



2020年1月16日

報道機関 各位

東北大学多元物質科学研究所

がん抑制タンパク質 p53 の液滴形成現象の発見 — がん抑制機構の解明に期待 —

【発表のポイント】

- ・がん抑制タンパク質 p53 が、機能を保持した状態で、液滴状のミクロンサイズの会合体^{注1}を形成することを発見
- ・液滴状会合体の形成と崩壊による p53 の機能調整メカニズムを提案
- ・p53 は液-液相分離を利用し、がん抑制の機能を制御している可能性

【概要】

東北大学多元物質科学研究所の鎌形清人准教授、高橋聡教授、永次史教授、および産業技術総合研究所人工知能研究センターの亀田倫史主任研究員らの研究グループは、がん抑制タンパク質 p53 が液滴状の会合体を形成することを発見し、液滴状の会合体により機能を調整する仕組みを提案しました。

がん抑制タンパク質 p53 は、標的となる DNA に結合し、細胞周期の停止、損傷した DNA の修復、およびアポトーシス（プログラムされた細胞死）を引き起こし、細胞のがん化を抑制します。これまでに、p53 は、4 量体を形成し溶液中に分散した状態で機能しますが、不可逆的な凝集によって、その機能が失われることが知られていました。しかし、この分散状態や固体様の凝集体とは異なり、液体の性質を持つ会合体への p53 の関与は余り明らかにされていませんでした。研究グループは、生物物理学的な手法を用いて、p53 が液滴状のミクロンサイズの会合体を形成することを発見しました。これは、p53 が、溶液中に溶けて分散した相と密に集合した相に分離する、液-液相分離現象と考えられます。また、p53 の液滴形成には、特定の立体構造を取らない天然変性領域間の結合が関与することを明らかにしました。液滴状の会合体を経験した p53 は、その機能を保持していることが分かりました。さらに、p53 の液滴形成の促進および崩壊は、様々な生体分子や p53 への翻訳後修飾によって、制御されていることが明らかとなりました。以上より、p53 は液-液相分離を利用し、がん抑制の機能を制御している可能性が示されました。

本研究成果は、2020年1月17日（英国時間 10 時）に英国科学誌 *Scientific Reports*（オンライン版）に掲載される予定です。また、本研究は、科学研究費助成事業、および産総研-東北大マッチング事業の支援を受けて、実施されました。

【研究背景】

がん抑制タンパク質 p53 は、ゲノムの守護神と呼ばれ、ゲノム DNA 上の特定の部位に結合し、下流の遺伝子の発現を制御します。そして、細胞周期の停止、損傷した DNA の修復、およびアポトーシスなどを引き起こし、細胞のがん化を抑制しています。ヒトのがん細胞の約 50%において、p53 遺伝子の変異が原因であることが知られています。p53 は、4 量体を形成し、溶液中に分散した状態で標的 DNA に結合し、機能します。一方で、p53 が固体様に凝集すると、機能できなくなります。しかし、これらの分散状態や凝集体とは異なり、液体の性質を持つ会合体への p53 の関与は余り明らかにされていませんでした。特に、p53 が核内構造体である PML ボディ^{注2} やカハールボディ^{注3} (液体の性質を持つと考えられる) に取り込まれることは報告されていましたが、p53 が単独で液滴状の会合体を形成するか、さらには、液滴形成は p53 の機能に関与するかは明らかにされていませんでした。

【研究の成果】

研究グループは、まず、微分干渉顕微鏡や光の散乱計測を用いて、p53 が液滴状の会合体を形成するかを調べました。様々な pH や塩濃度などの溶液条件を変えて実験を行ったところ、中性及び弱酸性の条件において、p53 がミクロンサイズの球形の会合体を形成することが分かりました (Fig. 1a)。また、複数の会合体が接触した後に融合し 1 つの大きな会合体を形成したことから、この会合体は液体の性質を持つことが分かりました (Fig. 1b)。これは、p53 が、溶液中に溶けて分散した相と密に集合した相に分離する、液-液相分離現象と考えられます。

次に、p53 の液滴状の会合体形成の仕組みを調べました。p53 の一部を欠損させた変異体の実験により、液滴形成には特定の立体構造を取らない天然変性領域が関与することが分かりました。p53 の N 末と C 末の天然変性領域は、それぞれ負と正の電荷を多く持つことから、静電的に結合すると考えられます (Fig. 2a)。また、導入した 2 つの蛍光色素間の蛍光共鳴エネルギー移動^{注4} の計測から、p53 は、溶液中を分散した状態からその立体構造を少し変えて、液滴状の会合体内で分子間ネットワークを作っていることが明らかとなりました (Fig. 2b)。

