



Title	Posttranslational Modification and Evolution of Tetramerization Domain in Tumor Suppressor Protein p53 [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	中川, 夏美
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第14007号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78065
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Natsumi_NAKAGAWA_review.pdf, 審査の要旨



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 中川 夏美

審査担当者	主査	教授	村上 洋太	
	副査	教授	坂口 和靖	
	副査	教授	大利 徹	
	副査	教授	石森 浩一郎	
	副査	教授	Stephen Michnick	(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

Posttranslational Modification and Evolution of Tetramerization Domain in Tumor
Suppressor Protein p53

(癌抑制タンパク質 p53 における四量体形成ドメインの翻訳後修飾および進化)

癌抑制タンパク質 p53 は、多様な細胞ストレスに応答した細胞周期制御により、ゲノムの完全性を維持する機能を有する細胞癌化の抑制において最も重要タンパク質である。この p53 機能にはホモ四量体化が必須であり、機能制御には非常に多くの翻訳後修飾が関与している。しかしながら、p53 四量体形成ドメイン中の翻訳後修飾による機能制御は不明な点が多く、詳細な制御機構の解明が求められている。また、p53 は初期の脊椎動物からその遺伝子発現が見られるが、脊椎動物における p53 四量体形成や四量体構造の進化過程は明らかでなく、多量体タンパク質の進化の観点からも大きな疑問となっていた。本研論文では、p53 四量体形成ドメインの Arg メチル化修飾による機能制御機構および脊椎動物における進化過程とその意義についての解明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、p53 の癌抑制タンパク質としての機能、p53 の四量体構造、脊椎動物の進化について述べている。

第 2 章では、メチル基転移酵素 PRMT5 による p53 四量体形成ドメイン中の Arg 残基メチル化の反応経路とメチル化による四量体形成への効果を解明している。まず、nLC-MS/MS を用いて PRMT5 による 3 つの Arg メチル化サイトを同定し、335 位モノメチル化を起点とするカスケード機構の存在を明らかとした。さらに、これらの Arg 残基のメチル化が、特に 337 位メチル化が顕著な四量体不安定化を誘導することを示している。以上の結果より、p53 応答配列との親和性の差と四量体構造安定性の調節による標的遺伝子選択制御モデルを示唆している。

第 3 章では、哺乳類における p53 四量体形成ドメインの進化について述べている。哺乳類の各種 p53 四量体形成ドメインについて、CD spectrometry により多量体構造の熱安定性を解析し、その結果、B 型肝炎感染モデルとして有用な Tree shrew の四量体形成ドメインは、Human と比較して 4 残基のみ置換があり、Human よりも顕著に安定であることを示した。さらに、変異体の解析により、354 位 Met による疎水性相互作用がヘリックス安定化を増強させていることを明らかとしている。

第 4 章では、初期魚類より鳥類に至る網羅的な脊椎動物における p53 四量体形成ドメインの構造・安定性・機能の進化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、p53 の DNA 結合ドメイン、あるいは p53 パラログ p63 と p73 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。無顎上綱，軟骨魚綱，条鰭綱，肉鰭綱，両生綱，爬虫綱，鳥綱，哺乳綱より，19 種類の生物種を選択し，それらの構造安定性解析およびキメラ p53 の転写活性解析を実施している。これらの結果より，初期魚類 Lamprey は構造安定性および活性が低く，Zebrafish などは C 末端側の第 2 ヘリックスの存在により高い活性を有することが示した。一方，Coelacanth 以降の生物種は，第 2 ヘリックス欠失後の第 1 ヘリックス伸長によって高い安定性を有するという極めて興味深いことを明らかとしている。以上より，紫外線などの遺伝毒性ストレスを伴う水中から陸地への環境変化において，遺伝毒性ストレス防御のために高い p53 四量体形成能を獲得したことを示唆している。

第 5 章では，本研究の総括的な結論について述べている。本研究において，p53 四量体形成ドメインのメチル化による安定性制御機構を明らかとし，新規標的遺伝子選択制御モデルを提案している。さらに，脊椎動物の p53 四量体形成能が環境順応と種の進化において極めて重要な役割を果たしたことを示唆している。

以上，本研究により p53 四量体形成における制御機構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，p53 細胞癌化抑制機能の制御機構ばかりでなく，多量体タンパク質進化においてインフォマティクス解析のみではなくタンパク質構造の安定性，機能を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資格あるものと認める。