

氏名	川口 祐加
授与した学位	博士
専攻分野の名称	工学
学位授与番号	博甲第5559号
学位授与の日付	平成29年 3月24日
学位授与の要件	自然科学研究科 化学生命工学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Studies on Functions of SRSF1-3 in Somatic Hypermutation Specific to the Immunoglobulin Gene (抗体遺伝子特異的な体細胞高頻度突然変異における SRSF1-3 の機能に関する研究)
論文審査委員	准教授 金山直樹 教授 徳光 浩 教授 大槻高史 教授 井出 徹

学位論文内容の要旨

B細胞から産生される抗体は、厳密な抗原特異性と強い結合能から適応免疫機構において重要な役割を果たす。抗体分子は、抗原に結合する可変部領域とエフェクター機能を担う定常部領域からなる。骨髄未熟 B 細胞における抗体可変部遺伝子の V(D)J 再編成により、多様な抗体可変部を持つ B 細胞レパートリーが形成される。B 細胞が外来抗原に出会って活性化すると、抗体可変部に体細胞高頻度突然変異 (Somatic hypermutation, SHM) が誘導され、さらに高親和性抗体産生 B 細胞クローンの選択により抗体の抗原への親和性が上昇する。また、抗体定常部クラスの変換 (Class switch recombination, CSR) によって、抗体のエフェクター機能が変化する。これらの機構により、強力な抗原の排除能力をもつ抗体が生み出される。SHM と CSR は、ともに Activation induced cytidine deaminase (AID) が抗体遺伝子特異的に DNA 鎖上のシチジン (C) をウリジン (U) へ変換することによって開始される。AID は非特異的に DNA 損傷を誘導する分子でもある。そのため、発現・局在・活性化・分解と様々な局面で働きが制御されているが、そのメカニズムの詳細は不明である。

近年、RNA スプライシング因子の一つである SRSF1 のアイソフォームである SRSF1-3 が SHM に関連する新規因子として同定された。しかし、SRSF1-3 の SHM 誘導活性の分子機構及び、AID 活性化に関わる他の因子との関係は不明である。本研究では、転写関連因子として核内で機能し、また、他のタンパク質や核酸と複合体を形成して核と細胞質間をシャトルする SRSF1 の機能に着目し、AID の細胞内局在における SRSF1-3 の機能を検討した。AID は通常、細胞質に局在するが、AID と SRSF1-3 を共発現させた場合、SRSF1-3 は AID とタンパク質複合体を形成し、AID を核に蓄積させること、また、SRSF1-3 は AID による変異誘導能を増幅する機能を有するが、核外移行能を欠失する AID の C 末欠失変異体においては、SRSF1-3 による変異増幅能力が無効であることを見いだした。それらの結果は、AID の細胞内局在制御を含む SRSF1-3 の機能は AID の C 末領域と連携していることを示唆する。

論文審査結果の要旨

体細胞高頻度突然変異は、高親和性抗体の産生のみならず、ゲノムの不安定化にも関与することから、その機構の理解は有効な抗体やワクチン開発ならびにゲノム異常による疾患の発生病序を解明する上で重要である。しかし、その責任因子である活性化誘導シチジンデアミナーゼ（AID）の発現や活性化の調節機構の多くは明らかではなく、解明が求められている。本学位論文では、体細胞高頻度突然変異に必須な因子として過去に発見された、SR タンパク質スプライシング因子 SRSF1 のスプライシングアイソフォーム SRSF1-3 について、AID の機能制御への関与についての新規な機能を探索した。SRSF1 が細胞質と核をシャトルし、転写関連因子と相互作用する、という AID との機能的類似性に着目して、AID のタンパク質複合体形成や細胞内局在性制御における SRSF1-3 の関与を検討した。AID と SRSF1-3 の蛍光タンパク質との融合タンパク質を作製して AID の細胞内局在性への SRSF1-3 発現の効果を顕微鏡観察し、通常、核から排除されて細胞質に局在する AID の局在性を、SRSF1-3 は核内へと変化させることを明らかにした。生化学的分析においてもこの SRSF1-3 の効果を確認し、免疫沈降を用いた相互作用分析では、SRSF1-3 は AID の C 末以外の部位と相互作用していることも明らかにした。さらに、SRSF1-3 による AID 活性化に対する効果が相互作用の時とは逆に AID の C 末領域を介することを示し、以上の結果から SRSF1-3 が AID とタンパク質複合体を形成して細胞内局在を制御し、その複合体の中に存在する他の因子への作用を介して AID を活性化するモデルを提唱した。AID と相互作用する因子は多数報告されているが、AID の局在性を制御する因子の報告は SRSF1-3 が世界で初めてであり、AID の機能や AID が関与する体細胞高頻度突然変異の制御機構を理解する上で重要な発見であると言える。学位審査委員会は、学位論文の内容、公聴会による発表内容などを総合的に判断し、本論文は博士(工学)に値するものと判定した。