

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	寺川 剛
論文題目	p53 search and recognition dynamics on DNA studied by multi-scale simulations		

(論文内容の要旨)

癌抑制性転写因子p53はアポトーシス、細胞周期停止、DNA修復などに関わる様々なタンパク質の転写を活性化する。p53は生理的条件下で4量体を形成する。各単量体は4つのドメイン (N末端ドメイン、コアドメイン、4量体形成ドメイン、C末端ドメイン) で構成される。N末端ドメイン、C末端ドメイン、およびコアドメインと4量体形成ドメインをつなぐリンカー領域は天然変性領域であり、静的な構造情報を用いた機能解析を困難にしている。本研究はマルチスケール分子動力学シミュレーションを行い、その動的な構造情報からp53のDNA配列の探索・特異配列認識の分子メカニズムを解析した。

第2章では、p53が長いDNA上で配列を探索する機構をマルチスケール分子動力学シミュレーションによって研究した。p53は2つのDNA結合ドメインを持つ。p53が配列を探索する際、2つのDNA結合ドメインがどのように協調するかは不明である。p53が特異的結合サイトを探索する時に、C末端ドメインはDNA上を溝に沿わずにスライディングして、コアドメインはDNAに対し結合・解離を繰り返すという分子メカニズムが示唆された。

第3章の目的は、従来のモデルより精度の高いリンカーの新規マルチスケールモデルを構築することである。リンカーの全原子分子動力学シミュレーションを行い、それによって得られた平均コンタクトマップを再現できるような、粗視化モデルの長距離相互作用パラメータを最適化した。次にその粗視化モデルを用いて、p53からN末端ドメインとC末端ドメインを欠失したコンストラクトのマルチスケール分子動力学シミュレーションを行い、X線小角散乱のプロファイルを理論的に計算し、実験とよく一致することを示した。

第4章では、p53がDNA上の特異的結合サイトを認識する分子メカニズムを調べた。p53がDNAに結合していない構造から、特異的結合サイトに結合した構造までのトラジェクトリを得た。p53はC末端がアセチル化されていない状態ではDNA上をスライディングすることによって特異的結合サイトを探索するが、C末端ドメインがアセチル化されているとDNAへの結合・解離を繰り返すことによって特異的結合サイトを探索することが示唆された。

最後に、In vivoの環境を念頭に、p53とヌクレオソームを含む系の粗視化分子動力学シミュレーションを行った。p53はヒストンタンパク質の周辺をあまり探索せず、リンカーDNAを主に探索することが示唆された。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

寺川剛氏の博士論文は、癌抑制転写因子p53の構造モデリングおよび、それに基づく非特異的DNA上のスライディング機構と特異的DNA配列の認識に関わる動態の理論解析を行ったものである。

p53を始めとする真核生物のほとんどの転写因子は、定まった構造をもつドメインと天然変性領域がモザイク状に連なった構造を持っており、その変性領域のために通常の実験による構造解析は困難である。そこで、分子シミュレーションとの組合せは有力な手法になっている。しかし、p53全長の4量体は、その長さのために通常のシミュレーション技術では取り扱い困難である。本博士論文は、3章などにおいて、種々の天然変性領域の構造アンサンブルを効率的かつ精度よくモデリングするためのマルチスケールモデリング技法を開発し、それを適用したことで新しい道を拓いた。

その技法を生かして、2章では、p53がDNA上をスライディングする様子をシミュレーションすることに成功した。実験的には、一分子観測による間接的な情報からしか理解されていなかったスライディング機構を、極めて明確にしている。すなわち、DNA上のスライディングは基本的にp53のC末端ドメインによって実現され、同時にコアドメインはDNAへの結合と解離を繰り返す、いわゆるホッピングを行っていた。

また、4章では、p53の認識エレメントへの特異的結合の分子機構を調べている。p53が、非特異的DNA配列から特異的DNA配列に結合する際、その結合モードを変え、変性領域を生かして、大きな構造変化を引き起こすことを明らかにしている。また、その動態に、C末端のアセチル化が及ぼす影響も調べている。

さらに最後には、非特異的DNA配列をもつヌクレオソーム存在下のp53の動態解析に挑戦し、p53がヌクレオソームのダイアド側に高頻度で滞在し、逆にヌクレオソームコアにはほとんど滞在しないことを明らかにした。高頻度で滞在する領域は、特異的な認識エレメントがよく見つかる部分と符合する。

以上のように本論文は、これまで未踏であったp53の構造動態に、独自シミュレーション技術によって迫った研究であり、博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年1月15日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 年 月 日以降