最後に、p53 の液滴状の会合体と機能制御の関係を調べました。液滴状の会合体を一旦経験させ分散条件に戻した p53 は、その機能を保持していることが分かりました。この性質は、不可逆的な凝集体とは異なっています。さらに、生体環境を模倣した混雑状況下では、p53 の液滴状の会合体の形成が促進されることが分かりました。一方、DNA や ATP などの生体分子の添加により、p53 の液滴形成が抑制されることが明らかとなりました。さらに、リン酸化を模倣した p53 の活性化変異体では、液滴形成が抑制されました。以上より、p53 の液滴状の会合体は、様々な生体分子や翻訳後修飾により制御されていることが明らかとなりました。

上記の結果を踏まえて、液滴状の会合体が関与する機能スイッチモデルを提案しました (Fig. 2b)。細胞にストレスがかかっていない通常の状態では、p53は、液滴状の会合体を形成し、その機能を OFF にしています。細胞にストレスがかかり、p53 がリン酸化などで活性化されると、溶液中に分散し、その機能が ON になります。今後、実際の細胞内での液滴状の会合体形成を検証することで、p53 のがん抑制の仕組みが分子レベルで解明されることを期待しています。

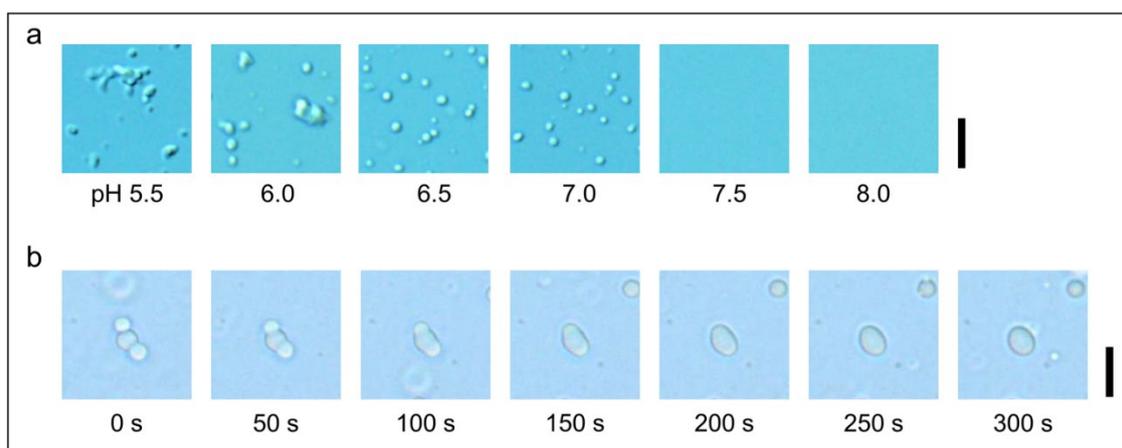


Fig.1 微分干渉顕微鏡を用いて、p53 の液滴状の会合体を観察しました。 a) p53 の pH 依存的な会合体の形成。 pH 6.5 と 7.0 では球形の会合体を形成し、 pH 5.5 では非球形の会合体を形成しました。一方、 pH 7.5 以上では、ミクロンサイズの会合体は観測されませんでした。 b) pH 7.0 で形成した p53 の会合体は、液体の性質を持つことが分かりました。300 秒の時間をかけて、3 つの球形の会合体が融合する過程が観察されました。右側の黒い線は、10 マイクロメートルを表しています。原著論文の図 1 より転載しました。

