

分子シャペロン – タンパク質のケアテイカー

田口英樹、吉田賢右

プロローグ

I章 タンパク質の基本原則... 3次元のヒモ

- I-1 タンパク質はかたちが命っ！
- I-2 Anfinsen のドグマ
- I-3 折れたたみ、折りたたみ、フォールディング
- I-4 タンパク質の疎水性領域は両刃の剣
- I-5 細胞の中は濃厚なるタンパク質スープ

II章 分子シャペロンの概念

- II-1 分子シャペロンとは
- II-2 シャペロンはファミリーをなす
- II-3 分子シャペロン研究小史 – 熱ショック応答から分子シャペロンへ

III章 ゆりかごから墓場まで

- III-1 タンパク質の一生は生々流転、波瀾万丈
- III-2 タンパク質の誕生
- III-3 タンパク質の移動 – タンパク質が膜をすり抜けるには・・・
- III-4 タンパク質の品質管理
- III-5 ストレス防御・ダメージを受けた後の回復
- III-6 タンパク質の凝集 – アミロイドとプリオン
- III-7 成熟タンパク質のメンテナンスと活性制御
- III-8 生と死は表裏一体 – タンパク質分解と分子シャペロン

IV章 タンパク質の「ゆりかご」、シャペロニン

- IV-1 シャペロニンを用いた試験管内フォールディング実験
- IV-2 「ゆりかご」タンパク質 – シャペロニンの立体構造
- IV-3 シャペロニンの反応サイクル
- IV-4 シャペロニンによる変性タンパク質の認識機構

エピローグ

(6 ページ, ~32000 字)

プロローグ

この某大学では、学部の1.2年生が様々な分野の研究室を訪れて、最先端分野の体験をするというゼミがある。今日も、分子シャペロンの研究をしている某先生の部屋に数人の学生がやってきた。学生たちは、なかなか聡明で話していて気持ちがいい。先生は、学生相手の気楽さでかなり個性の入った濃ゆい話をしている。以下はその記録である。たまたま部屋に居合わせた大学院生も、話に参加した。彼は、部屋の隅にあるパソコンに張り付いて聞くともなく話を聞いていたのだが、黙っていられない性分で、つつい口を挟んでしまったのである。大人の世界の諸般の事情により、教授役はニセ大阪弁、院生役はニセ名古屋弁、学生役はニセ広島弁をしゃべらされている。しかし内容に関しては、十分なチェックを経て科学的な正確さを期したので安心してほしい。

教授：

この研究室では分子シャペロンゆうものを研究してん。この研究は比較的新しいさかい、みんなが買わされた教科書にも載ってへんかもしれへん。遺伝子の説明がドエライ 勢いで進められとるが、遺伝子は設計図であって、それ自体が細胞の中で働くわけとちゃうんや。働き蜂のように働いとるんはタンパク質や。タンパク質ゆうものは、手えかからへんもんで、必要に応じて作られて、オノレで決まったトコにおもむき、働いて、寿命になったらおとなしく分解されてリサイクルされるちうわけや。これがムカシからの考えやった。せやけどダンさん、この考えはきょうびになって 大きく変わってきたんやで。タンパク質の生涯はもっとももっとももっとももっとも波乱のある諸相互作用の中で営まれとることがわかってきたんや。タンパク質は濃厚な社会関係の中に誕生し、成熟し、移動し、支配し、支配され、時に逸脱し、傷つき、癒され、せやなかったら解体されるんや（泣）。このタンパク質の社会関係の演出者がシャペロンや。今やタンパク質の絡んだ生命現象には じえったいというてええほどシャペロンは関わってきとるで。研究が進むに連れて、シャペロンの能書きもずいぶんと拡張されたちうわけや。シャペロンの研究者でも 全貌を捉えるんは容易とちゃうんや。ほな今日は基礎から順を追って話すことにしようか。

1章 タンパク質の基本原則... 3次元のヒモ

1-1 タンパク質はかたちが命っ！

教授：

まずは、ウチから質問しよう。タンパク質とはなんなんか、言えるかい？

学生：

タンパク質たあ... アミノ酸の重合体じゃないかのう。

教授：

まあ、ほんでもええが、大事なことをつけ加えると、このペプチド結合でつながった重合体には、枝分れがまるっきし無いということや。タンパク質とは、ポリペプチドのヒモや。なんでヒモなんか、わかるかや。

学生：

そりゃあ、DNAがヒモじゃけえじゃる。

教授：

そのとおり。DNA→RNA→タンパク質ちうセントラルドグマのずうえええええええんぶがヒモや。DNAは、偉そうにしたかて単なる文字列なんやし、朗読したらその情報はずうえええええええんぶ伝えられはる。情報には一般に朗読、せやなかったら歌、お経でもええねんが、で伝えられはるものと、そうやないもんがあるんやで。DNAに枝分れがあったら、朗読ではあんじょう表現でけへん。朗読でけへんもんは、コピーを始めとする情報処理に不向きなんや。現に今の計算機は文字列を扱ってるやる。画像でもみんな文字列にして処理してん。君のいうように、DNAがヒモやからタンパク質も余儀なくヒモになりよった。これを「DNAのヒモの呪縛」とぬかす。さらに、「人は考えるヒモである」とも言えるちうわけや。男も女も所詮ヒモの所産なんやから。

院生：

(たまりかねて) ヒモでは人にならるかよ。人は単なる文字列だったってあらずか。形があり肉体がありやあす。

教授：

ほんで次にわてが言いたいんは、形を造るんはタンパク質や、ちうこと。1次元のヒモやったタンパク質が、複雑に巻いたり折れたりして、ある形をとるわけや。これが生き物が3次元的存在である究極的な根拠や。化学的に言うたら、リボソームでポリペプチドが出来上がった瞬間に、ヒモとしてのタンパク質はすでに完成してん。せやけどダンさん、夕

ンパク質のタンパク質たるやからん、その機能、せやなかったらその全能性は、3次元的な立体的な構造をとって始めて出現するちうわけや。

学生：

ほんじゃ、ポリペプチドは、どうやって立体構造を造るんかいの。講義で、いろんなタンパク質の結晶構造を見たが、あがぁないろんな構造が20種のアミノ酸のヒモからどうやって間違わんとおにできるんかいの。

教授：

タンパク質の立体構造ちうんは美しいね。あれをTシャツにプリントして売ったら売れるんちゃうか。コレステロールの結晶をTシャツにして大儲けした人もおるし。そらともかく、君たち、Anfinsenのドグマちうのを知っとるかね？

I-2 Anfinsenのドグマ

学生：

1次構造が高次構造を決定する？...

教授：

何を意味してんか、わかっとるやろか。1次構造ちうんはアミノ酸の結合配列のことで、高次構造ちうんはタンパク質の立体構造のことや。ゴチャゴチャゆうとる場合やあれへん、つまり、タンパク質の高次構造は、そのアミノ酸配列だけで決まる、ちうことや。外から情報やエネルギーを与えないからいうても、ポリペプチドはオノレで勝手に折れたたんで、高次構造を造ることが出来る。

院生：

いっつも不思議に思うんだぎゃあが、ポリペプチドが立体構造をとると、情報量が増えてまうんだぎゃあ。100アミノ酸のポリペプチドのアミノ酸配列の情報量は432ビット($100 \times \log_2 20$)だに。これが立体構造を持つとどうなるか。計算のやり方きゃ？ほんなもなあはあんまり確信あらずか、1つのアミノ酸についてペプチド結合の2面角も含めて10通りの構造をとることができると仮定するとせえやあが、332ビット($100 \times \log_2 10$)の情報新たに付け加わりゃあす。この情報はどっから湧いてくるんだぎゃあか？

教授：

卵から成体が出来るんに似とるね(答えておらん)。その故かどうか、今のうちの知識では、アミノ酸配列がわかってもほんで高次構造を予測するちうことがでけへん。ヒモから機能を持つ立体構造がどないしてできるか、こら、現在のバイオサイエンスの最大の難問とぬかしてもええやろ。いろんな生物の全ゲノムが決まって膨大な数のタンパク質の

アミノ酸配列がわかって、タンパク質の立体構造はわかりません。それ、苦労していちいち結晶を作ってX線回折で決めなければわかりません。アミノ酸配列と立体構造をつきあわせても、それをつなぐ論理がわかりません。問題と解答は目の前にあるのに解き方がわかりません。

学生：

Anfinsenさんはどがあな実験からそがあなすごい原理を見つけたんかいの。

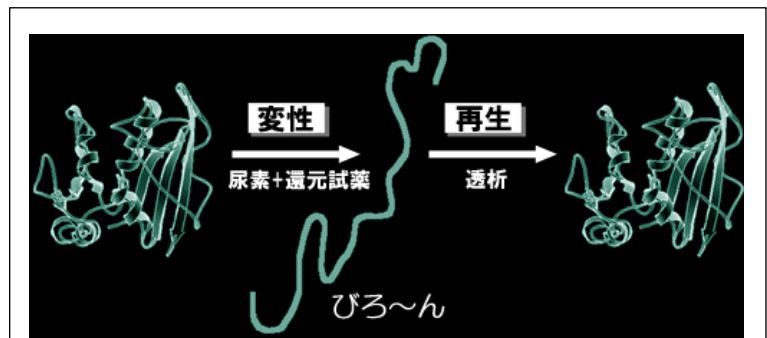


図1 Anfinsenのドグマ

変性させたタンパク質から変性剤を除くと、元と同じ立体構造・酵素活性をもったタンパク質が再生する。この実験より、「アミノ酸配列が立体構造を決定する」というドグマが

教授：

Anfinsenは1960年代に試験管内でリボヌクレアーゼAの変性・再生の研究を行ったタンパク質科学のパイオニアや。いっちゃんはじめに、彼は活性を持った精製リボヌクレアーゼに高濃度の尿素を加えて変性させた(図1)。タンパク質に尿素や塩酸グアニジンを高濃度に加えるとタンパク質の立体構造は崩れるんや。そないにして変性したリボヌクレアーゼの溶液から尿素を透析で除去したちうわけや。すると、変性して失活しとったリボヌクレアーゼは、もっかい元とまるっきし区別のつかない正しい立体構造をもった酵素に戻ったんやね。今から見れば、ごく簡単な実験や。

学生：

でも、たった一つのタンパク質の実験例から、すべてのタンパク質にあてはまると宣言してもええんか？

教授：

鋭いのう。タブン...たぶんやで、わいもよー知らんがタブン普遍的な法則やると考えられとるが、例外があらへん、とは断言でけへん。数年前に、君たちの先輩から、それやったら数学のフェルマーの定理と同じちゃうか、と言われたが、フェルマーの定理は例外無しに成り立つことがこの間に証明されてしもた。バイオの世界では、例外があらへん、と証明するんはややこしい。そやけど、Anfinsenのドグマが成り立たんゆう、確かいな例外はまだ無いと思うわ。

院生：

しけどがよお、おみやあさん、ええきや先生、Anfinsenのようにやっても試験管の中であんばあよお折れたたみのでっきーせんタンパク質はごまんとありやあすよ。

教授：

まあ、そら最適な条件が見つからへんだけやろ……。そやけど、わかった気になって疑問を持つことまで忘れてしもたようなことはあった思うわ。Anfinsen の実験はあくまでも試験管内で行われたもんで細胞内でのことまではなあんも踏み込んではおらん。ほんでも長い間、みなが Anfinsen のドグマは細胞内でも同様に成り立つ、と単純に信じきった。せやから、細胞内のみなポリペプチドは高次構造を持ったタンパク質であるんや、となあんもせんとホツラかしといても考えてまう。せやけどなあ、ここ何年かのうちに明らかになりよったんは、「細胞のなかでは、機能的な高次構造を持ったタンパク質は、ポリペプチドの1つの存在形態にすぎへん」 ちうことなんや。

