-03	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-04	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-05	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-06	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-07	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-09	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-10	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-11	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-12	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-13	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-17	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-19	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-20	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-21	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-22	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-24	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-25	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-27	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-29	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-30	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-31	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-32	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-33	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-35	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-36	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-43	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-44	121	CAGTGAAGGTAGCAAAGCAGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-45	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-47	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-49	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-51	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180
14d3-52	121	CAATGAAAGGTAGCAAAGCTGAGTTTGGAGGAAGAATTCAAAAGCCGCTTCCAAAGCAGTG	180

図6-3. 単一胚中心GC₁₄-3由来クローン塩基配列

name of
clone

14d3-01	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-02	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-03	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-04	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-05	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-06	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-07	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-09	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCGCGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-10	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-11	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-12	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-13	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-17	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-19	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-20	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-21	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-22	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-24	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-25	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-27	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-29	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-30	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-31	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-32	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-33	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-35	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-36	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-43	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-44	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-45	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-47	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-49	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-51	181	GGACTAAGGGGAACTCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240
14d3-52	181	GGACTAAGGAGAAATCCTTATCAATGGCGATAGATCACGTCCTACTCAATGACTCAGGCA	240

図6-4.単一胚中心GC₁₄₋₃由来クローン塩基配列

name of
clone

14d3-01	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-02	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-03	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-04	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-05	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-06	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-07	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-09	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-10	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-11	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-12	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-13	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-17	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-19	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-20	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-21	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-22	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGTGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-24	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-25	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-27	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-29	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-30	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-31	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-32	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-33	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-35	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-36	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-43	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-44	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCAGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-45	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-47	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-49	241	CTTATTTCTGCGCTAAGCAAGACCACGCC	GACAGGGGTCTGCGTAAACACACCACTGAACT	300
14d3-51	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCAGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300
14d3-52	241	CTTATTTCTGCGCTAAGAATCTCGGGACAGGGGGAT	TATTACCACTGAACTTTGGACAGG	300

図6-5. 単一胚中心GC₁₄-3由来クローン塩基配列

□ はN配列

- ※14d3-22のTは読み間違いと見なし、解析では他のクローンと同様にGとした。
- 14d3-44のAは読み間違いと見なし、解析では他のクローンと同様にGとした。
- 14d3-51のAは読み間違いと見なし、解析では他のクローンと同様にGとした。

name of
clone

14d3-01	301	GCACT	305
14d3-02	301	GCACT	305
14d3-03	301	GCACT	305
14d3-04	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-05	301	GCACT	305
14d3-06	301	GCACT	305
14d3-07	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-09	301	GCACT	305
14d3-10	301	GCACT	305
14d3-11	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-12	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-13	301	GCACT	305
14d3-17	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-19	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-20	301	GCACT	305
14d3-21	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-22	301	GCACT	305
14d3-24	301	GCACT	305
14d3-25	301	GCACT	305
14d3-27	301	GCACT	305
14d3-29	301	GCACT	305
14d3-30	301	GCACT	305
14d3-31	301	GCACT	305
14d3-32	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-33	301	GCACT	305
14d3-35	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-36	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-43	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-44	301	GCACT	305
14d3-45	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-47	301	GCACT	305
14d3-49	301	TTGGACAGGGCACT	314
14d3-51	301	GCACT	305
14d3-52	301	GCACT	305

図6-6. 単一胚中心GC₁₄₋₃由来クローン塩基配列

	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>	Name of clone	number of clone
Vβ1.1b	VRIGDSLTLNCSHKESGAWTMFWYKLPVGNATLQLIVRSVEGSKAEFEFEFKSRFQSSGTKEKSLMAIDHVLNDSGTYFCA		7d3-15,20		5
Vβ1.1a	-----D-----		7d2-5,8,10,7d3-17,25,26,29,S21		8
Vβ1.2	-----D-----	-----G-----P-----	7d3-9		1
Vβ1.4a	-----N-----L-----	-----	7d4-29		1
Vβ1.4b	-----N-----L-----	-----N-----	7d3-14		1
Vβ1.5	-----L-----	-----N-----	7d3-19		1
Vβ1.6a	-----D-----L-----	-----	7d2-11,7d3-5,7,10,13		5
Vβ1.6b	-----D-----	-----N-----	7d1-12,25,14,7d3-23,S2		13
Vβ1.6c	-----D-----L-----	-----A-----	4d-1,2,65,84,7d4-49,14d1-24,14d3-13,31		1
Vβ1.6d	-----D-----L-----	-----S-----	7d3-28		5
Vβ1.8a	-----D-----	-----GN-----	4d-89, 14d1-48,14d3-01,19,33		1
Vβ1.8b	-----D-----L-----	-----GN-----	14d3-30		1
Vβ1.9	-----D-----L-----	-----TS-----	14d1-36		1
Vβ1.11	-----L-----	-----A-MK-----	7d4-30		1
Vβ1.12a	-----D-----L-----	-----H-MK-----	7d4-33		2
Vβ1.12b	-----D-----L-----	-----MK-----L-----	14d1-26,28		1
Vβ1.14	-----VIP-----	-----GN-----	14d1-51		1
Vβ1.15	-----VIQ-----	-----N-----	7d1-4,32,35,7d2-3,S8		5
Vβ1.16	-----VIQ-----	-----H-----V-----	7d2-4,9,7d3-11,21,S6,S12,MSB1		7
Vβ1.17	-----D-----VIQ-----	-----G-----VV-----	7d1-27		1
			7d2-2,6		2
			7d4-26		1
			RP1		1

