

Title	SRY and Architectural Gene Regulation : The Kinetic Stability of a Bent Protein-DNA Complex Can Regulate Its Transcriptional Potency.
Sub Title	SRYと構造的遺伝子制御 : 屈曲蛋白 : DNA複合体の動的安定性による転写活性制御
Author	浮山, 越史
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.1 (2004. 3) ,p.16-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040302-0016

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

SRY and Architectural Gene Regulation : The Kinetic Stability of a Bent Protein-DNA Complex Can Regulate Its Transcriptional Potency.

(SRYと構造的遺伝子制御：屈曲蛋白-DNA複合体の動的安定性による転写活性制御)

浮山 越史

内容の要旨

性の分化は性染色体がその役割を担い、男性においてはY染色体によって制御され、未分化な生殖腺から精巣が形成される。ヒトの sex reversal (XX males, XY females) の分子学的解析等により、制御遺伝子がY染色体の短腕に存在するSRYであることが判明した。SRYはDNA結合蛋白にみられるHMG boxを含んでおり、このHMG boxはDNAに結合することによりDNAを屈曲し、それによるDNAの高次構造の変化により転写活性を制御していることが考えられている。

著者はSRYの46XY female患者にみられる置換 (M9I, I13T)、チンパンジーのSRY (I13F)、DNAと隣接する部位を欠いた置換 (M9A, I13A, F12A) とヒトwild type SRYを用いて、DNA結合特性、DNA屈曲特性、遊離、結合ドメインの構造、安定性、複合体の動的安定性、転写活性を調べた。

in vitroにおいてDNA結合が10倍以上減弱していた置換 (M9A, F12A, I13A, I13T) では転写活性は検出できなかった。DNA結合が2.5倍減弱していた置換 (M9I) においては、ベクターDNAの低い濃度ではwild typeと明らかな違いはなかったが、高い濃度においては明らかに転写活性が低かった。M9IとI13Tは臨床的に性器發育異常 (XY female) にみられる突然変異であり、ヒトの表現型 (男子あるいは女子) は、SRY HMG boxの転写活性の維持と減弱が関係していた。I13F置換 (チンパンジーSRY) は転写活性をwild typeと比べて、ほぼ4倍に増強した。I13F HMG boxは、wild typeと同じ、DNAとの結合、屈曲、挿入部位におけるDNA特異性を示した。また、wild type SRY、I13Fの、双方の遊離と結合ドメインの構造も同様であった。I13FとDNAとの複合体の生存時間は、wild typeの複合体の3から4倍であり、4倍に増強した転写活性の原因と考えられ、SRY-DNA複合体の動的安定性が転写活性を制御していると考察した。このことより、以下の機構モデルを考えた。SRYの下流であるm-RNAの発現量を制御しているのは、SRY-DNA複合体の平衡濃度ではなく、活性化された開始前複合体 (PIC) からの分離比であるというものである。SRYが分離すると、その結合していたDNAの屈曲が解かれ、多様な他の蛋白-DNAや、蛋白-蛋白相互作用が弱められる。SRY-DNA複合体の動的安定性が、多様な転写の循環を通じて、開始前複合体の維持を可能にしていると考えられた。

本研究では、in vivoにおけるSRYの転写増強機構を、in vitroにおけるSRY-DNA複合体の動的安定性と結びつけ、蛋白とDNAの結合という“構造”と、転写活性という“機能”を関連づけることができた。

論文審査の要旨

男性の性決定遺伝子であるSRYはHMG boxを含んでいる。このHMG boxはDNAに結合することによりDNAを屈曲し、DNAの高次構造の変化により転写活性を制御している。本研究でSRYの46XY female患者にみられる置換 (M9I, I13T)、チンパンジーのSRY (I13F)、DNAと隣接する部位を欠いた置換 (M9A, I13A, F12A) とヒトwild type SRYを用いて、DNA結合特性、DNA屈曲特性、遊離、結合ドメインの構造、安定性、複合体の動的安定性、転写活性について検討した。M9IとI13Tは臨床的に性器發育異常 (XY female) にみられる突然変異であり、DNAとの結合、転写活性が減弱していた。I13F置換 (チンパンジーSRY) はwild typeと比べて、転写活性をほぼ4倍に増強した。I13FとDNAとの複合体の生存時間は、wild typeの複合体の3から4倍であり、4倍に増強した転写活性の原因と考えられた。SRY-DNA複合体の動的安定性が、転写活性の制御に重要であると想定された。

審査ではまず、本研究が共同研究であり、大きなプロジェクトの一部であることから、そのプロジェクトにおける本研究の位置づけ、および著者の実際に行った部分への貢献について質問があり回答された。さらに、転写活性アッセイにおいて、ラットのプロモーター領域を使用しなかった理由について質問があったが、ヒトSRYの転写活性を調べるためにヒトMISのプロモーター領域を使用した。本来ならばヒトのurogenital ridge細胞を使用したかったが、得られないためラットのurogenital ridge細胞を使用したと回答された。これに関して異種間の転写活性アッセイは成り立たない場合があることが指摘された。SRYの標的遺伝子が不明であり、ヒトMISのプロモーター部位にあるSRY結合部位を置換しても転写活性が変わらないことがすでに判明している。ヒトSRYとヒトMISのプロモーター領域をつなぐものをラットurogenital ridge細胞内の未知の物質に補われている系であることが回答された。また、I13Fを作成した理由について質問があった。チンパンジーのSRYが他の部分のHMG boxがヒトとまったく同じであること、DNAに結合する化学物質においてベンゼン環が入り込んでいること、同じマイナーグループに結合するTATA binding proteinでフェニルアラニンがDNAに入り込んでいることが回答された。さらに、XY femaleの原因、SRYの標的遺伝子、用語に関し、質疑応答がなされた。また、邦語要約の用語の使用が不適切であるとの指摘があった。

以上のように、本研究は今後さらに検討すべき点を残しているが、転写活性の制御に関し、ベント蛋白とDNA複合体の動的安定性が重要であるということを示唆した点において有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 外科学 北島 政樹
分子生物学 清水 信義 産婦人科学 吉村 泰典
小児科学 高橋 孝雄
学力確認担当者: 北島 政樹、清水 信義
審査委員長: 清水 信義

試問日: 平成15年11月18日