I-3 折れたたみ、折りたたみ、フォールディング

学生：

他の存在形態があるんか？

教授：

例あげたるか、たとえばやな、リボソームで作られはった直後のポリペプチドはヒモであって決まった形があらへん。この変性状態から機能的立体構造になるまでのプロセスは折れたたみとかフォールディング (folding) とか呼ばれるちうわけや。機能的立体構造のことは、通常、天然構造とかネイティブな (native) 構造と呼ばれとる。タンパク質のフォールディングは、どエライ大切な制御されたプロセスやということがここ 10 年くらいの間に認識されるようになってきたんや。「タンパク質は、タンパク質として生まれるのではない、タンパク質になるのだ」 ちうわけや。

学生：

ところで、フォールディングを「折れたたみ」ゆっとなったが、「折りたたみ」じゃあいけんのんか？

教授：

「折りたたむ」は他動詞やから、ホンマは主語が必要や。「(日曜日) ちょっとアンタ！洗濯物を折りたたんどいて！」ちうようにや。ポリペプチドはオノレで勝手に「折れたたむ」ちうわけで、自動詞が Anfinsen のドグマに忠実な日本語となるんや。その点、毛唐のセリフの fold は、自動詞も他動詞もどちらも含むさかい、便利ええんや。

I-4 タンパク質の疎水性領域は両刃の剣

学生：

そもそも、なんでポリペプチドは折れたたんでしまふんかのう？ヒモのままじゃあいけんの

んか？

教授：

ほな、おおざっぱに図解しよか (図 2)。次の 3つのステップで考えるちうわけや。

1) ポリペプチド鎖が自由に動いとる完全な変性状態。変性状態は Denatured ちうさかい、D 状態としておこうか。

2) 疎水的なアミノ酸のしこたまある領域が内側に、親水的なアミノ酸は表面に出るようにポリペプチド鎖が折れたたむ。こ

れに前後して、 α ヘルックスやら β シートやらの 2 次構造と呼ばれる主鎖間の規則的な構造ができるちうわけや。中間的な状態やから、intermediate の I 状態としよう。

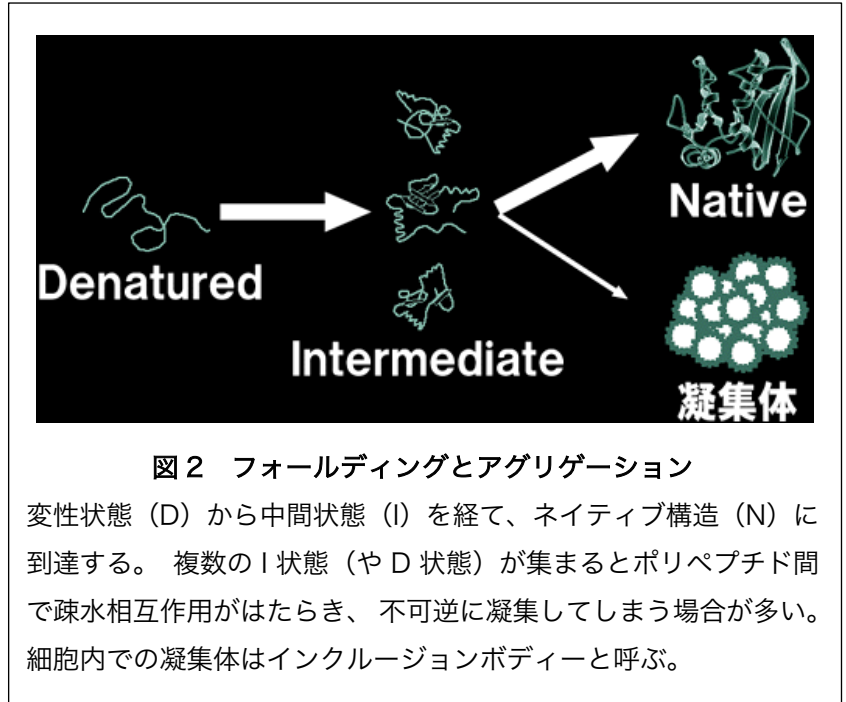
3) アミノ酸側鎖の間の水素結合や静電力やらの非共有結合が形成され、機能をもつ安定な立体構造に落ち着く。Native 構造の N 状態と略しまひよ。

院生：

(これでは、なんで？という質問の答えになってないと思って) 水の中に油は溶けすか。油は油どうしでまとまろうとしやあす。おんなじく、ヒモの中の疎水性のアミノ酸残基はおたがいに集まって水に接する表面積を最小にしよみやあとしやあす。ほいでよお、疎水的なアミノ酸が内部に入り込むでかんわ。できあがったタンパク質はコンパクトな球状の「まんじゅう」のみたやあなもんだだに。早よ言やあ、内部には「あんこ」のように疎水性のアミノ酸残基が集まったりやがるちゅうこったぎやあ。表面の「皮」は親水性のアミノ酸残基だに。

教授：

だけどこの疎水的な相互作用ちうんは両刃の剣や。1本のポリペプチド分子の中だけでこの力がはたらけば正しい立体構造に至るちうわけや。しかしな、複数のポリペプチド間で疎水的な相互作用がはたらけば やっかいなことになるちうわけや。D や I 状態のポリペプチド同士のあいだで疎水性領域がくっついてまうと、ポリペプチドは絡みあって塊となり沈殿してもうて、ふつうは二度と元に戻れへん。これが生命の大敵、タンパク質の凝集や (図 2)。



I-5 細胞の中は濃厚なるタンパク質スープ

教授：

試験管の中で、あんじょう折れたたみのでけへん場合、その原因のようけは、フォールディング途中でポリペプチド同士が凝集してまうちうこっちゃ。

院生：

わし、ただやあま、組換え遺伝子で発現させたタンパク質が細胞の中でアグって (aggregate のラボ略語) インクルージョン・ボディー (Inclusion bodies; 封入凝集体) になってまって往生してやあす。このインクルージョン・ボディーを取り出して、試験管の中でどなけんいるんな条件で試してまったら、活性を持ったタンパク質が再生しーせんんだぎゃあよ。ほいでおそれよおけありゃあがるも Anfinsen さんに苦情を言いたやあ気分なんだぎゃあ。

教授：

インクルージョン・ボディーはタンパク質工学の大きな障害のひとつや。これから活性を持ったタンパク質を再生する一般的で確実な方法を見つければ、そら大発見や。リボソーム上で生を受けた未熟なタンパク質 (新生ポリペプチド) は、本来やったらどなたはんの助けも借りんと一人前になれるはずや。それやのになんで、インクルージョン・ボディーが生じるか。実は、細胞の中は、Anfinsen のドグマがすんなりと実現するんが厳しい過酷な環境なんや。

学生：

どうも聞いとると、Anfinsen のドグマは総論 OK じゃが、各論じゃああんまり実的じゃあないみたいじゃの・・・。

教授：

試験管の中にたった1つのポリペプチドがあるとするや。そうすると、こら凝集しようにも相手がおらんから、どないしたかて Anfinsen のドグマの通りフォールディングするちうわけや。タンパク質濃度が高なるとそうはいかへん。折れたたむ前に隣のポリペプチドに遭遇して凝集してまう。細胞の中ちうんはタンパク質がどるどるに溶けた濃厚なスープのようなもんなんやで。100mg/ml 以上、つまり10%以上で溶けてんねん。こってりスープなんや。新生ポリペプチドの濃度だけでも1mg/ml 以上に達するらしおます。その中で凝集を避けてフォールディングするんは至難のこっちゃ。

院生：

先生、新生ポリペプチドの 3 割が天然構造になれーせんちゅう報告がきょうびありやがったがなも。ほんなたーけたに失敗が多て生き物は大丈夫なんだぎゃあかなも。ポリペプチドの合成に使ったエネルギーが無駄になって大損だちゅーこったけどがよお。

教授：

わてはあの論文に半信半疑やけど、考えてみると、ほとんどシッパイなく 天然構造になるゆうムカシからの思いこみにも確証があるわけとちゃうんや。シッパイしたポリペプチドがアミノ酸まで分解されてリサイクルされるんやったら、まだええ。多数のポリペプチドがからまりあって凝集体になってしまたら、エネルギーの無駄だけではすまへん。本日この時まであんまり注目を集めてこへんかったが、タンパク質の凝集ちゃうんはおもた以上に細胞の中で悪さをしてんようで、凝集体のせいで、細胞が、ひいては個体が死ぬこともあるんや。ほんま恐ろしいこっちゃー。

学生：

でも、結局、細胞内じゃあきしゃっとタンパク質のフォールディングが起こるんじやお。そうでないと、わしらあ生まれてこんかったはずじゃし。

II章 分子シャペロンの概念

II-1 分子シャペロンとは

教授： そのとおり。フォールディングに過酷思われる細胞の中でも凝集を起こさせへんし、正しいフォールディングを進行させるためのシステム、これが分子シャペロンや。 実際、シャペロンの能書きはもともとタンパク質のフォールディングを助ける 役割から提唱されたもんなんや。分子シャペロンの当初の定義は、「未熟な状態の タンパク質に一時的に結合し、成熟するのを介添えする世話役タンパク質」と 定義されたちうわけや。簡単に言うたら、タンパク質のフォールディングを助ける一群のタンパク質や。 せやけどダンさん、現在ではフォールディングにとどまらへんし、さまざまな細胞機能の制御に シャペロンは関わることがわかってきたちうわけや。シャペロンの能書きが 拡張するに伴って細胞の中でのシャペロンの役割の重要性がますます認識されてきた、 とぬかしてもええかもしれへん。

学生： ところで、シャペロンってどがあな意味なん？

教授： シャペロン (chaperone) の意味は「社交界にデビューする若い女性が立派な レディーになるように介添え後見役をする婦人」や。実際は、盛んな多感な年ごろに 良くない男と不純異性交遊 (ヒヒヒ) をせんように見張っとったらしいが、 まあそれはとにかく、この命名はしゃれてて的を射とる。 バイオの方では、「婦人」と混同せんように、「分子」シャペロンと呼んどるが、 きょうびでは単にシャペロンちう場合も多いな。

参考資料 1 ルノワール作 「[ムーラン・ド・ラ・ギャレット](#)」 (1876)

II-2 シャペロンはファミリーをなす

学生： シャペロンもタンパク質じゃったら、その折れたたみにも またシャペロンが必要で、きりがないんじゃあ？

教授： いや、シャペロンにはいくつかのグループがあり、それぞれがようけの タンパク質の難儀をみることが出来るちうわけや。シャペロンの折れたたみも グループの間で協力したらよいやろ。どないなグループがあるかちうと、 シャペロニン (GroEL、Hsp60)、Hsp70 (DnaK)、 Hsp90 (HtpG)、Hsp104 (ClpB)、 Hsp27 (IbpAB) やらなんやらが普遍的に存在するシャペロンやろか。(カッコ内は大腸菌の場合の名称やで)。他にも特定のタンパク質が フォールディングするちうときに必要な専属シャペロンも数ようけある。PDF ファイル (たった 5KB) で表 1 を開いておくんなはれ。