図 7.1 Vβ1ファミリーのメンバー¹³⁾ (CDR の位置は参考文献3より引用)

	<u>CDR1</u>	<u>CDR2</u>	<u>CDR3</u>	Name of clone	number of clone
Vβ1.18a	VRLGDSITLNGSHKESGAWIMFWYKLPVGNKATLQILIVRVEGSKAEFEFEFKSRFQSSGTKEKSLSMATDHLVLLNDSGTYFCA	T-----H-MK-----	7d4-10,11,32,36		4
Vβ1.18b	F-V-----H-MK-----	T-----H-MK-----	7d4-18,41		2
Vβ1.18c	F-----H-MK-----	T-----C-----GN-----	7d4-2		1
Vβ1.18d	D-----H-MK-----	T-----H-MK-----	7d4-6		1
Vβ1.18e	FR-----H-MK-----	T-----H-MK-----	7d4-57		1
Vβ1.19	-----LV-N-----	-----LV-N-----	7d3-22		1
Vβ1.20	-----N-N-----	-----TS-----LV-N-----	7d1-23,7d4-23		2
Vβ1.21	-----N-N-----	-----TS-----LV-N-----G-----	7d4-37		1
Vβ1.22a	-----N-N-----	-----TS-----LV-N-----GN-----	7d1-1,6,19,31,34,36,7d2-1,7d3-3,30,S26,S5,S10		12
Vβ1.22b	-----N-N-----	-----T-----LV-N-----GN-----	7d3-8,S7,S9		3
Vβ1.22c	-----P-----N-N-----	-----TS-----LV-N-----GN-----	7d1-22		1
			7d1-28		1
Vβ1.24	-----N-N-----	-----TS-----A-----	14d3-44		1
Vβ1.25	-----N-N-----	-----A-----GN-----	14d2-7		1
			14d1-46		1
			14d2-19		1
Vβ1.27a	-----N-N-----	-----TS-----H-MK-----	4d-83,14d1-10,12,25,30,31,33,37,63		16
			14d2-10,46,49,14d3-10,24,27,52,		
Vβ1.27b	-----N-N-----	-----TS-----N-MK-----	14d3-2		1
Vβ1.27c	-----N-N-----	-----TS-----MK-----	14d2-11		1
Vβ1.27d	-----N-N-----	-----TS-----H-MK-----Y-----	14d1-20		1
Vβ1.27e	-----N-N-----	-----TS-----H-MK-----G-----	14d1-62		1
Vβ1.28	-----N-N-----	-----T-----H-MK-----G-----GN-----	7d4-43		1
Vβ1.29	-----N-N-----	-----STF-----H-MK-----GN-----	14d2-16		1
			14d1-64		1

図 7.2 Vβ1 ファミリーのメンバー¹³⁾ (CDR の位置は参考文献 3 より引用)

CDR1	CDR2	CDR3	Name of clone	number of clone
Vβ1.1b	VRLGDSLTLCNSHKEGAWTFWYKLPVGNVATLQLIVRSVEGSKAEFEFEFKSRFQSSGTEKSKLSMAIDHVLNDSGTFCFA			
Vβ1.31a	-----N-N-----TS-----H-MK-----GN-----		4d-3,16,52,53,56,73,82,7d4-55, 14d1-7,9,17,21*,22,29,32,34,35,39,42,43,45, 47,57,59,60,65,68 14d2-4,8,9,12,13,15,18,20,23,30,31,36,37, 38,39,40,41,42,44,51, 14d3-3,4,5,6,7,11,12,20,21,22,25,29, 32,35,36,43,45,47,49,	66
Vβ1.31b	-----N-N-----TS-----H-MK-----GD-----	14d1-67		1
Vβ1.31c	-----N-N-----TS-----H-MK-----GN-----R-----	14d3-9		1
Vβ1.31d	-----N-N-----W-----TS-----H-MK-----GN-----	14d3-51		1
Vβ1.31e	-----N-N-----TS-R-----H-MK-----GN-----	14d3-17		1
Vβ1.31f	-----E-----N-N-----TS-----H-MK-----GN-----	14d2-2		1
Vβ1.31g	-----N-N-----TS-----H-MK-----S-----GN-----	14d1-41		1

図 7.3 Vβ1 ファミリーのメンバー¹³⁾ (CDR の位置は参考文献 3 より引用)

※14d1-21 は CDR1 と CDR2 の間にストリップコドンがあったが、Taq 酵素の読み間違いと見なして解析し Vβ1.30a とした

正常脾細胞由来クローン¹⁾: S2,S5,S6,S7,S9,S10,S12,S21,S26

GC₁-1 由来クローン: 4d-1,2,3,16,52,53,56,65,73,82,83,84,89

GC₁-1 由来クローン²⁾: 7d1-1,4,6,12,14,19,22,23,25,27,28,31,32,34,35,36

GC₁-2 由来クローン¹⁾: 7d2-,12,3,4,5,6,8,9,10,11

GC₁-3 由来クローン¹⁾: 7d3-3,5,6,7,8,9,10,11,13,14,15,17,19,20,21,22,23,25,26,28,29,30

GC₁-4 由来クローン: 7d4-2,6,10,11,18,23,26,29,30,32,33,36,37,41,43,45,49,55,57

GC_{1r}-1 由来クローン: 14d1-7,9,10,12,17,20,21,22,24,25,26,28,29,30,31,32, 14,33,14d1-34,14d1-35,36,37,39,41,42,43,45,46,47,48,51, 57,59,60,62,63,64,65,67,68