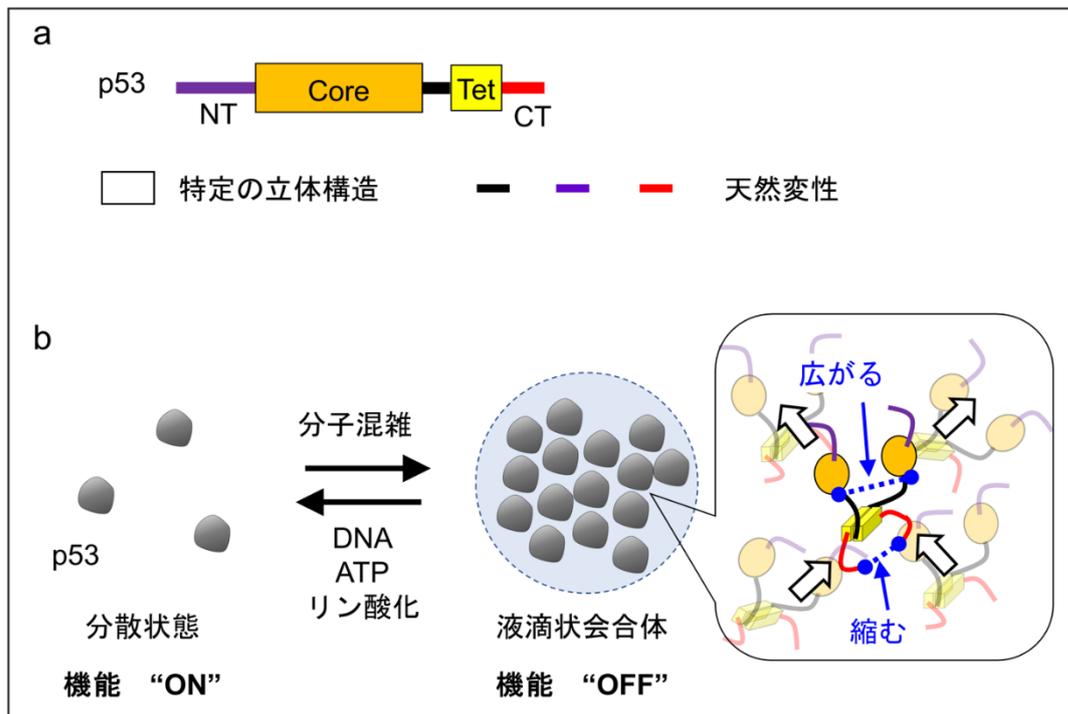


Fig.2 液滴状の会合体の形成と崩壊による p53 の機能のスイッチモデルを提案しました。a) p53 の一次構造 (アミノ酸配列) と立体構造の関係。NT、Core、Tet、CT は、それぞれ、N 末ドメイン、コアドメイン、4 量体ドメイン、C 末ドメインを表しています。b) p53 は、分散状態と液滴状の会合体との間をスイッチしながら、その機能を制御していると考えられます。細胞にストレスがかかっていない通常の状態では、p53 は、液滴状の会合体を形成し、その機能を OFF にしています。p53 は、NT と CT が静電的に結合することで、その立体構造を変えて、液滴状の会合体を形成します。一方で、細胞にストレスがかかり、p53 がリン酸化などで活性化されると、溶液中に分散し、その機能が ON になります。原著論文の図 6 より転載しました。

【論文情報】

題目 : Liquid-like droplet formation by tumor suppressor p53 induced by multivalent electrostatic interactions between two disordered domains

著者 : Kiyoto Kamagata^{1,2,*}, Saori Kanbayashi¹, Masaya Honda^{1,2}, Yuji Itoh¹, Hiroto Takahashi¹, Tomoshi Kameda³, Fumi Nagatsugi^{1,2}, and Satoshi Takahashi^{1,2}

所属 : ¹東北大学 多元物質科学研究所, ²東北大学大学院 理学研究科化学専攻, ³産業技術総合研究所 人工知能研究センター

雑誌 : **Scientific Reports** 10, 580 (2020)

URL : www.nature.com/articles/s41598-020-57521-w

DOI : 10.1038/s41598-020-57521-w

【用語解説】

注 1) 会合体

2 個以上の分子が比較的弱い分子間力によって集合し、一つの塊として存在している状態。

注 2) PML ボディ

直径 0.2~1 マイクロメートルの球状構造体で、核の中に複数存在しています。Promyelocytic leukemia (PML)タンパク質とその SUMO 修飾体によって、球状構造体が形成されます。転写、細胞の分化など様々な現象に関与することが知られています。

注 3) カハールボディ

直径 0.2~2 マイクロメートルの球状構造体で、核の中に複数存在しています。コイリンタンパク質によって、構造体が形成されます。核内および核小体低分子リボ核酸タンパク質の生成や成熟などに関与することが知られています。

注 4) 蛍光共鳴エネルギー移動

1 つ目の蛍光色素が光のエネルギーを吸収し、その一部が 2 つ目の蛍光色素に移動する現象。蛍光色素間の距離に応じて、エネルギーが移動する効率が変わるため、ナノメートルサイズの距離を計測する手法として用いられている。

【お問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学多元物質科学研究所

准教授 鎌形 清人 (かまがた きよと)

電話 : 022-217-5843

Email : kiyoto.kamagata.e8@tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学多元物質科学研究所 広報情報室

電話 : 022-217-5198

E-mail : press.tagen@grp.tohoku.ac.jp