学生： Hsp っちゅうのはなんのことなん？

教授： Hsp とは、Heat shock protein、すなわち熱ショックタンパク質の頭文字を取った略称や。実はシャペロンのほとんどは熱ショックタンパク質なんや。

II-3 分子シャペロン研究小史 – 熱ショック応答から分子シャペロンへ

教授： 熱ショックタンパク質とは、熱ショックストレスに応答して発現が誘導されるタンパク質、要は、細胞を高い温度にさらした時にどっと合成されるタンパク質のことや。熱ショック以外のストレス、例えばなあ、重金属、砒素、エタノール、活性酸素、アミノ酸誘導体やらなんやらの有害物質によって応答が起こる場合も多いのでより広く意味をとってストレスタンパク質とも言われるちうわけや。分子シャペロンちう名称が定着したんは1990年代と比較的新しいが、細胞レベルでの熱ショックに関する研究は古くさい。キイロショウジョウバエの胚に熱ショックを与えるとフェノコピー変異と言われる遺伝子変異を伴いまへん変異が起こることが1930年代に見つこうておるからや。さらに、1960年代にはショウジョウバエ幼虫を高温にさらすと唾線染色体のパフのパターンが大きく変わることが見つかったちうわけや。その後、この熱ショックパフの領域では Hsp70 や Hsp90 やらなんやらの mRNA がしこたま作られとることがわかったんや。1970年代も後半になると大腸菌、酵母、さまざまな真核細胞でもストレス応答が存在し、Hsp が誘導されることがわかってきたちうわけや。しかも、重要なことにそれらの Hsp は種を越えて進化的に保存されとったんや。

学生： わしらも Hsp を持っとるんか。

教授： 当たり前やがな。うちらは体温をもっとるから熱ショックちうんはピンとけえへんが、ガンの療法で温熱治療ちうのがあるんや。熱ショックで Hsp を誘導したる、ちう発想や。後で話すが、他にもいろいろ局面で Hsp は活躍してんらしおます。とにかく、そうやって進化的に保存されとる Hsp がなんで高温にさらされると多量に作られはるんか、その役割はなんなんか、1980年代前半まではほとんどわからへんかった。当時の研究者の頭を悩たんや不思議なこととしては、大腸菌の代表的な Hsp である GroEL や DnaK が、大腸菌に寄生するファージの構造形成に必要なホスト（大腸菌）側の遺伝子として発見された事情もあったようや。例あげたるか、たとえばやなあ、大腸菌の GroEL 遺伝子に変異があると、ファージ頭部のタンパク質はポリペプチドとしてはちゃんと合成されるのやが、高次構造形成があんじょういかへん。

院生： だったって、先生、その頃からストレスに対する防御因子として熱ショックタンパク質が認識され始めとったんだにゃあでござるぎゃあか。例えば、酵母を 25°C から一気に 50°C にするとせえやあがほとんどの細胞が死んでしまうのに、25°C かりゃあったん 37°C

にして ちいとの間してから 50°Cにするとせえやあが生存率がぐっと高なってまうぎゃあ。いったん Hsp を作らせるとちいとの間の間、細胞はストレスに強なるんだぎゃあ。

教授： そら Thermotolerance、すなわち Hsp によって細胞の熱に対する耐性が高まる現象やね。はじめの 25°Cから 37°Cの温度ジャンプで Hsp の合成が誘導されて大量の Hsp が細胞内に 用意されとるさかい... 次に 50°Cになっても耐えられはる。細胞を高温にしたら 細胞内で真っ先に起こることは何やと思う？

学生： タンパク質は高温で不安定じゃけえ、変性して固まってしまうんじゃ？

教授： そやね。ほんで、その類推から 1980 年代後半に Pelham は、Hsp は熱で変性した際に 露出すると想定されるタンパク質の疎水領域を保護し、凝集をひとまず防いで、熱ショック状態が解除されたあとは離れていく、ちう鋭い仮説を提案してん。

学生： ところで熱ショックじゃけども、具体的にやあどのくらいの温度上昇を熱ショックと呼ぶんか。

教授： タンパク質ちうんはそれほど頑丈にできとるわけとちうんや。「ほんのちーとばかりの安定性」(Marginal stability) とぬかして、ぎりぎりのところで安定性を保つ仕組みになっとる。せやから、例えば、37°C で生きとる細胞をいきなり 60°Cやなんて温度に上げると タンパク質はあっちう間に変性してまう。その場合、熱ショック応答が 起こる間もなく細胞は死んでまう。生理的な温度よりも 5~10°C程度高い 温度が熱ショック応答をつよ引き起こす。

学生： 80°C以上の温泉でもどんどん増殖するバクテリアがいるらしいのお。内部のタンパク質は高温でも安定っちゃうことじゃけど、そうゆう 好熱性の生物にも熱ショック応答はあるんかいの？

教授： あるんや。好熱性細菌のタンパク質は確かに安定やけど、生育にちょうどよい温度を ちびっと超えるとや



っぱり不安定になるちうわけや。そらたとえ好熱菌といえども同じや。タンパク質ちうんは細胞の生育温度付近であんじょう機能するようにできてて... 余分な熱安定性はもっておらへんちうわけや。さて、そうこうするうちに意外なトコから、シャペロンの意味と普遍性がどなたはんの目にもはっきりする発見が発表されたちうわけや。米国の Lorimer たちは葉緑体の中 Rubisco と呼ばれる炭酸固定に重要な酵素の研究をしとった。Rubisco が活性を持つには、Rubisco 結合タンパク質と呼ばれるタンパク質が必要なことが 1980 年代初頭には知られとった。この Rubisco 結合タンパク質は、Rubisco が高次構造を作るときに一時的に必要なだけで、最終的には Rubisco から離れていく。Rubisco 結合タンパク質の遺伝子配列を調べてみたら、思いがけへん事実が明らかになりよったんや。Rubisco 結合タンパク質と大腸菌の主要な Hsp の一つ GroEL のアミノ酸配列がどエライよう似とったのや。この高い相同性は両者が同じような機能を持つとることを示す。かいつまんで言うとな、要は、大腸菌のフェージタンパク質の高次構造形成と葉緑体の Rubisco タンパク質の高次構造形成が、進化的に同一のタンパク質によって「触媒」されとったのや。それと前後してミトコンドリアにある Hsp60 も GroEL とどエライよう似とることがわかってきたちうわけや。ほんで始めて、なんで GroEL が熱ショックタンパク質なんか、合理的に理解するちうことが可能になりよった。GroEL は、熱で高次構造が壊れかかったタンパク質を助けるのや。

学生：ほいで、シャペロンちゅう概念が成立したんじゃのお。

教授：Rubisco 結合タンパク質の研究をしとった英国の Ellis は、1987 年に「タンパク質の構造形成を助けるが、自らはその構造の最終成分にならへんタンパク質ファミリー」をまとめて「分子シャペロン」と呼ぼうか、と提案したちうわけや。ついでに、1988 年、GroEL=Rubisco 結合タンパク質、(後には、Hsp60 ファミリー) を典型的な分子シャペロンちうことでまとめて「シャペロニン」と名付けた (図 3)。

院生：実は、分子シャペロンちゅう能書きは、別のタンパク質に対して 1978 年に最初に使われてまったがなも。DNA とヒストンからヌクレオソームを形成する際、その両者を混ぜるだけだと沈殿を生じるけど、ヌクレオプラスミンちゅうタンパク質を入れておくとヌクレオソームが形成されてまうんだに。酸性タンパク質のヌクレオプラスミンは塩基性タンパク質のヒストンとうみゃあ あんばやあに相互作用してヒストン-DNA 間の望ましにゃあ相互作用を抑えがてら、ヌクレオソーム形成を助けるでよお、ありがたやあ話したなも。だったってヌクレオソームの構成成分とはなれせん。まさに分子シャペロンだにゃあ。

教授：そらともかく、みんながもやもやと感じとった何ぞを分子シャペロンちう能書きで束ねた Ellis の功績は大きいでえ。それ以後、分子シャペロンの研究は明らかに加速したちうわけや。

学生： こがぁに大切な役割を果たしとるシャペロンがほんの 10 年くらい 前まで知られていなかった、ちゅうなぁ意外じゃの。

教授： 確かに。GroEL やなんて大腸菌のなかにざっくざっくあるタンパク質やのに注目する人は少へんかった。 シャペロンの発見が遅れたんは、シャペロンが細胞内において縁の下の力持ち的な 役割やからかもしれへん。 うちら生命科学者は、化学反応を触媒する酵素のような わかりやすーいタンパク質の発見・研究に躍起になってきたんや。 シャペロンのような目立たへんタンパク質は視野に入ってこへんかった。 シャペロン研究が、ストレス応答ちう細胞にとって危機的な特殊状況の研究から スタートしたんもむべなるやるか、ちう気がするで。

学生： そうじゃの。ストレス応答時にゃあ、Hsp が「目立つ」ようになるけえのお。

教授： そうやて、細胞が熱ショックをどう認識してんか、さらに Hsp 誘導は転写・翻訳レベルでどうなっとるんかに関しては日本の研究者が優れた研究を してんねんさかい、そっちの総説を読むとええ。(シュプリンガー・フェアラク社 「分子シャペロンによる細胞機能制御」がようまとまっててお薦めやで)

シュプリンガーフェアラク東京 「分子シャペロンによる細胞機能制御」

共編：永田 和宏、森 正敬、吉田 賢右

新たに合成されたポリペプチドの折れたたみ、タンパク質の輸送と品質管理、不要になったタンパク質の分解など、分子シャペロンはタンパク質の一生にわたりその面倒を見続けている。

III章 ゆりかごから墓場まで

III-1 タンパク質の一生は生々流転、波瀾万丈

教授： さて、シャペロンが新生ポリペプチドのフォールディングや熱ショック時に 働いていることを話してきたが、それ以外のどないな場面で活躍してんか、俯瞰してみまひよ。ここでは、タンパク質を人になぞらえて、誕生から死ぬまでの一生を考えてみるで。「人生は流れる川のようにいかない」が、タンパク質の一生もまた然りなんや。誕生と成熟、移動、伴侶や仲間との出会いと別れ、病気および回復、役目を終えた後の 分解・消滅やらなんやら、その折り目ごとに危機があり、間違いもケツタイながら、一生を終えるのや (図 4)。もちろん、その間に与えられた仕事をこなすわけやけど。タンパク質は昔思われとったほど、どなたはんも頼りにせんとい一生を過ごすもんでもなかった。人と同じで、「社会的に生きている」んや。

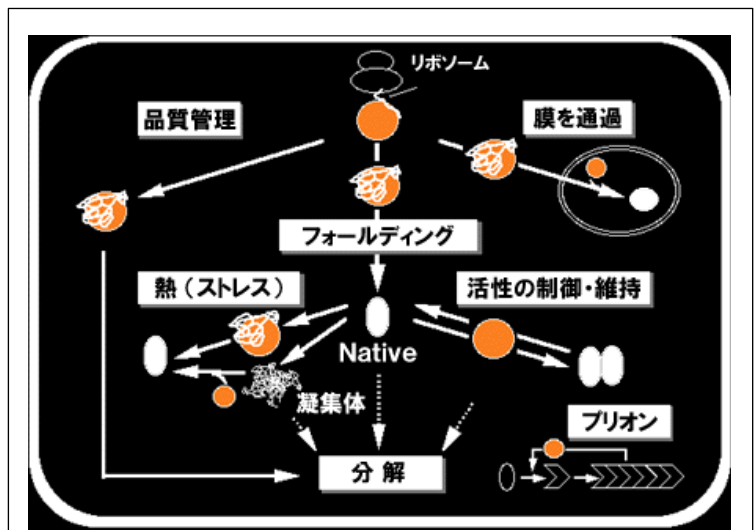


図 4 タンパク質の一生とシャペロン

「ゆりかごから墓場まで」、すなわちタンパク質が誕生してから死に至るまでシャペロン (オレンジ色) はケアをする。細胞内の手厚い総合社会保障システムである。

学生： DNA の方は核の中におさまって自ら動かさず指令を出すだけ。ほいで 40 億年の永遠の生命を楽しむ。タンパク質の方はあちこち出向いて 忙しゅう働き回ってそのうち仲間に始末される。身につまされますけえのー (泣)。