GC_{1r}-2 由来クローン: 14d2-2,4,7,8,9,10,11,12,13,15,16,18,19,20,23,24,30,31,36,37,38,39,40,41,42,44,46,49,51

GC_{1r}-3 由来クローン: 14d3-1,2,3,4,5,6,7,9,10,11,12,13,17,19,20,21,22,24,25,27,29,30,31,32,33,35,36,43,44,45,47,49,51,52

本研究で継代維持している 2 系統の T 細胞株: MSB1,RP1

CDR3

clones	V β member	V β	N	D β	N	J β 1340
<germ line>		GCTAAGCAAGATA		GGGACAGGGGGGATC		CAACACACCACTGAAC
#8 S2	V β 1.6a	GCTAAG	ATCATATACCCC	GGGACAG	ATCAACTCCCGET	ACTGAAC
#9 S5	V β 1.22a	GCTAAGCAA	CGTCGC	GGGACAGGGGGAT	ATACGG	ACACACCACTGAAC
#10 S6	V β 1.13b	GCTAAG	GGAGTAATGGTAAGG			ACACACCACTGAAC
#11 S7	V β 1.22b	GC	CAAGCTGAA	GGGATC	GGACCT	CACACCACTGAAC
#12 S8	V β 1.13a	GCT	TCCGGCGGTC	CAGGG		ACACACCACTGAAC
#13 S9	V β 1.22b	GCTAA	TGGA	AGGGGG	GTAGA	AAACACACCACTGAAC
#14 S10	V β 1.22a	GCTAAG	AATTC	GGGACAGGGGGATC	GGCG	ACACACCACTGAAC
#15 S12	V β 1.13b	GCTAAGC	GTAGTACGTC	CAGGGGATC	GAGCT	AAACACACCACTGAAC
#16 S21	V β 1.1a	GCTAAGCAAGA	TTACGTCCGGGGTTCGA	ACAG	C	ACACACCACTGAAC
#17 S26	V β 1.22a	GCTAAGCAAGA	TATCC	GGACAGGGGGAT	G	ACACACCACTGAAC

図 8.1 正常脾細胞由来 CDR3 領域の多様性

※参考文献 13 より引用

CDR3

clones	V β member	V β	N	D β	N	J β 1340
<germ line>		GCTAAGCAAGATA		GGGACAGGGGGATC		CAAACACACCCTGAAC
#1 4d-53, 82,	V β 1.31a					
-83,	V β 1.27a	GCTAAG	AATCTC	GGGACAGGGGGAT	TATT	ACCACTGAAC
-89,	V β 1.6c					
-1, 65, 84	V β 1.6a					
#2 4d-3, 16, 52, 56, 73,	V β 1.31a	GCTAAGCAAGA	CCACGCC	GACAGGGG	TCTGCGT	AACACACCCTGAAC
-2,	V β 1.6a					

図 8.2 第一胚中心 GC₄-1 由来 CDR3 領域の多様性

clones	V β member	CDR3				
		V β	N	D β	N	J β 1340
<germ line>		GCTAAGCAAGATA		GGGACAGGGGGATC		CAAAACACACCCTGAAC
#18 7d1-4, 35	V β 1.13a	GCTAAGCAAGAT	GG	CAGGGGGATC		AAACACACCCTGAAC
-14	V β 1.6a					
#19 7d1-12	V β 1.6a	GCTAAGCAAGA	TGTC	GGGGGATC		ACCACTGAAC
-32	V β 1.13a					
#20 7d1-25	V β 1.6a	GCTAAG	ATATAAGGC	GGGACAGGGGGATC		AAACACACCCTGAAC
-27	V β 1.14					
#21 7d1-1, 6, 19, 31, 34, 36	V β 1.22a					
-22	V β 1.22c	GCTAAG	AGGGGATATC	GGG		ACCACTGAAC
-23	V β 1.20	OR (GCTAAG	A	GGGGAT	ATCGGG	ACCACTGAAC)
-28	V β 1.23a					

図 8.3 単一胚中心 GC_H-1 由来 CDR3 領域の多様性

※参考文献 13 より引用

clones	V β member	CDR3				
		V β	N	D β	J β 1340	
<germ line>		GCTAAGCAAGATA		GGGACAGGGGGATC	CAAAACACACCACTGAAC	
#22 7d2-4,9	V β 1.13b	GCTAAGC	GTAGTACGTC	CAGGGGGATC	GAGCT	AAACACACCACTGAAC
-3	V β 1.13a					
#23 7d2-5,10	V β 1.1a	GCTAAGC	GAGAGGGGA	ACAGG		CCACTGAAC
#24 7d2-1	V β 1.22a	GCTAAGCAAGA	TATT	GACAGGGGA	G	CACACCACTGAAC
#25 7d2-2	V β 1.15	GCTAAGC	GATAC	GGGACAGGGGGATC		ACTGAAC
#26 7d2-6	V β 1.15	GCTAAGCAA	CCATT	ACAGG		CACACCACTGAAC
#27 7d2-8	V β 1.1a	GCTAAGC	GCCGAGTATAC	GGACAGG	CTCGGATG	CTGAAC
#28 7d2-11	V β 1.5	GCTAA	TGGAAG	GGGGAT	GA	AAACACACCACTGAAC

