

氏名	やまぐち ひろし 山口博司
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	甲第188号
学位授与年月日	平成18年 3月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	免疫T細胞の分化を制御する転写因子SATB1のMAR結合ドメインの立体構造とDNA結合様式
学位論文審査委員	(主査) 小西久俊 (副査) 築瀬英司 小林和裕 山崎和彦

学位論文の内容の要旨

遺伝情報は DNA として存在し、何重にも折りたたまれて凝縮し小さな細胞の核に納まっている。ゲノムプロジェクトにより、その配列はほぼ決定された。しかし、どのようにしてその遺伝情報がタイミングよく取り出され、また機能の異なる各細胞に応じて、遺伝情報が選択され取り出されてくるのかについては、まだほとんど解明されていない。このような機能を担う特異的な分子機構が予測され研究されてきた。これまでに、この機構に関与する分子として SATB1 (Special AT-rich sequence binding protein 1) が報告されている。

SATB1 は、主として胸腺内の未分化な免疫 T 細胞に特異的に発現し、その分化を制御する転写因子であり、DNA 上の核マトリックス付着領域 (matrix attachment region: MAR) に特異的に結合し、histone deacetylase を誘引してクロマチンリモデリングによる転写制御を行う。実際に SATB1 が欠落したマウスを作成すると、胸腺細胞において、数百もの遺伝子が無秩序に発現されたり、逆に発現すべきものが発現しなかったりして、免疫細胞への分化が途中で止まり、細胞つまりはマウスが死んでしまうことが報告されている。

SATB1 はドメインとして Dimerization Domain、CR (Cut Repeat)1、2、Homeodomain を有しているが、いずれも構造決定がなされていない蛋白質である。SATB1 には前述のドメイン以外に、MAR に特異的に結合するためのドメイン (MAR 結合ドメイン) が存在する。DNA への結合にはこのドメインが重要な役割を果たしており、この立体構造を明らかにし、結合様式を解明することは、T 細胞分化のメカニズムを理解し、創薬等への応用を図る上で大きな意義のあることである。

本研究において、NMR 分光法を用い、SATB1 の MAR 結合ドメインの立体構造を決定し、ヘリックス 5 本で構成される構造を明らかにした。次に、NMR chemical-shift perturbation の解析および、表面プラズモン共鳴法を用いた SATB1 変異体の DNA との結合実験を行なうことにより、SATB1 MAR 結合ドメイン上の DNA へのインターフェースとなる領域を同定した。さらに、major groove

側にメチル基を付加した DNA を用いた結合実験、major groove に特異的に結合する薬剤である methyl green または spermin 存在下での実験、minor groove に特異的に結合する薬剤である distamycin 存在下での実験を行なった結果、SATB1 は従来考えられていた minor groove ではなく、major groove へ結合することを示すデータが得られた。これらの情報を用い、計算科学的手法によって、SATB1 と DNA の複合体モデルを構築した。

SATB1 MAR結合ドメインは、構造既知である HNF6 α (hepatocyte nuclear factor 6 α) の CUT domain と一次配列において弱い相同性を示すが、前者はヘリックス5本からなるのに対し、後者はヘリックス4本からなる点で異なる。しかし、SATB1のMARへの結合モデルは4本のヘリックスからなるPOU-specific domainによるDNA結合様式と、用いる認識ヘリックスが同等である点などにおいて、極めて類似性が高いことが明らかになった。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、免疫T細胞の分化に関わる転写因子SATB1のMAR結合ドメインのDNA結合様式に関するものである。

SATB1はDNA上の核マトリックス付着領域 (matrix attachment region:MAR) に特異的に結合し、histone deacetylase をリクルートしてクロマチンの再構成を介した転写制御を行う免疫学的に重要な蛋白質である。本研究では、SATB1のMAR結合ドメインの立体構造をNMR分光法を用いて決定した。また、DNA添加に伴うNMR化学シフト変化の解析および表面プラズモン共鳴法を用いたSATB1変異体のDNAとの結合実験を行い、SATB1のMAR結合ドメイン上のDNAへのインターフェースとなる領域を同定することができた。また、major groove 側にメチル基を付加したDNAを用いた結合実験、major groove に特異的に結合する薬剤であるmethyl green または spermine および minor groove に特異的に結合する薬剤であるdistamycin の存在下で実験を行った結果、SATB1は従来考えられていたminor groove ではなく、major groove に結合することを明らかにした。これらの情報に基づき計算科学的手法によって、SATB1とDNAの複合体モデルを構築した。さらに、配列特異的認識のメカニズムを解明するため、DNAとの共結晶作製に成功した。

以上のように、本論文では、SATB1のMARドメインの立体構造およびDNAとの結合様式を明らかにした。これらの知見は、免疫疾患などについての新たな治療法開発の基礎となりうる内容であった。

よって、本論文は博士(工学)の学位論文に値すると認められる。