教授： その波瀾万丈の過程をみなものタンパク質、ポリペプチドについて考えると、そらまさに細胞の生存と変遷そのものである、とぬかしてもええやろ。「細胞はポリペプチドの運動形態である」(核酸はシカト!)となるな。これを“プロテイン・フラックス”と呼びまひよ。日本語で言うたら、「蛋白質は生々流転なり」とでも言えるやろ。細胞内のタンパク質が幸せな 一生を全うできるように、あらゆる細胞は分子シャペロンを備えとる。分子シャペロン自体もタンパク質であるから、したがってこらタンパク質世界の 自己管理システムとでも言えようか。タンパク質は、この分子シャペロンシステムに 依存して「自己実現」してんとぬかしてもよいちうわけや。

学生： シャペロンは「ゆりかごから墓場まで」タンパク質の世話をしとるんじゃのお。

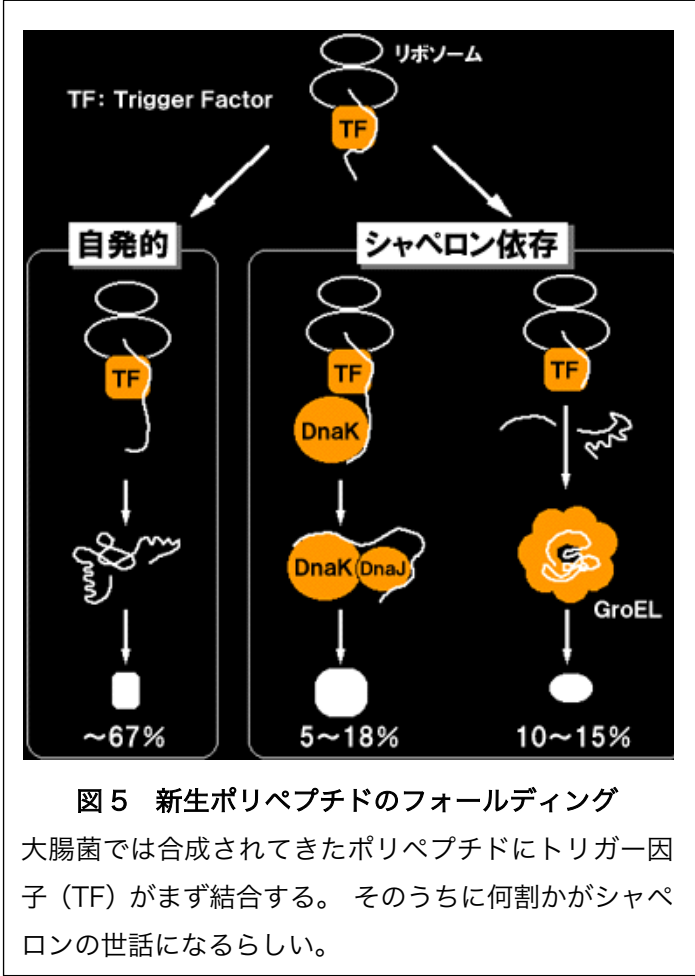
教授： では、産まれるトコから。

III-2 タンパク質の誕生

教授： タンパク質はリボソーム上で N 末端から順次合成されてくるやろ。 ちうことは、合成途中では N 末側の疎水性領域は裸やいうことになるちうわけや。 もし、何のガードもなければ、正しくフォールディングでけへんかったり、 隣の新生ポリペプチドやらなんやらの疎水性領域とベタベタ結合してしもて、 凝集体になってまう。 そうならへんように新生ポリペプチドを隔離して 育て上げるシャペロンシステムが巧妙に進化してきたちうわけや。 例えば、わりあいようわかっとる大腸菌の場合、新生ポリペプチドの フォールディングはだいたい次のようになっとる (図5)。 いっちゃんはじめに、リボソーム上で伸長しつつあるポリペプチドのようけはトリガー因子(Trigger Factor) ちうシャペロンとまず相互作用するんや。 トリガー因子はリボソームに直接結合して、 翻訳に伴いながら (co-translationally) 新生ポリペプチドを待ちかまえとるらしい。

院生： トリガー因子はプロリン異性化酵素だったってありやあす。

教授： そやけど、そのプロリン異性化反応が新生ポリペプチドのフォールディングに 役立つとるかどうかは、わかっておらへん。 トリガー因子と結合した、出来たての ポリペプチドは、さらに別のシャペロンシステムに受け渡される場合と、シャペロンの援助なしでフォールディングするものに分かれるんや。 DnaK シャペロンシステムには新生ポリペプチドの 5-18%が受け渡されるらしおます。 分子量 30kD 以上の大きなタンパク質を特徴的に結合する傾向にあるんやて。 その後、DnaK は DnaJ、GrpE やらの補助因子や ATP のエネルギーも使うて 新生ポリペプチドのフォールディングを助けるちうわけや。 余計なお世話やけど、大腸菌は DnaK を欠損させても (常温では) 生きていけるが、トリガー因子と DnaK を 共に欠損させた場合には死んでまう。 基本的には両シャペロンは共同して 新生ポリペプチドのフォールディングを助けるようやけど、両者の機能はある程度重複してて、 お互いに補完できるようや。 もう一つのルートも知られとる。 シャペロニン GroEL には、 翻訳後に (Post-translationally) リボソームから離れ



た新生ポリペプチドが結合して、やがて離れてゆく。ドイツの Hartl らは、細胞内で実際にシャペロン GroEL に結合してタンパク質を 2 次元電気泳動で展開して 300 個ほどのスポットを確認してん。こら可溶性タンパク質総数（約 2500 個）の 10% 強に相当するちうわけや。さらに、そのうちの 52 個に関してはタンパク質の同定までやとる。その結果、GroEL に結合するタンパク質の特徴として、i) 分子量 20-60kD のポリペプチドであること、ii) α/β ドメイン構造もつタンパク質が結合しやすいこと、を明らかにしたんや。

院生： Hartl の結果は、生きとる大腸菌の中で GroEL に結合しとりやがるタンパク質だにゃあ、大腸菌を破碎してから後に GroEL に結合したタンパク質を見とる疑いがある、とわしは思おるぎゃあ。フタである GroES が無いもんだで。大腸菌を壊らかすときに他の細菌を意図的に混ぜて、ほいだったって他の細菌のタンパク質は一切 GroEL に結合しておれせんでかがやので結果は変われせん、ちゅうよーなデータを見してほしいと思おるぎゃあ。

教授：君は毎日毎晩一年中 Hartl に厳しおまん。まあ、批判的に見るんはええことやが。

学生：自発的に、すなわち自力でフォールディングするタンパク質もあるんじやの。どのくらいの割合なんですかいの？

教授：最新の報告によると、自力でフォールディングするんはだいたい 60% くらいらしいおます。せやけどダンさん、この見積もりは実験の性格上、低めの見積もりと推定されとる。なんでやったら、DnaK や GroEL やらのシャペロンと新生ポリペプチドの相互作用は、シャペロンに対する抗体を用いた免疫沈降実験を元にしてんねんさかい。免疫沈降の実験ではつよ結合したもんしか検出でけへんのや。実際にはもっとももっとももっとももっともようけの新生ポリペプチドがシャペロンと相互作用してん思われるちうわけや。

学生：大腸菌もヒトも同じなんか？

教授：ちーとばかり役者が変わるようや。「新生ポリペプチド結合タンパク質複合体 (Nascent chain-Associated Complex: NAC)」と呼ばれるシャペロンが出来たてのポリペプチドを守るらしいで。それと相前後して Hsp70 が結合するちうわけや。その後は、いろんなシャペロンが関わるらしいが、まだはっきりとはわかっておらへん。真核細胞のシャペロンである CCT (TCP-1) が主に細胞骨格系のタンパク質、アクチンやチューブリンのフォールディングを助けとることはわかっとる。また、Hsp90 もタンパク質のフォールディングにある程度関わるとると言われとる。

学生：意外とわかっとらんみたいじやの。膜タンパク質はどうなっとるんかいの？疎水性

のアミノ酸の含有率が高いけえ、よけい凝集体になりやすいんじゃないかと思うんじゃが。

教授： 膜タンパク質のフォールディングちうんは、あんまり研究が進んでおらへん。膜タンパク質の膜内部分はほとんどの場合 α ヘリックスやから、いったん「膜の中に挿入」(うひひひ...おっとカンニンや)されると、あとはそのヘリックスを正しく配置するだけやから、かえって天然構造を 取りやすいんかも知れへん。そうすると、どないして膜の中に挿入するかが問題になるちうわけや。 それにはタンパク質の膜透過の装置の助けもかりとるらしいな。

III-3 タンパク質の移動 – タンパク質が膜をすり抜けるには・・・

教授： 次は、タンパク質が膜を通過しているんな場所に移動する場合やが (詳細はシュプリンガー・フェアラーク社「分子シャペロンによる細胞機能制御」 III 章-2「輸送」を参照)、ミトコンドリアや葉緑体のような細胞内小器官 (オルガネラ) 内のタンパク質のようけは細胞質からオルガネラに輸送されるんや。

学生： あれ、ミトコンドリアや葉緑体は自前の DNA を持つとるけえ、わざわざ移動する必要なんてないんじゃあ・・・。

教授： そやけど、自前の DNA でまかなえるタンパク質はごくわずかや。 ミトコンドリアや葉緑体のタンパク質の大部分は核 DNA にコードされとる。

学生： なるほど。それなら、細胞質で作られたタンパク質は ミトコンドリア膜を通過して中に入らんにはあならんのお。

教授： それ以外にも、分泌タンパク質や膜タンパク質などは、小胞体を經由して、持ち場に移動するんやが、その場合も小胞体膜をすり抜けねばならへん。 大腸菌やらなんやらのバクテリアの場合も分泌されるタンパク質は膜を通過せなならへん。

学生： なんじゃあかんじゃあゆうても膜は油でできとるわけじゃのお。 水素イオンすら通さん生体膜を水溶性のタンパク質がすり抜けるんは難しそうじゃの。

教授： そのとおり。やけど、実際には油の中を突っ切って通過してんわけではおまへんんや。 通過する際には、膜の中にある専用の透過装置を利用してん。ミトコンドリアは外膜、内膜と 2 枚の膜があるが、それぞれに Tom、Tim 複合体ちう タンパク質膜透過装置があるんや。Tom (Tim) とは、 Translocase of outer (inner) mitochondrial membrane の略やで。 大腸菌でタンパク質が菌体の外に分泌されるときには、Sec 複合体 (SecA および SecYEG) が必要や。

学生：ところで、あるタンパク質が、ミトコンドリアに行くかどうかってゆうなあ何が決めるんかいの？

教授：一般的にはタンパク質のアミノ酸配列の中に書き込まれた「シグナル配列」が行き先を決めるちうわけや。ミトコンドリアに移動するタンパク質の場合、N末端にシグナル配列が付加した前駆体でまず合成され、膜を透過したあとには、このシグナル配列は切り取られる場合が多いと言われとる。