図 8.4 単一胚中心 GC₇-2 由来 CDR3 領域の多様性

※参考文献 13 より引用

CDR3

clones <germ line>	V β member	CDR3			
		V β	N	D β	J β 1340
#29 7d3-11,21	V β 1.13b	GCTAAGCAAGATA		GGGACAGGGGGATC	CAAACACACCACTGAAC
-17	V β 1.1a	GCTAAG		ACAG	CATAATC AACACACCACTGAAC
#30 7d3-10,13	V β 1.5	GCTAAGCAAGATA		GGGG	AAACACACCACTGAAC
-29	V β 1.1a	GCTAAGCAAGATA		GGGG	AAACACACCACTGAAC
#31 7d3-5,7	V β 1.5	GCTAAGCAAGATA		GGGG	AAACACACCACTGAAC
-9	V β 1.2	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
-15	V β 1.1b	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
#32 7d3-26	V β 1.1a	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
-28	V β 1.6b	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
#33 7d3-22	V β 1.19	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
-25	V β 1.1a	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
#34 7d3-19	V β 1.4b	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
-30	V β 1.22a	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
#35 7d3-3	V β 1.22a	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
#36 7d3-6	V β 1.9	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
#37 7d3-8	V β 1.22b	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
#38 7d3-14	V β 1.4a	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
#39 7d3-20	V β 1.1b	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC
#40 7d3-23	V β 1.6a	GCTAAGCAAGA	TFTC	GGG	AACACACCACTGAAC

図 8.5 単一胚中心 GC_T-3 由来 CDR3 領域の多様性 ※参考文献 13 より引用

CDR3

clones	V β member	V β	N	D β	N	J β 1340
<germ line>		GCTAAGCAAAGATA		GGGACAGGGGGATC		CAAACACACCCTGAAC
#1 7d4-49	V β 1.6a	GCTAAG	AAFTCTC	GGGACAGGGGGAT	TATT	ACCACTGAAC
#2 7d4-06, -10, 11, 32, 36, -43, -55, -57	V β 1.18d V β 1.18a V β 1.28 V β 1.31a V β 1.18e	GCTAAGCAAGA	CCACGCC	GACAGGGG	TCTGCGT	AACACACCCTGAAC
#3 7d4-2, -37, -18, 41, -23, -29	V β 1.18c V β 1.21 V β 1.18b V β 1.20 V β 1.3	GCTAAGCAAG	TFTCGAGCC	GGGACA	CAAC	CACACCCTGAAC
#4 7d4-33	V β 1.8b	GCTAAGCAAG	TGGTCGGTAAGG	AGGGGGAT	AGGA	CACTGAAC
#5 7d4-45	V β 1.10	GCTAA	CGAC	GGGACAGGG	TCCT	CACTGAAC
#6 7d4-26*	V β 1.16	GCTAAGCAAAGATA	TC	GGGACAGGGGGATC	G	CACACCCTGAAC
#7 7d4-30*	V β 1.8a	GCTAAGCAAG	GGTCGAG	GGGGGATC	CCGCT	AAACACACCCTGAAC

図 8.6 単一胚中心 GC₇₋₄ 由来 CDR3 領域の多様性

CDR3

clones	V β member	V β	N	D β	N	J β 1340
<germ line>		GCTAAGCAAGATA		GGACAGGGGGATC		CAAACACACCACTGAAC
#1 14d1-7, 9, 17, 21, 22,	} Vβ 1.31a Vβ 1.27a Vβ 1.31b Vβ 1.27e Vβ 1.27d Vβ 1.6a Vβ 1.7 Vβ 1.6c	GCTAAG	AATCTC	GGACAGGGGGAT	TATT	ACCACTGAAC
-43, 45, 57, 59, 65						
-10, 12, 25, 31, 33, 37, 63,						
-67,						
-62,						
-20,						
-24,						
-36,						
-48,						
#2 14d1-29, 32, 34, 35,	} Vβ 1.31a Vβ 1.12a Vβ 1.31g Vβ 1.30 Vβ 1.27a Vβ 1.12b Vβ 1.25	GCTAAGCAAGA	CCACGCC	GACAGGGG	TCTGCGT	AACACACCACTGAAC
-39, 42, 47, 60, 68						
-26, 28,						
-41,						
-64,						
-30,						
-51,						
-46,						

図 8.7 第一胚中心 GC₁₄-1 由来 CDR3 領域の多様性

CDR3

clones	V β member	V β	N	D β	N	J β 1340	
<germ line>		GCTAAGCAAGATA		GGGACAGGGGGATC		CAAACACCACTGAAC	
#1 14d2-4, 8, 13, 15, 18, 30,	V β member V β 1.31a V β 1.27a V β 1.27c V β 1.26 V β 1.11 V β 1.31f V β 1.29 V β 1.24						
37*, 38, 40, 44, 51,							
-10, 46, 49,							
-11,							
-19,			GCTAAG	AATCTC	GGGACAGGGGGAT	TATT	ACCACTGAAC
-24,							
-2,							
-16,							
-7,							
#2 14d2-9, 12, 20, 23, 31,	V β 1.31a						
36, 39, 41, 42,		GCTAAGCAAGA	CCAGGCC	GACAGGGG	TCTGCGT	AACACCACTGAAC	

