



Title	Effects of Evolutionary Changes and Mutations on Tetramer Formation and Function in Tumor Suppressor Protein p53 [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	坂口, 周弥
Citation	北海道大学. 博士(理学) 甲第15862号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/92304">http://hdl.handle.net/2115/92304</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	SAKAGUCHI_Shuya_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

# 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 坂口 周弥

審査担当者	主査	教授	村上 洋太	
	副査	教授	石森 浩一郎	
	副査	教授	大利 徹	
	副査	教授	坂口 和靖	
	副査	教授	佐田 和己	
	副査	准教授	Adrian Serohijos	(モントリオール大学)
	副査	教授	James G. Omichinski	(モントリオール大学)
	副査	教授	坂本 寛	(九州工業大学)

## 学位論文題名

Effects of Evolutionary Changes and Mutations on Tetramer Formation and Function in Tumor Suppressor Protein p53  
(癌抑制タンパク質 p53 における四量体化ドメインの進化による変化および変異が四量体形成と機能に及ぼす影響)

癌抑制タンパク質 p53 は、種々の細胞危機ストレスに応答して活性化し、アポトーシスや細胞周期停止を誘導しゲノムの完全性を維持する。p53 の機能発現には C 末端領域の四量体形成ドメイン (TD) を介した p53 タンパク質のホモ四量体化が必須である。しかしながら、p53 の四量体構造安定性とそれが特異的機能に及ぼす影響について詳細は明らかになっておらず、p53 四量体構造に基づく分子機構の解明が望まれている。本論文では、p53 四量体形成ドメインの腫瘍における変異と進化的置換が機能に及ぼす影響を解析し、p53 ファミリーの特異的機能における四量体形成の役割を解明する研究を実施している。

本学位論文は、全 5 章より構成されている。第 1 章では総括的な序論として、腫瘍における p53 の変異、p53 の進化的置換、p53 ファミリーの構造と機能について述べている。

第 2 章では、Li-Fraumeni 症候群 (LFS) における p53 四量体形成ドメインの変異におけるドミナントネガティブ効果について、野生型 p53 (WT) とのヘテロ四量体形成と転写活性の観点から解析を実施している。まず、Venus と Cerulean タグの p53 を発現した細胞を用いて FRET により WT/変異型間のヘテロ多量体量を定量化し、同時に mCherry 蛍光レポーターシステムにより p53 転写活性を解析可能な実験系を構築した。本系を用いて LFS 関連 p53TD 変異体について、野生型 p53 とのヘテロ多量体形成能とその転写活性を解析した。その結果、LFS の要因として報告されている p53TD 変異体の WT とのヘテロ多量体形成能は大きな変化しない一方、WT と比較してその転写活性は著しく減少することが示された。さらに、これら LFS 関連 p53TD 変異体は、細胞周期停止に関わる p21 応答配列に比べ、アポトーシス誘導性 bax 応答配列に対してより顕著な活性低下を示すことが明らかとなった。以上の結果から、TD 変異による不安定なヘテロ四量体がドミナントネガティブ様効果を示すことを明らかにした。また、変異によりアポトーシスの誘導が弱まり、腫瘍形成が促進されているという興味ある新規モデルを提唱している。

第 3 章では、哺乳類における p53 四量体形成ドメインの構造安定性とその要因について述べている。本研究では、6 種の哺乳動物モデル生物の p53TD の特性を比較した。哺乳類の p53TD において、アミノ酸配列は非常に高い相同性を有している。しかしながら、配列相同性の高さにも関わらず、CD スペクトルによる熱安定性解析により Tree shrew と Opossum の安定性が Human よりも有意に安

定であることが示された。また、Tree shrew と Opossum の p53TD 結晶構造解析を実施した結果、Human の p53TD の F341 と Q354 に相当するアミノ酸残基の置換が、四量体構造中の疎水性コアのパッキングよりコンパクトにし、安定化していることが示された。更に疎水性コアの Met340 の酸化速度の比較から Tree shrew p53TD の疎水性コアがよりコンパクトにパッキングされていることを明らかとした。以上の結果から、p53TD の僅かな進化的置換がその四量体構造の変化をもたらし、安定性を向上させていることが示された。また、この安定化の向上は、哺乳類の生活様式や環境に適応するためのタンパク質分子進化であることを示唆している。

第 4 章では、初期魚類より哺乳類に至る網羅的な脊椎動物における p63 四量体形成ドメインの構造・安定性・機能の進化および p53/p63 ヘテロ多量体形成についての解析を実施している。まず、系統樹解析により脊椎動物の p53 四量体形成ドメインは、p63 の四量体形成ドメインと比較して、より進化速度が速いことを示した。本研究では、まず魚類である条鰭綱に着目し安定性解析と構造解析を実施した。その結果、配列相同性の高さにも関わらず条鰭綱 p63TD の安定性が他の生物種と比較して著しく高いことが明らかとなった。また、条鰭綱に属する Zebrafish p63TD の構造解析により、条鰭綱特異的な Cys303 がホモ二量体間において S-S 結合を形成することが示された。また Coelacanth p63TD の構造解析により二次構造の割合減少やヘリックスの向きの違いにより、Human と比べて安定性が低いことが示唆された。さらに、p53 と p63 のヘテロ多量体形成能についても解析を実施している。Human では p53 と p63 はヘテロ多量体を形成していないことが報告されている。初期脊椎動物である Lamprey で有していたヘテロ多量体形成能は条鰭綱と哺乳綱までの進化の過程で喪失した進化を遂げたことが示された。以上より、条鰭綱、哺乳綱までの進化において p53 は安定性を高め、さらに p63 とのヘテロ多量体形成能を喪失することにより癌抑制的機能を獲得したという新規モデルを提唱した。このモデルは、非常に新しい視点であり大変興味深い。

第 5 章では、本研究の p53 四量体形成ドメインの腫瘍における変異の意味と進化における変化の意義について総括的な結論および今後の展望を非常に論理的にまとめている。

以上、本研究により腫瘍における p53 変異における四量体形成の制御と進化過程における構造と安定性変化について全く新しいモデルを提案した。これらの研究は、腫瘍における p53 の変異と機能に対してさらなる知見を与え、さらに進化においてインフォマティクス解析のみではなく安定性と構造の詳細な解析、および細胞内での多量体形成と転写活性を網羅的かつ統合的に研究した画期的研究であり、進化意義の理解に大きく貢献しており高く評価される。

よって審査員一同は、著者が北海道大学博士（理学）の学位を授与されるに値するものと認める。