学生：先ほど、ミトコンドリアにゃあ膜が2枚あるゆうとったが、その場合シグナル配列は2種類あって、膜を越える度に切断されるんか？

教授：いや、ミトコンドリア内に輸送されるタンパク質のほとんどは2枚の膜を一気に通り抜けるちうわけや。つまり外膜と内膜の接してん部分にあるTom複合体とTim複合体を通過して内部のマトリックス領域に運ばれんねん。このときにシグナル配列は切断されるんや。

学生：タンパク質の膜透過は、タンパク質が完全にできあがったあとに起こるんか？それとも、リボソーム上でのタンパク質の合成と同時に通過するんじゃろおか？

教授：膜透過が翻訳後(post-translationally)に起こるんか、それとも翻訳に共役して(co-translationally)おこるんかは、どエライ昔から論争になっとる。小胞体の場合は翻訳といっぺんに膜透過するらしい。ミトコンドリアの場合は、翻訳後でも膜透過できることがわかつとる。

学生：翻訳後、ちゅうこたあポリペプチドがフォールディングして天然構造になっとるかもしれん。フォールディングしたあとでも膜を通過できるんか？

教授：いや、そらでけへん。前駆体タンパク質は、ほどけた状態、ヒモ状の変性状態でしか膜を通過でけへんことがわかつとる。しかしな、フォールディングしたのをあらためてまた構造をとほして膜を通過させることができるんや。

院生：いったんフォールディングしたタンパク質だつたって尿素で変性さすとミトコンドリアに移動できる、ちゅう有名な実験がありやあす。ただ、ときほぐすパワーはオルガネラの種類によってずいぶんちがうようだに。葉緑体の包膜ではそのパワーが強いのに対し、小胞体膜ではそうだつたてにゃあらしいですもんだで。

学生：じゃあ、ポリペプチド鎖の合成が完了した後でも、フォールディングせんようにし

ておく必要があるんじゃないの。いったんフォールディングしたタンパク質はどがあにしてもっぺんときほぐされるんか？勝手にぐずぐずと構造がこわれるわけじゃあないんじゃない？

教授： そのとおり。ほんで、膜の内外で分子シャペロンが手助けしてんのや。膜の外、サイトゾル側では前駆体タンパク質同士が凝集せんように Hsp70 が結合するちうわけや。前駆体タンパク質のフォールディングを 抑えてタンパク質の膜透過を助けとる。シャペロンはフォールディングを 促進するばかりでなく、必要とあれば、抑制するちうこともできるちうことになるなあ。

院生： ミトコンドリアでは、九州でーがくの三原勝芳先生のグループが発見した MSF ちゅう 細胞質のタンパク質がシグナル配列に結合して、ポリペプチドをミトコンドリア移行に 適した状態にしておくやりかたもあるようだに。

教授： さらに、膜の内側から、Hsp70 が前駆体タンパク質の端をつかんで強引に 狭い穴の中にポリペプチドを引っ張りこむさかい、そのときにときほぐされるらしおます。せやけどこの Hsp70 は、先ほどのサイトゾルの Hsp70 とは別種のもんや。さらに、膜内にある Hsp70 はポリペプチドが無事に膜を通過して目的地に 到達した後にもシャペロンは必要や。膜を通過してくるタンパク質は、ヒモ状やから中に入った後に正しくフォールディングせないけへんからな。リボソーム上で合成された直後と同じ状況になるわけや。この場合も Hsp70 が大切な役割を果たしてん。ミトコンドリアの内膜の Tim 複合体を 通過してきたポリペプチドはもっかい Hsp70 に出会うらしいで。膜透過してきたタンパク質のフォールディングは、Hsp70 に加えて ミトコンドリアのシャペロニンである Hsp60 も援助してん。

学生： しえんしえい、ちゅうと、ミトコンドリア内部にある Hsp70 は前駆体タンパク質を 「ひこずり込む」ちゅうイメージでええんか？

教授： そうや。ほんで、どないして引きずり込むかで論争が起こるとる。「ブラウニアン・ラチェット」モデルと「トランスロケーション・モーター」モデルだ (図 6)。「ブラウニアン・ラチェット」モデルによると、前駆体ポリペプチドは 膜透過装置の中で膜の内外をブラウン運動で行ったり攻めて来よったり揺らいどる。ここで、内側に入ってきたペプチドに Hsp70 が結合すると、逆戻りができなくなる。その状態で、さらにペプチドが内部に入ってくると、すかさず Hsp70 が また結合するちうわけや。この繰り返しで次々と Hsp70 が結合していくと、いずれは前駆体ポリペプチドは内部に入ってくことになるや。Hsp70 が要は爪車の役割を果たして、向きをもった移動を実現してん、と考えるわけや。

学生： それじゃ、ポリペプチドがぐり抜ける穴はずいぶんつるつるしとることになるんじやお。

教授： 穴がどうなっとるか、どなたはんでもそれを見たいので穴の 結晶化をねらっとるのやが、まだセイコウ...ひひひ、ウソや、成功しておらへん。

学生： 穴の結晶化・・・、難しそうじゃの。レンコンは穴がうまいゆうが。

教授： なにをぬかしとんねん。まあええわ、もう一つの「モーター」モデルやけど、それは Hsp70 がミオシンやらなんやらの分子モーターと同様に、ATP の加水分解と 共役して大きな構造変身を起こし、積極的に前駆体ポリペプチドを内部に引きずり込む。ポリペプチドをつかんで、有無を言わさへんし、「ぐいっ」と引き込むようなイメージや。この2つのモデルに関して、両方のモデルをそれぞれ支持するように 見える結果が出とるさかい、まだ決着はついておらへん。

III-4 タンパク質の品質管理

教授： さて、タンパク質の移動と関連して知っておきたい基礎を次に説明しまひよか。タンパク質の品質管理 (quality control) やね。(詳細はシュプリンガー・フェアラーク社「分子シャペロンによる細胞機能制御」III 章-3 「品質管理」を参照)。品質管理ちうんは、工場で規格に合いまへん製品を見つけ出して排除するための管理法のことや。欠陥品が世に出回ると、社会は迷惑、会社は製品リコールで補償騒ぎ、お父さんはリストラされて酒に溺れ、お母さんは内職で造花・封筒貼り、やがては一家離散で土管暮らし・・・ちうことになってエライこっちゃ～。近頃こんな話が多いやろ？(多くない!) 同じく、欠陥タンパク質は細胞にとっては有害なことが多いちうわけや。いろいろなレベルでの品質管理があんねんが、小胞体 (ER) で合成される タンパク質の品質管理がようわかっとるので簡単に解説しよう。

学生： 粗面小胞体で作られた分泌タンパク質や膜タンパク質は、 輸送小胞に収納されて、

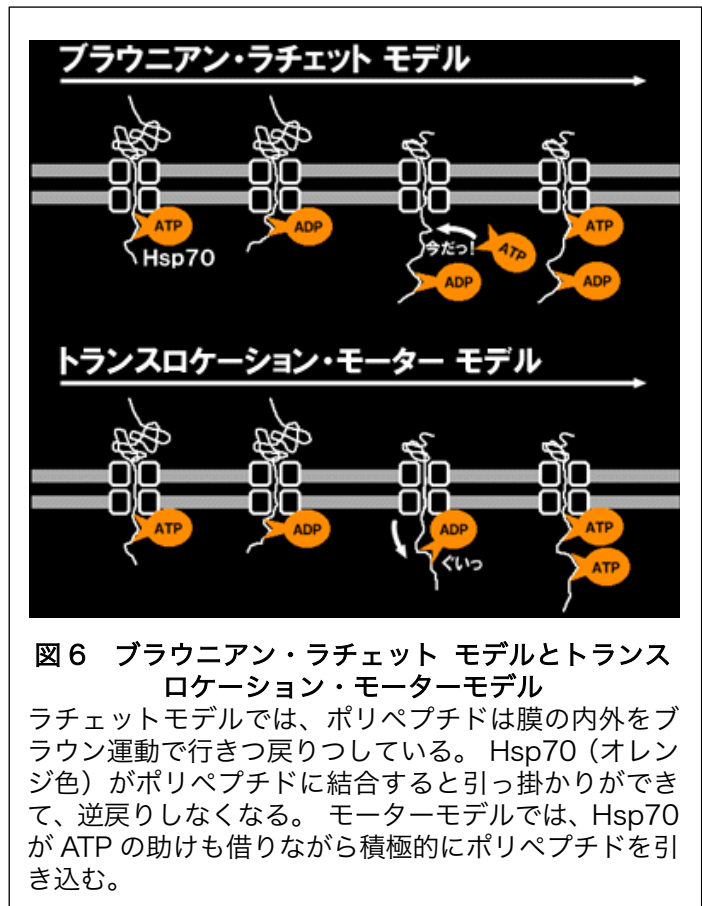


図6 ブラウン・ラチェット モデルとトランスロケーション・モーターモデル

ラチェットモデルでは、ポリペプチドは膜の内外をブラウン運動で行きつ戻りつしている。Hsp70 (オレンジ色) がポリペプチドに結合すると引っ掛かりができて、逆戻りしなくなる。モーターモデルでは、Hsp70 が ATP の助けも借りながら積極的にポリペプチドを引き込む。

ゴルジ体へ向かうんじやお。

教授： そうや。小胞体で作られはった分泌タンパク質は膜小胞に梱包されて、ゴルジ体へ輸送されるう。タンパク質はベルトコンベヤーに 乗っかっとなるようなもんや。やから、不良品を外に出さへんようにする 仕組みとして品質管理機構の能書きが使われたちうわけや。ほんで、その品質管理のシステムに分子シャペロンがはたらいとる。小胞体には、BiP (Hsp70 ファミリー)、PDI (タンパク質ジスルフィド異性化酵素)、カルネキシンといったシャペロンがあるんや。これらのシャペロンは、翻訳といっぺんに小胞体の中に送り込まれてくる新生タンパク質の フォールディングも助けるが、不良品があった場合には、小胞体内にとどめておく 役割も担っとなるんや。例えばやなあ、免疫グロブリンの 重鎖と軽鎖のように、新生ポリペプチドが他のサブユニットと集合して 複合体をつくる場合は、新生ポリペプチドは相手のサブユニットと出会うまで BiP と結合してん。凝集や、サブユニットのまんまで輸送されるのを防ぐわけや。

院生： その品質管理のしくみは、実際に病気とも関わっておるぎゃあ。例えば、 α アンチキモトリプシン (α AT) 欠損症は、 α AT が C 末端に 変異を持つために分泌が起こらなるのが原因だちゅーこったけどが、ほとんどの変異 α AT はカルネキシンと結合しとりやがるだけなだに。

教授： ほんで嚢胞性繊維症 (cystic fibrosis) も欧米人の間では深刻な病気やけど、やっぱり小胞体での分泌障害に関わっとる。この病気の場合、CFTR (嚢胞性繊維症膜貫通調節タンパク質) ちうタンパク質の糖鎖形成が異常になり、分泌されなくなり、小胞体にたまるちうわけや。最終的にはプロテアソームちう ATP 依存性のプロテアーゼ複合体で分解されることまでわかってきた。また、細胞質のリボソームで誕生してきたポリペプチドは、シャペロンの助けを 借りてフォールディングするが、不幸にも約 3 割の新生ポリペプチドは フォールディングできんと分解されてまう。その原因は転写・翻訳の段階での 間違いやということにはなっとるらしいが・・・。とにかく、こういった 間違っった産物をそのまんまにしておくとようへんからな。さっきの小胞体での 事情と同じや。きょうびわかってきたオモロイ品質管理の例として、リボソームで 不良タンパク質ができつつあるんを見つけるやいなや、C 末端に目印 (タグ) を付けて分解系にまわす現象がわかってきたちうわけや。