図 8.8 単一胚中心 GC₁₄-2 由来 CDR3 領域の多様性

CDR3

clones	V β member	CDR3			
		V β	N	D β	N
<germ line>		GCTAAGCAAGATA		GGGACAGGGGGATC	
#1 14d3-3,5,6,20,22*, 25,29,47, -13,31, -1,33, -44*, -30, -10,24,27,52, -2, -9, -51*,	V β 1.31a V β 1.6a V β 1.6c V β 1.23b V β 1.6d V β 1.27a V β 1.27b V β 1.31c V β 1.31d	GCTAAG	AAATCTC	GGGACAGGGGGAT	TATT ACCACCTGAAC
#2 14d3-4,7,11,12,21,32, 35,36,43,45,49, -17, -19,	V β 1.31a V β 1.31e V β 1.6c	GCTAAGCAAGA	CCACGCC	GACAGGGG	TCTGCGT AACACACCACTGAAC

図 8.9 単一胚中心 GC₁₄₋₃ 由来 CDR3 領域の多様性

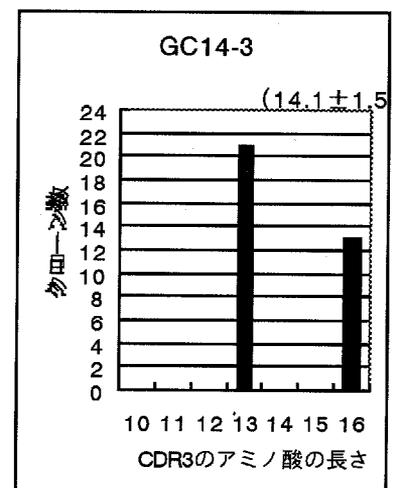
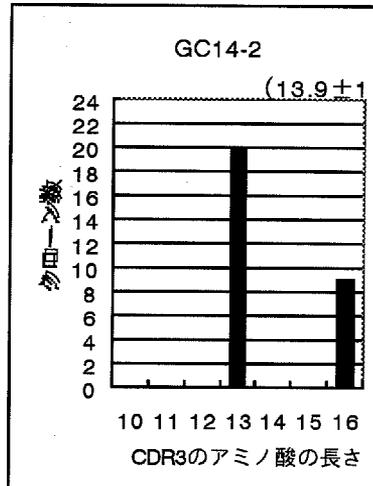
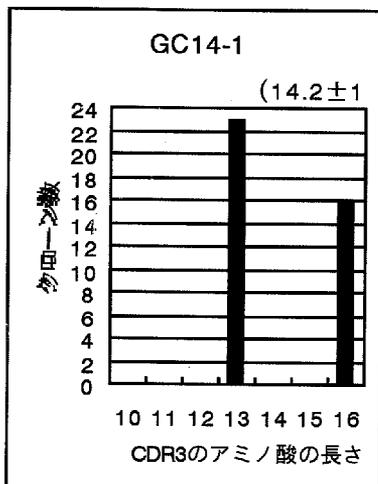
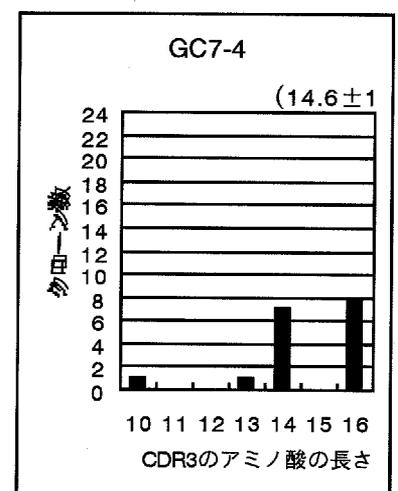
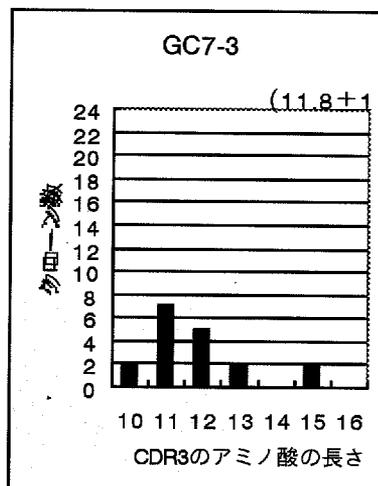
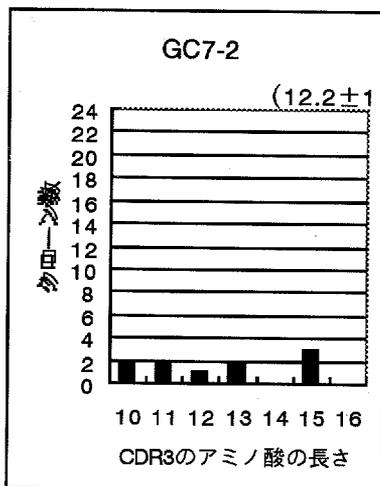
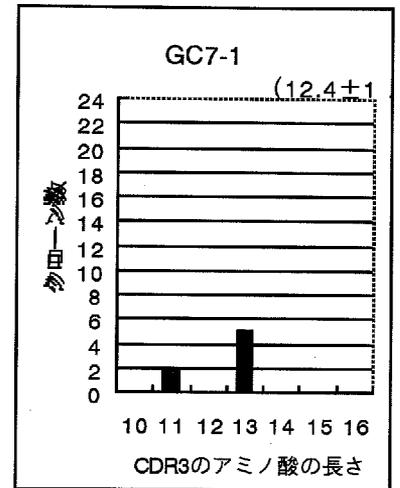
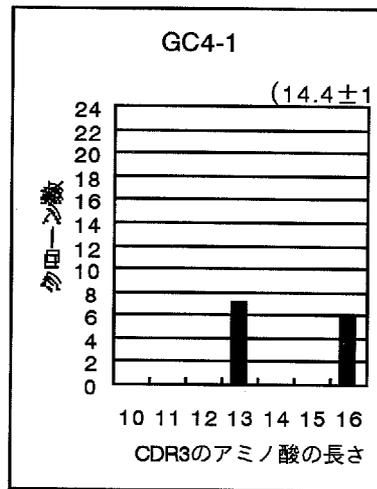
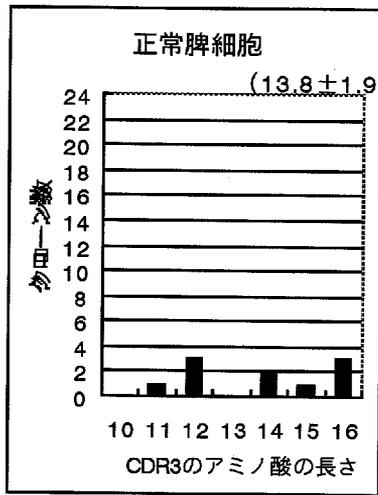


