

がん抑制タンパク質 p53 はどのように 標的 DNA 配列探索問題を解いているのか？

鎌形 清人 〈東北大学多元物質科学研究所 kiyoto.kamagata.e8@tohoku.ac.jp〉

伊藤 優志[†] 〈東北大学多元物質科学研究所 yuji_ito@nig.ac.jp〉

Dwiky Rendra Graha Subekti 〈東北大学多元物質科学研究所, 東北大学大学院理学研究科 dwikyren@dc.tohoku.ac.jp〉

2018年11月, “ゲノム編集ベイビー”が世間を騒がせた。ゲノム編集技術は, 生命科学の分野で, ゲノム上の遺伝子の機能を調べることや, 遺伝子の機能を改変することに使用される。一方で, 医療に使う前には安全性の検証が必要である。ゲノム編集には, “DNA 結合タンパク質”が使われる。DNA 結合タンパク質は, DNA の連結, 切断, 修復やタンパク質発現の制御などの機能を持つ。

DNA 結合タンパク質の共通の機能は, ゲノムを構成する, 膨大な数の DNA 配列の中から特定の配列を探索し, 結合することである。例えば, DNA 結合タンパク質が 10^9 塩基の DNA の中で, 20 塩基の DNA 配列ヘランダムに 1 秒ごとに結合と解離を繰り返し (3次元探索), 標的 DNA を探す場合, 3年もかかる。しかし, 生体内では秒から分のオーダーで, 標的 DNA の探索がなされる。では, DNA 結合タンパク質は, どのようにこの“探索問題”を解き, 遺伝子発現やゲノム編集などの機能を発揮しているのだろうか？

この探索問題を明らかにするため, 私達は, 蛍光顕微鏡を用いて, 蛍光色素を修飾した DNA 結合タンパク質の DNA 上でのダイナミクスを観察してきた。研究の当初, 観測視野内の DNA 数が少ないことやガラス基板に生体分子が非特異的に吸着することなどが問題となった。そこで, ガラス基板に DNA の末端を一行に並べて大量に固定する技術 “DNA garden” を開発し, 一度に大量の再現性の良い単分子データの取得を可能にした。この開発には, 鷺津らの電極間 DNA 固定法, Greene らの DNA curtain 法などを参考にした。研究のモデルタンパク質として, ヒト由来のがん抑制タンパク質 p53 を使用した。

まず, DNA 上での p53 のダイナミクスを調べたところ, van Oijen らの先行研究

と同様に, p53 は DNA 上を酔歩するように 1次元拡散運動することが分かった。この拡散運動には, ATP の化学エネルギーではなく, 熱エネルギーのみが使われる。この 1次元拡散運動によって p53 は DNA から解離するまでに約 200 塩基を探索することで, 探索時間を短くしている。

この 1次元拡散の範囲に標的 DNA 配列があれば, p53 は標的 DNA を認識し, 標的 DNA に結合できる。探索時間の短縮を考えると, 標的 DNA の認識・結合率は 100% に近いと予測される。これに反して, 標的 DNA の認識に成功し, 標的 DNA に結合できた p53 はわずか 1割であった。残りの 9割は, 標的 DNA 上にいるにも関わらず, 標的 DNA を認識できずに通り過ぎてしまった。一方で, p53 は細胞へのストレスなどに応じて, 標的認識率を変化させ, 機能を制御していた。興味深いことに, 標的探索の効率よりも, 環境に応じた標的認識率の変化が進化の過程で選ばれたのである。

生体内では, DNA 上に多くの DNA 結合タンパク質が結合し, これらの障害物が p53 の 1次元拡散運動を阻害すると考えられる。一方で, 生体内では DNA が密集しているため, p53 は DNA から別の DNA へと移動することで, DNA 上の障害物を回避できる可能性が考えられた。そこで, 高速混合反応追跡法と単分子計測を用いて, p53 が拡散律速に近い速度で DNA 間を移動できることを明らかにした。

このように, 私達を含む生物物理学的な研究によって, p53 は, 3次元探索, DNA 上の 1次元探索, 高速の DNA 間移動を組み合わせて, 標的 DNA の探索問題を解くことが明らかとなった。今後, p53 以外の DNA 結合タンパク質がどのように探索問題を解いているかが徐々に明らかにされていくであろう。

—Keywords—

ゲノム:
遺伝子がコードされた DNA 配列 (例えば, ATGCT...) を表す。

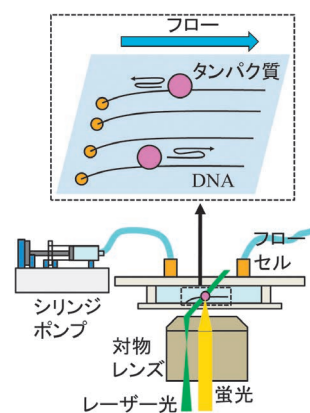
ゲノム編集:
ゲノム上において特定の DNA 配列を改変すること。遺伝子の欠損や改変に使用される。

DNA 結合タンパク質:
タンパク質の中で, DNA に結合するものを表す。DNA の連結, 切断, 修復などに関与する酵素や, 遺伝子 (タンパク質の発現) の ON や OFF を制御する転写因子などがある。

3次元探索:
DNA 結合タンパク質が, DNA から解離し再び DNA と結合するまでに, 3次的に拡散運動すること。

1次元探索:
DNA 結合タンパク質が DNA と結合したまま, DNA 上を移動し, 標的 DNA 配列を探索すること。

DNA 間移動:
DNA 結合タンパク質がある DNA から別の DNA に移動する現象。専門用語では, セグメント間移動と呼ばれる。



DNA 結合タンパク質の単分子蛍光計測。蛍光顕微鏡を用いて, フローセルの流路に整列固定した DNA 上を動く DNA 結合タンパク質を追跡する。

[†] 現所属: 国立遺伝学研究所