院生： 大腸菌で見つかった ssrA タグの系だにゃあ。大腸菌の ssrA 遺伝子の転写産物の 10sRNA は Ala の tRNA に似た性質と mRNA の性質とあわせまっとりやがるちゅーこったぎゃあ。ストップコドンのにゃあ欠陥 mRNA はリボソームから離れることができせんもんだでよお、リボソームはそのまんまではお終いだに。ほんだったって、10sRNA が結合し、ポリペプチドの末端に 10 残基のペプチド (ANDENYALAA) をくっつけてリボソームから 離れるちゅーこったぎゃあ。こうやってできた新生ポリペプチドは不良品だもんだでよお、ClpAP や ClpXP ちゅーよーなプロテアーゼ複合体が ssrA タグを認識して分解するんだぎゃあ。

教授： 欠陥品の新生ポリペプチドにタグを付けて除去するシステムは 真核細胞にもあるようや。何らかの理由でフォールディングに失敗した 新生ポリペプチドはユビキチン化されたあと、プロテアソームの分解系によって 消化される。分解系に回される新生ポリペプチドは何と 3 割にのぼるそうや。

院生： ほんだったってってほれぐりゃあで驚いと思ったらかて、まんだあるでかんわおもれえのは、切断されてまいやがったペプチドはクラス I の MHC タンパク質に結合して 免疫系に提示されてまうんだぎゃあ。細胞は廃物をもしっかりと利用しとりやがるんでかて。

学生： 何だか免疫系に提示するためにわざと 3 割も分解しとるような気さえするんじゃけど。

III-5 ストレス防御・ダメージを受けた後の回復

教授： さて、次は細胞のストレスへの対処法や。細胞に熱やらなんやらのストレスがかかると、一群の熱ショックタンパク質の合成が誘導されるちうわけや。基本的には、タンパク質が熱変性で不可逆に凝集するんを防ぐためや。

学生： ふだんでもタンパク質は徐々に、そじゃなかったらたまたま変性するんじゃろお。

教授： そうやと思うわ。せやから、ほとんどの熱ショックタンパク質は平常時にも 有る程度合成されてて、重要なはたらきをしてん。例えば、大腸菌の GroEL は、低温から高温に至るまで、どの温度域でも生存に必須のタンパク質や。

学生： それから、いなげな細胞はどがあにして高温になったことを感知して Hsp を大量に合成するんじゃろおか。何か温度計が細胞に潜んどるんか？

教授： タンパク質自身が「温度計」としてはたらいとるとでも言うやるか。その仕組みはなかなかできとるから、大腸菌の場合で説明しよう。熱ショックタンパク質の mRNA の合成は、ストレス特異的な転写因子 $\sigma 32$ が RNA ポリメラーゼコア酵素に結合して各 Hsp 遺伝子の熱ショックプロモーター領域と 結合するちうことで誘導されるちうわけや。この $\sigma 32$ ちうタンパク質は、通常の生育温度では DnaK や DnaJ と複合体を形成して不活性型になっとる。この状態やとタンパク質としての寿命は、半減期約 1 分と、どエライ短い。したがちう、 $\sigma 32$ は平常時には転写因子として働く間もなく短いサイクルで代謝されていく。一方、熱ショックにさらされると細胞内のようけのタンパク質が変性するちうわけや。変性したタンパク質に DnaK が結合するちうわけや。すると $\sigma 32$ に結合する DnaK が不足して、遊離の $\sigma 32$ が増えるちうわけや。その結果、 $\sigma 32$ は RNA ポリメラーゼコ

ア酵素と複合体を形成し、Hsp 遺伝子の発現が促進されるちうわけや。結局、細胞内のタンパク質の変性が温度計代わりになっとる。

学生： じゃあ、DnaK が熱で変性したタンパク質全般の面倒を見とるんか？

教授： DnaK が大切な役割を果たしてんは事実や。せやけどダンさん、熱ショックで DnaK 以外にも Hsp60 (GroEL)、GroES、Hsp104 (ClpB)、Hsp90 (HtpG) やらなんやらさまざまな熱ショックタンパク質が合成される (大腸菌の場合)。それらが、タンパク質の熱変性をどないな風に協調して防ぐか、もしくは別の役割をはたしてんか、まだよくわかっておらへん。

院生： 熱ショックによるタンパク質の変性を防ぐ、ちゅう予防的な役割よりも、まっとどえりゃあこと、ゴチャゴチャ言っとるばやあだにゃあぎゃあ、早よ言やあ熱変性して凝集したタンパク質を元にもどす、ちゅうところまで細胞が やっとりやがるかもしれせんちゅう論文がありやがったがなも。

教授： 米国の Lindquist たちの論文や。あれには確かにギョーテンしたで。彼女たちの実験のお一まかなトコは以下の通り。酵母を高温 (44°C) におくと、熱で変性して凝集したタンパク質が核にようけ出現する。せやけどダンさん、熱ショックのあとに常温 (25°C) に戻すと凝集体は 消失するちうわけや。興味深いことには、Hsp104 を欠損した酵母では凝集体はいつまでたっても消えへん。このことから、細胞にはなんやか 凝集体をほどくしくみがあり、それには Hsp104 が参加してんことがわかるちうわけや。さらに しかし、試験管内での実験で Hsp104 単独ではタンパク質の 熱変性による凝集を防ぐことも、タンパク質の再生もでけへんかった。なんやか、さらに必要な因子があるちう予測がたつ。

学生： 凝集を防ぐ、ちゅうのと、凝集を解体する、ちゅうなあ、ずいぶん違うことじやの。

教授： その当時、わてたちのグループは好熱性細菌の DnaK システムの研究をやった。このバクテリアでは、Hsp104 ファミリーの ClpB 遺伝子と Hsp70 ファミリーの DnaK 関連遺伝子が隣同士に並んどる。ほんで、これらのシャペロンを精製し、熱変性タンパク質に対する影響を調べてみたんや。その結果、DnaK とその補助因子である DnaJ+GrpE が乳酸脱水素酵素 (LDH) の熱による大きな凝集体の形成を防ぐ作用があることを見いだしたちうわけや。しかし、その場合 LDH の活性は失われたまんまや。小さな凝集体を含むその溶液をそのまま常温にもどして ClpB (Hsp104) を加えると、熱失活で失われたはずの LDH 活性がじわじわともどってきた (図 7)。これには、ATP が必要やった。DnaK、DnaJ、GrpE、ClpB のどれを欠いても 活性はもどってこへんかった。熱によってできた小

さな凝集体やったら、このシャペロンたちは協力して、これをもっかい水に溶けるまで解きほぐし、フォールディングをオノレでできるまでの状態にしてやれるらします。

院生：おなじころ、Lindquist や Bukau らのグループは、それぞれ酵母、大腸菌のシャペロンを用いて調べた結果、尿素や熱で変性させて凝集したタンパク質を再生するにゃあよお、おみゃあさん、

Hsp104 (ClpB)、Hsp70 (DnaK)、Hsp40 (DnaJ)が必要なることを見つけてまったがねよなも。あるぐりゃーの大きさまでだったら凝集したタンパク質も Hsp104 と Hsp70 によって生き返らせることができることが一般的にわかってきたわけだに。

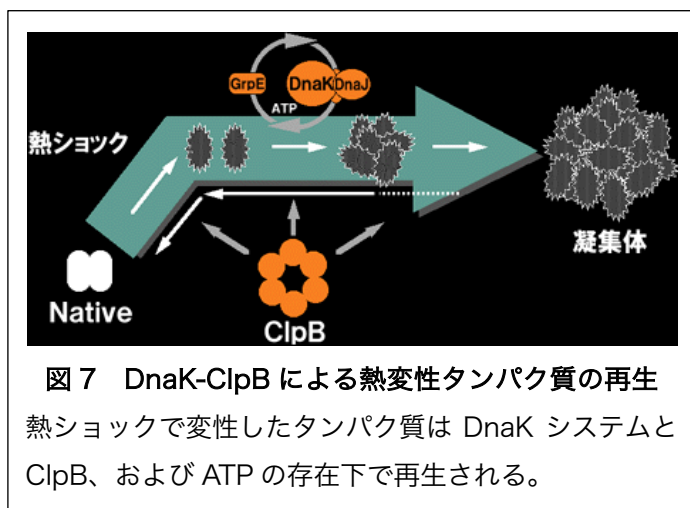
学生：実際の細胞の中じゃあ、どういったタンパク質が Hsp104-Hsp70 のシステムで助けられるんかいの？

院生：つきょうび、Bukau らは、大腸菌を使って DnaK によって凝集を免れるタンパク質のデータベース（一覧表）を作成した。熱ショックで凝集しやっすい 150-200 個のタンパク質（検出できたタンパク質の 15-25%）のよおけありゃあがるが DnaK の助けで凝集体になれせんこと、いったん凝集体になってまったタンパク質は DnaK に加えて ClpB があると可溶化することを見いだやあとりゃがるちゅうこったぎゃあ。

教授：結局、タンパク質の熱変性を防いで再生させるためには、Hsp104 および Hsp70 システムの両方が必要ちうことや。注目すべきことは、本日この時まで、どないなシャペロンでもややこしい思われとった熱や 化学変性で凝集したタンパク質の復活ができたことなんや。拡大解釈したら、「ゆでたまごを元に戻す」ことが Hsp104-Hsp70 のシステムでは可能とぬかすことやや。

学生：今までの話じゃと、シャペロンはタンパク質が何らかの原因で凝集してダメなるんを防ぐ、ちゅうことじゃったが、凝集してしもおたもんでも回復させちやることもできるんじやの。ところで、凝集したタンパク質をどうやってもとにもどすんじやろうのお。凝集しとるちゅうこたあ、水に不溶性になっとるわけじゃけえ 近づくことすらいたいんじやあ・・・。

教授：その分子機構はまだほとんど明らかやない。ずるずるとポリペプチドの端をつかんで、1本ずつ引きずり出すんか、自ら凝集体の中に入り込んでポリペプチドを引き離すん



か、凝集体の中に水分子を多数送りこんで膨潤させるんか……。いろいろと想像はできるが、想像の範囲を超えへん。

III-6 タンパク質の凝集 – アミロイドとプリオン

教授： 生化学者にとってタンパク質の凝集ちうんは嫌な現象やね。目的のタンパク質が凝集してまうと実験はほんでお終い。生き物にとってもタンパク質の凝集は困った現象や。シャペロンの知見の流布にもよるが、タンパク質凝集が原因らしい病気が次々に発見されとる。特にアミロイド病やプリオン病は深刻な疾病として知られとる。アミロイド病には、アルツハイマー病、ハンチントン舞踏病やらなんやらが、プリオン病には、クロイツフェルトヤコブ病、スクレイピー、狂牛病やらなんやらがある。いずれも、本来やったらば正常なタンパク質が異常なかたちに変換する機構が鍵をにぎとる。これらをまとめて、コンフォメーション病ちうこともあるくらいや。