図9.正常脾細胞、及び単一胚中心由来 TCR の CDR3 のアミノ酸の長さ
(CDR3 の位置は参考文献 12 より引用)

正常脾細胞、及び GC7-1,2,3,の単一胚中心は文献 13 より引用

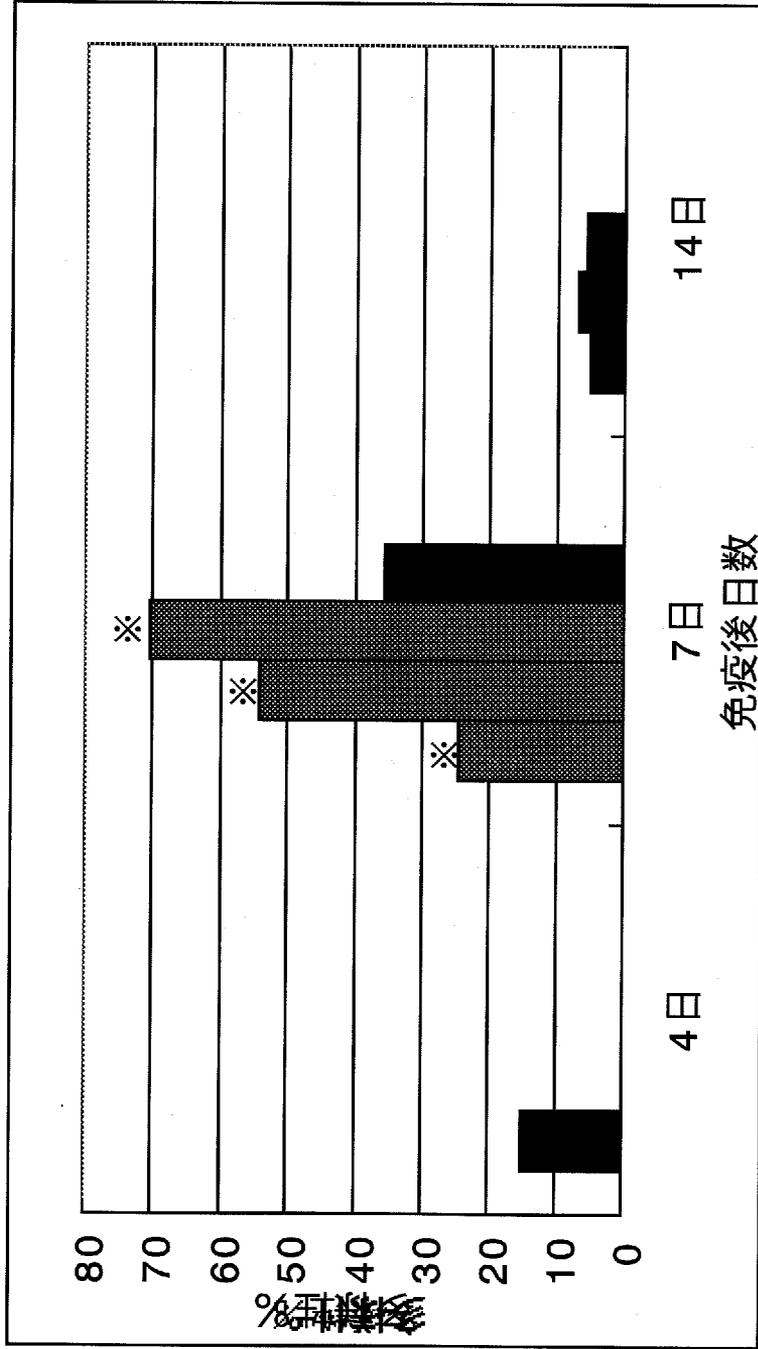


図10. 胚中心内T細胞

TCR CDR3 レポートリ

一の収束の経時的変化

※7日後の3つの胚中

心は文献13より引用

[GENETYX-MAC: Multiple Alignment]