学生： 病気に関わるタンパク質の凝集は、熱変性で生じた凝集体とどうちがうんかいの？

教授： 病理学的には、アミロイド、プリオンともに凝集体は線維状で、コンゴレッドという色素で染まり、複屈折を観察するちうことができるちうわけや。コンゴレッド色素は規則正しく並んや β シートの隙間に入り込むことで複屈折が起こるらしおます。つまり、分子間で β シートができとるらしおます。アミロイド病に関わるペプチドでは、試験管内で線維状の凝集体を形成させることができる場合もぎょうさんある。こないな線維はタンパク質分解酵素でも分解されへん。一方、熱変性やらなんやらによるタンパク質の凝集体はアモルファス状（不定形、非結晶性といった意味）の凝集体と呼ばれることもあるくらいで、線維になることはなく、規則性はなく、ぐちゃぐちゃにタンパク質が集まってしまったようなイメージや。こらタンパク質分解酵素で簡単に分解されるちうわけや。

学生： じゃあ、プリオンとアミロイドたあどうちがうんじゃるおか？

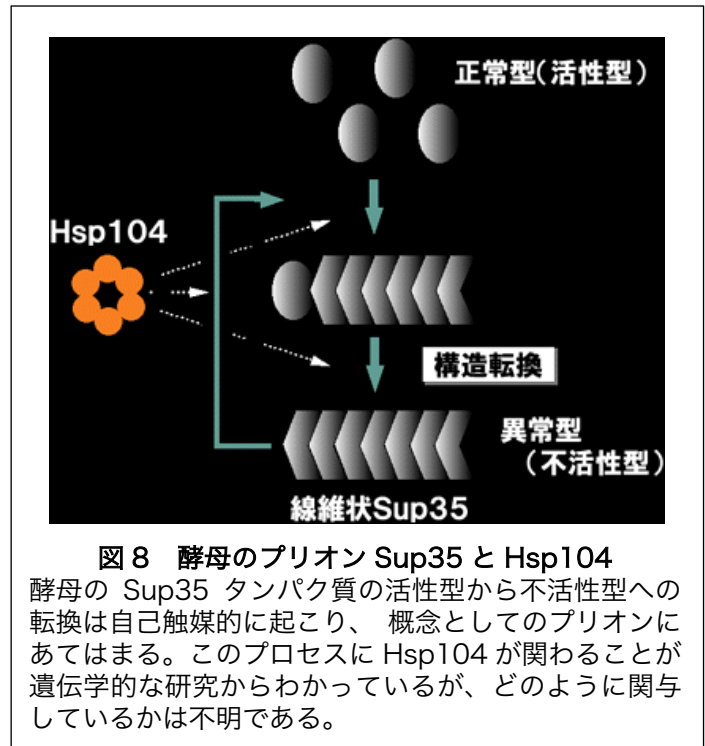
教授： プリオンは、羊のスクレイピーの原因となるタンパク質性の感染因子として Prusiner によって単離されたもんや。ウチら哺乳類の脳の中に存在する正常型のプリオンタンパク質 (PrPc) が、病気の脳の中ではプロテアーゼに耐性をもつ凝集体に変身してん。このプロテアーゼ耐性の凝集体が異常型プリオンタンパク質 (PrPsc) や。プリオン病が怖いんは伝染する点やね。通常は正常型から異常型プリオンへの転換はまず起こりまへん。が、何らかの理由で、異常型のプリオンが入り込むと、正常型が異常型に転換していくのや。一方、アミロイドには感染性はあらへん、ちうのが定説や。最近では日本でも狂牛病に感染した牛肉が出回って、農水省・厚生省がてんやわんやしとる。

院生： 正常型プリオンタンパク質はフォールディングして安定な立体構造を保っておるぎゃあ。けどがよお、おみやあさん、そこに異常型が入ってきやあすと正常→異常 ちゅう立体構造転換が起こるちゅうこったぎゃあ。これは、Anfinsen のドグマの 例外とこおってもええのではにやあでござるぎゃあか？ エネルギー最小の状態が2種類あることになってまうぎゃあからなも。

教授： 異常型プリオンは、正常型から異常型への構造変換を手助けしてん、と考えるとそれ自体でシャペロンのなはたらきともぬかしてもええかもしれへん。実際、プリオンと分子シャペロンの関連が取りざたされてんのや。比較的ようわかってるんは酵母のプリオンと Hsp104 の関連やる。

学生： 酵母にもプリオンがあるんか？

院生： そのばやあの Hsp104 の要求性ちゅうのは奇妙だったのを覚えておるぎゃあ。なんでなら、Hsp104 がまるつきしにやあとき、逆に過剰にあるとき、どっちゃんも [PSI+] の遺伝がおこらななつてまったんだぎゃあもんだで。中間的な濃度の Hsp104 んときゃだけ、[PSI+] は遺伝するんだぎゃあ。



III-7 成熟タンパク質のメンテナンスと活性制御

教授： ここまで、タンパク質の一生における重大イベント、誕生・移動・ストレス について話してきたちうわけや。それ以外の平常時も、シャペロンが タンパク質の世話をするケースが多々あるんや。

院生： ほれに関して例えや、DnaK はどうぎゃあも。大腸菌のプラスミド DNA の複製開始タンパク質 RepA や RepE はふつうは活性のにやあ 2 量体だちゅーこったけどがよお、これを活性のある単量体に解離さす過程には DnaK、DnaJ、GrpE の DnaK3 人組が必要だぎゃあ。

教授： DnaK の話題が出たところで言うたら、同じファミリーの Hsc70 は、 クラスリン

被覆小胞ちうタンパク輸送に使われる「かご」を壊す ATPase として見つかったもんや。ここでもクラスリンの多量体を解離させる役割や。

院生： 他では、Hsp90 はシグナル伝達系に関わるよーさんのタンパク質と相互作用しておるぎゃあ（詳細はシュプリングー・フェアラー社「分子シャペロンによる細胞機能制御」III章-4「活性制御」を参照）。Hsp90 が関与するタンパク質は不安定なばやあがよおーけなのか、Hsp90 と結合しておれせんでかんがやと失活してまうようだに。例えば、カゼインキナーゼ II は 単独だと低塩濃度で凝集体を形成して不活性になってまうけど、Hsp90 の存在下では 凝集が抑えられて活性型を保ちやあす。

学生： 何だか、Hsp90 はずいぶんと過保護な親みたいじゃの。ずっと面倒を見ちゃっとるわけじゃけん。

教授： ほんで、大腸菌のシャペロニン GroEL はフォールディングのときだけでなく、フォールディングが終わったあとのタンパク質とも相互作用してんらしおます。こら、GroEL は誕生直後のフォールディングのケアだけでなく、成人した タンパク質がちーとばかり病気になるよったときに治療する役目も持つとる、と解釈されとる。

学生： しっかり治療して健康になってから、また世に送り出すちゅうと、まるで病院のようじゃの。

教授： 付け加えると、ここで挙げた DnaK、Hsp90、GroEL どの場合そやけど、かっちりした天然構造のタンパク質に結合して作用するゆうよりも、どうやら部分的に変性した領域を認識して結合するんちゃうかな。

III-8 生と死は表裏一体 – タンパク質分解と分子シャペロン

教授： タンパク質の一生でケツに残るんは、タンパク質の死、分解やね。この過程にも分子シャペロンはずいぶんと関わっとるのや。

学生： タンパク質の誕生や再生を司るシャペロンと、墓場行きに関わるプロテアーゼは、一見正反対のことをやっと思うんじゃが。

教授： 「生」を支配するもんがいっぺんに「死」も支配する、ちうんはタンパク質でも一緒なんや。「リンゴに芯のあるように生は死を内包する」。君は、プロテアーゼと シャペロンは正反対、ちうが、どちらもタンパク質の変性状態を見分けとるちう観点からぬかすと、似たもん同士や思いまへんか？

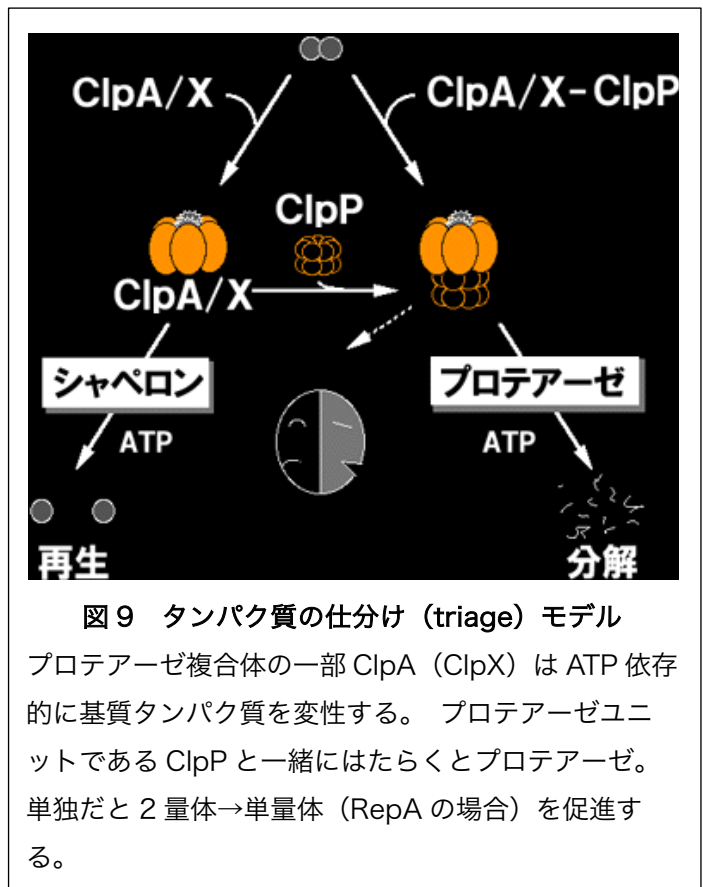
院生：なるほど。確かに普通プロテアーゼは天然構造のタンパク質はほとんど分解せずか。変性状態のタンパク質を認識するタンパク質ちゅうくり方をすりゃあ、シャペロンとプロテアーゼはおなじファミリーに属することになってまうぎゃあ。ペプチド結合を切断するかどうか、ほんばっかでつきゃあ違いとも言えやあすなも。

教授：プロテアーゼが触媒活性だけを抑えて基質タンパク質の結合能を保持してん場合、シャペロンのような作用を発揮したかて不思議はあらへん。実際に、ClpAP (ClpXP) や Lon、FtsH やらなんやらの ATP の加水分解によってタンパク質を分解する ATP 依存性プロテアーゼはシャペロンとしたかてはたらくケースがあることが知られてきとる。さらにわかりやすいケースとして、熱ショックの有無だけでシャペロンとプロテアーゼがスイッチする場合があることが明らかになりよった。大腸菌の DegP (HtrA) ちうペリプラズムにある熱ショックタンパク質は、MalS ちう基質タンパク質に対して通常の生育条件ではシャペロン、熱ショック条件ではプロテアーゼとしてはたらくゆうのや。

学生：タンパク質が熱で変性してどうしようもなくなりゃあ、いたしいことして再生せんとおにさっさと始末してしまえ、ちゅうことかのお。

教授：他の例そやけど、ClpA ちうシャペロ的な働きをもつプロテアーゼのサブユニットは、変性した基質タンパク質を再生するか、分解するかの仕分けに関わると考えられとる (triage モデル)。ClpA は ClpP ちうプロテアーゼ活性をもつサブユニットと一体 (ClpAP) になって働く。ClpP はリング状の複合体でプロテアーゼ活性部位はリング空洞の奥深くにあるんや。10 残基未満程度の短いペプチドは ClpP 単独で分解できるが、タンパク質の場合は ClpA と ATP に依存せな分解でけへん。こら、ClpP のリング空洞の入り口がどエライ狭いさかい、ヒモ状の変性したタンパク質しか内部に取り込めへんためと考えられてんのや。ほんでタンパク質を積極的に変性させるために ClpA が働いとるらしおます。