Date : 2001.03.07

cRAG-2 cloning region	1	CTGGAGGCCATTCACTTCAAAAACAACACCCGGCCCTCCAGCCTATACAAGCTAAAAGT	60
RAG-2 clone-1	1	CTGGAGGCCATTCACTTCAAAAACAACACCCGGCCCTCCAGCCTATACAAGCTAAAAGT	60
RAG-2 clone-3	1	CTGGAGGCCATTCACTTCAAAAACAACACCCGGCCCTCCAGCCTATACAAGCTAAGAAGT	60
RAG-2 clone-5	1	CTGGAGGCCATTCACTTCAAAAACAACACCCGGCCCTCCAGCCTATACAAGCTAAGAAGT	60
cRAG-2 cloning region	61	TGATCTCCCGCTGGGCAGCCCATGCCGTGACCTGCTCTATCTTGCCAGGGGGAAATCTGT	120
RAG-2 clone-1	61	TGATCTCCCGCTGGGCAGCCCATGCCGTGACCTGCTCTATCTTGCCAGGGGGAAATCTGT	120
RAG-2 clone-3	61	TGATCTCCCGCTGGGCAGCCCATGCCGTGACCTGCTCTATCTTGCCAGGGGGAAATCTGT	120
RAG-2 clone-5	61	TGATCTCCCGCTGGGCAGCCCATGCCGTGACCTGCTCTATCTTGCCAGGGGGAAATCTGT	120
cRAG-2 cloning region	121	GTCGAGTGGTATTGTGACTCAGACTGGTGATACTGAATTTGTCCTTGTTGGGGGCTACCA	180
RAG-2 clone-1	121	GTCGAGTGGTATTGTGACTCAGACTGGTGATACTGAATTTGTCCTTGTTGGGGGCTACCA	180
RAG-2 clone-3	121	GTCGAGTGGTATTGTGACTCAGACTGGTGATACTGAATTTGTCCTTGTTGGGGGCTACCA	180
RAG-2 clone-5	121	GTCGAGTGGTATTGTGACTCAGACTGGTGATACTGAATTTGTCCTTGTTGGGGGCTACCA	180
cRAG-2 cloning region	181	GTCTGACAAACCAGAAACGGGATGA	203
RAG-2 clone-1	181	GTCTGACAAACCAGAAACGGGATGA	203
RAG-2 clone-3	181	GTCTGACAAACCAGAAACGGGATGA	203
RAG-2 clone-5	181	GTCTGACAAACCAGAAACGGGATGA	203

図 1 1 胚中心由来RAG2 cDNAのDNA配列

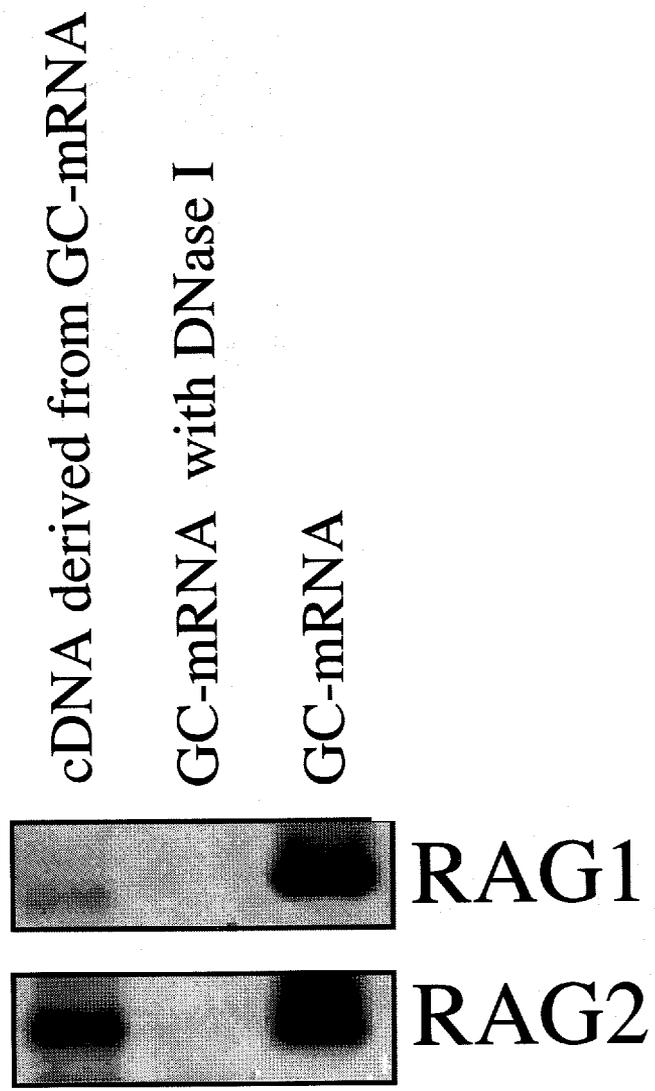


図 12 RAG1 and RAG2 mRNA expression in 5 days-GC

Diversity

Focusing; 15.4%

GC₄-1

$$\frac{2}{13}$$

CDR3 pattern
clone

4 days-GC

Focusing; 46.8%

GC₇-1

$$\frac{5+2}{19}$$

GC₇-2

$$\frac{1+3}{16}$$

GC₇-3

$$\frac{9+3}{22}$$

GC₇-4

$$\frac{7}{10}$$

7 days-GC

Focusing; 5.8%

GC₁₄-1

$$\frac{2}{39}$$

GC₁₄-2

$$\frac{2}{29}$$

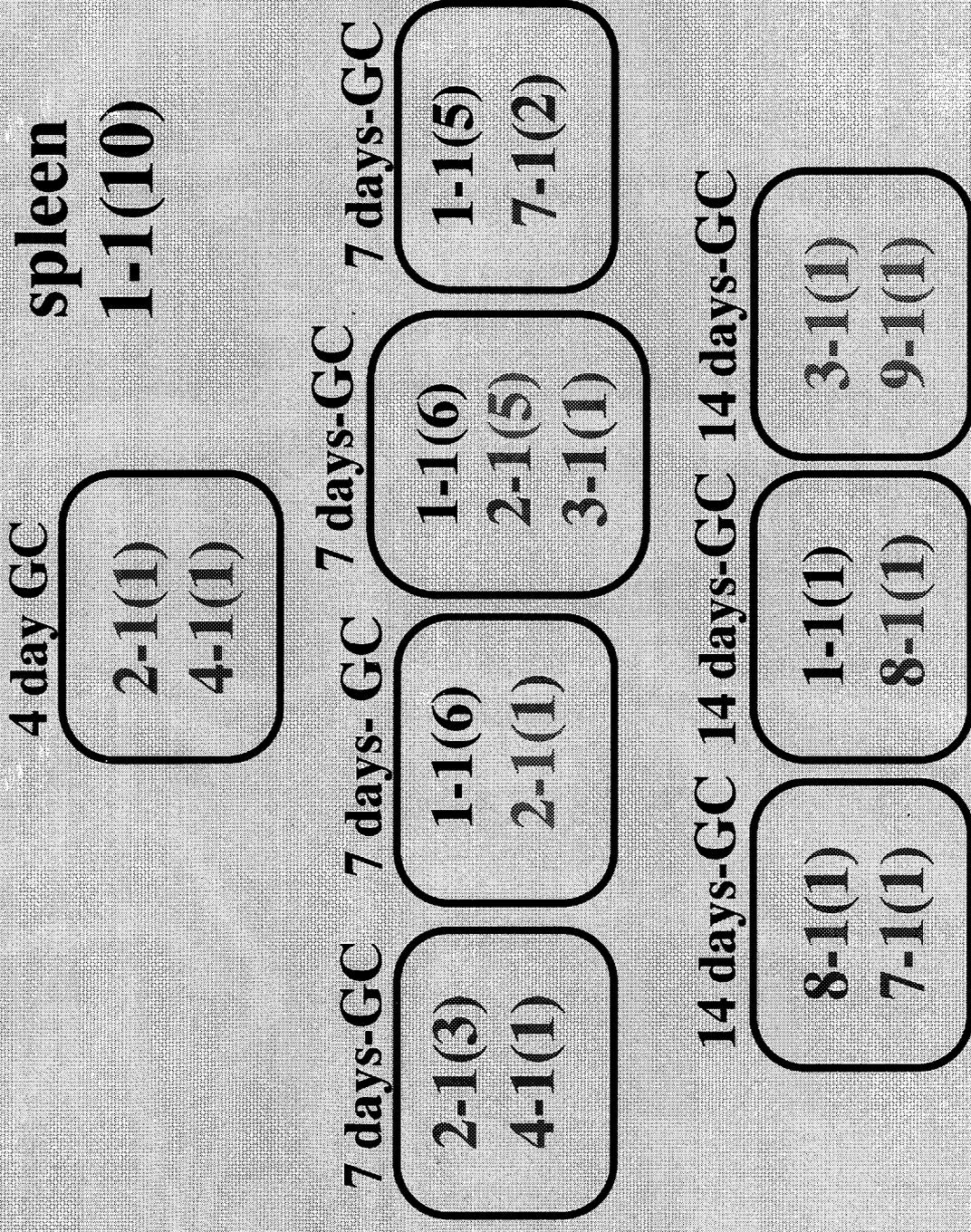
GC₁₄-3

$$\frac{2}{35}$$

14 days-GC

☒ 13 TCR CDR3 repertory in a GC

同一の CDR3 におけるの Vβ の多様性 (パターン)



X-1



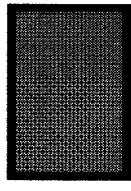
Vβの種類

-1 種類の

CDR3 パターン

例)

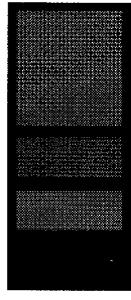
V



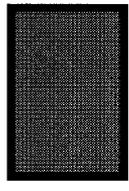
1-1

CDR3

N-D-N-J



-



-

2-1

図 14 TCR CDR3 diversity in a GC