院生：ClpA の変性作用は、ClpP と共役した分解系以外にも RepA の 2 量体から単量体への転換やらなんやらにも役立つ



とりやがるようだにゃあ。

教授： ClpA はタンパク質の分解と再生の接点に位置してんらしいのや。 Gottesman らは、それを ClpAP プロテアーゼ (兼シャペロン) による タンパク質の triage、わかりやすく言うたら「仕分け」と呼んどる。 それと ClpA で他にも興味深いのは、基質タンパク質が完全に天然構造やったとしたかて、C 末端に ssrA タグが付いていれば ATP の助けを借りて変性させる能力をもっとることや。

学生： 話を聞いとると、まるでローマ神話の「ヤヌス」の顔んようじゃの。 2 つん顔をうまい具合に使い分けとるようじゃ。

教授： シャペロンの研究者は、タンパク質の表の顔と裏の顔の二面性まで 考慮に入れのうてはならへん。とにかく、細胞のタンパク質社会には 社会保障のようなシステムがあり、その主な演出者はシャペロンやということが、この 10 年間にはっきりしてきたちうわけや。

参考資料 2 ローマ神話より、天門の神ヤヌス

ヤヌスはローマ神話で天門の神である。顔が前後両面にあり、過去と未来、 事物の両面を同時に見通すとされた。変性したタンパク質を生かすも殺すも 分子シャペロン次第である。

IV章 タンパク質の「ゆりかご」、シャペロニン

IV-1 シャペロニンを用いた試験管内フォールディング実験

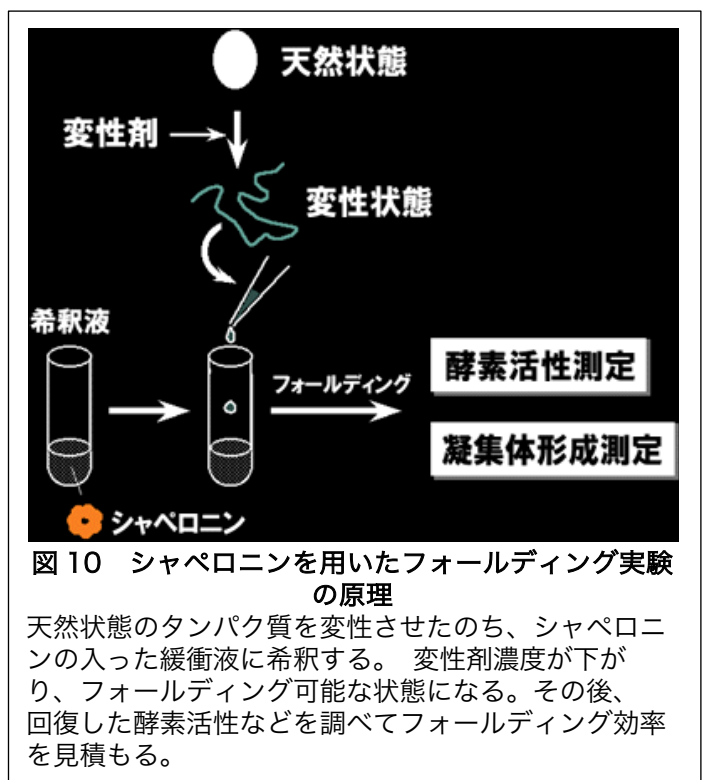
教授： ここまで分子シャペロンの細胞内でん働きを話してきたちうわけや。ここからは、わてたちが研究してん分子シャペロン、シャペロニン GroEL の作用機構を ねちっこく解説しよう。こら研究のもっとも進んどのシャペロンや。シャペロニンは 調べられとる限りみな細胞で生存に必須のタンパク質や。他のシャペロンでは 代替でけへんような機能をもっとるとゆうことやるか。シャペロニンの研究が進展した 理由の一つとして、試験管内でタンパク質のフォールディングを助ける様子が調べやすい、 ちうことがあるんや。

院生： 現在行われとりゃがるシャペロニン作用機構の研究は、1989 年に発表された 試験管内での Rubisco フォールディング実験にさかのぼることができやあす。もともと Rubisco の研究をしとった Lorimer らは、大腸菌で活性のある Rubisco を 発現さすのにシャペロニン GroEL の思いっ切しよおけ発現が効果的なことを見だしてまったがなも。その後、試験管内でその現象を再現することに成功したんだぎゃあ。

教授： 彼らの先駆的な研究は、Anfinsen が行った古典的なフォールディング実験を応用したもんやね。ほんで使われた実験系の原理はその後とも試験管内シャペロン研究全般における スタンダードとな

とる (図 14)。実験は 3 段階に分かれてん。1) タンパク質を尿素、酸やらなんやらで変性させる。2) 変性タンパク質をシャペロニンの入った緩衝液に加え、希釈してまう。変性剤は希釈されるさかい、変性タンパク質はフォールディング可能な状態になるちうわけや。3) フォールディング効率やらなんやらを測定する。回復した酵素活性や フォールディングに失敗して凝集したようすを測定するちうわけや。

院生： 実験の一例はわしがやったものだもんだで説明さしてちょーだゃあ (図 11 上段)。この実験では、クラゲのもつ緑色蛍光タンパク質(Green Fluorescent Protein; GFP)を GroEL に対する「基質」タンパク質として使っておるぎゃあ。GFP は天然構造でのみ蛍光を発するもんだでよお、 変性状態からフォールディングしてくるようすを蛍光光度計で連続



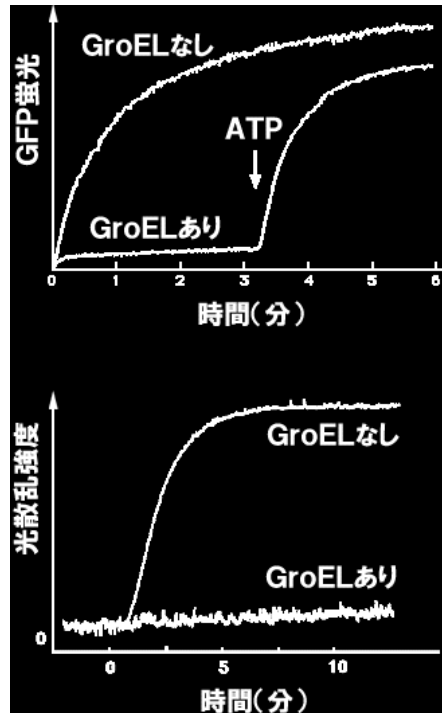


図 11 上段 シャペロニンによる GFP フォールディング実験

時間 0 で酸変性させた GFP を希釈し、フォールディングに伴って出現する GFP の蛍光をモニターした。

トレース 1：シャペロニンを入れない緩衝液中での GFP の自発的なフォールディング。

トレース 2：シャペロニン GroEL があると、シャペロニンにフォールディング中間体が 捕捉されて自発的なフォールディングが抑えられる。途中で ATP を添加するとフォールディングが開始する。

図 11 下段 シャペロニンによる凝集体形成の抑制

塩酸グアニジンで変性させたロダネーゼを時間 0 で希釈。GroEL がないときには、フォールディング失敗に伴って凝集体が形成される。GroEL を入れると、凝集体形成が抑えられる (ATP は入っていない)。

的に追跡できやあす。酸変性させた GFP は、GroEL 無しだったって自発的に折れたたむことができやあす (トレース 1)。一方、希釈液中に GroEL があるモル以上あると、フォールディングはでやーてやあ完全に抑えられやあす (トレース 2)。これは、GroEL によってフォールディング途上の中間体が 捕捉されてまうもんだでよお、フォールディングが阻害されてまうでだに。途中で ATP を 添加するとせえやあが、捕捉されとった GFP は溶液中やシャペロニンの空洞の中 (後述) に 解放されて、自発的なフォールディングが再開しやあす。

学生： ATP が無いときのシャペロニンは、過保護の親んようじゃの。自立できるもんまで抑え込む。自発的なフォールディングが難しいタンパク質のときにやあ過保護の親はどうするんじゃろお？

院生： (いささか得意になって) では、フォールディングが失敗しやっすいロダネーゼを使った 実験例をお見せしよみゃあ (図 11 下段)。この酵素は、変性-希釈後に自発的に フォールディングすることができなて、凝集体ができてしまおるぎゃあ。そうするとせえやあが溶液が濁って光散乱の強度が上がっていきやあす。けどがよお、シャペロニンがあるときにやあ凝集体形成がでやーてやあ完全に防止できやあす。かわりにウシ血清アルブミン

やらなんやらを加えてもこういうことは起きやせんから、これはシャペロニンの作用によるもんだだに。

学生：タンパク質の凝集ゆうたら、ゆで卵を思い浮かべるんじゃけど。この実験をわかりやすうゆうと、つまり、生卵がゆで卵にならん、ちゆうことじゃろおか。

院生：（さらに得意になって）君もそう思おるぎゃあか？では、とっておきの実験を紹介しよみやあ。名付けて「固まれせん卵の不思議」実験だに。卵白を 70°C で保温するとせえやあが固まってゆで卵になってまうぎゃあ。が、卵白とシャペロニンと一緒に加えておくと、ごらんのとおり透明なまんまだに。



IV-2 「ゆりかご」タンパク質 – シャペロニンの立体構造

学生：なるほど、シャペロニンがタンパク質の不可逆な凝集を防ぐ様子が 一見してようわかったんじゃ。シャペロニンは凝集体形成をきしゃっと抑え、さらに ATP があると、安全なフォールディングを再開することができるんじゃのお。なんでそがあなことが可能なんかいの？

教授：大腸菌やらなんやらの細菌の場合、シャペロニン GroEL は GroES ちうタンパク質複合体と協力して機能するちうわけや。GroEL はポリペプチドを結合して、ATP の加水分解を行うわ。GroES は GroEL と結合して「フタ」となり、GroEL の働きを制御しとる。GroES も大腸菌の生存に必須のタンパク質や。大腸菌のシャペロニンに関しては、X 線結晶解析とエレガントな生化学研究が見事に結びついて、巧妙な分子機械としての 振る舞いの詳細がごつつうわかってきたちうわけや。そら、驚異的なしかけを持ち、周到に設計された分子装置や。びっくりするでー！

(a) 「巨大な空洞をもったダブルリング」 – GroEL

教授：いっちゃんはじめに、GroEL の立体構造を見てみよか。GroEL の分子量は約 80 万、57kd のサブユニット 7 つから成るリングが背中合わせに 2 つ重なりよった 14 量体構造をととる（図 12）。上下対称の構造や。こないな風にリング構造をとることで内部には空洞ができるや。また、GroEL のサブユニットは、赤道ドメイン、頂点ドメイン、その両者をつなぐ中間ドメインの 3 つのドメインからなるちうわけや。赤道ドメインは ATP 結

合領域を含んだ GroEL 構造の土台やね。頂点ドメインには 基質となるポリペプチドの結合領域(と同時に GroES 結合領域)があるんや。中間ドメインは、頂点ドメインと赤道ドメインのひねりを可能とする 2 つの 蝶つがい (ヒンジ) 部位を含んどの (図 13 左)。

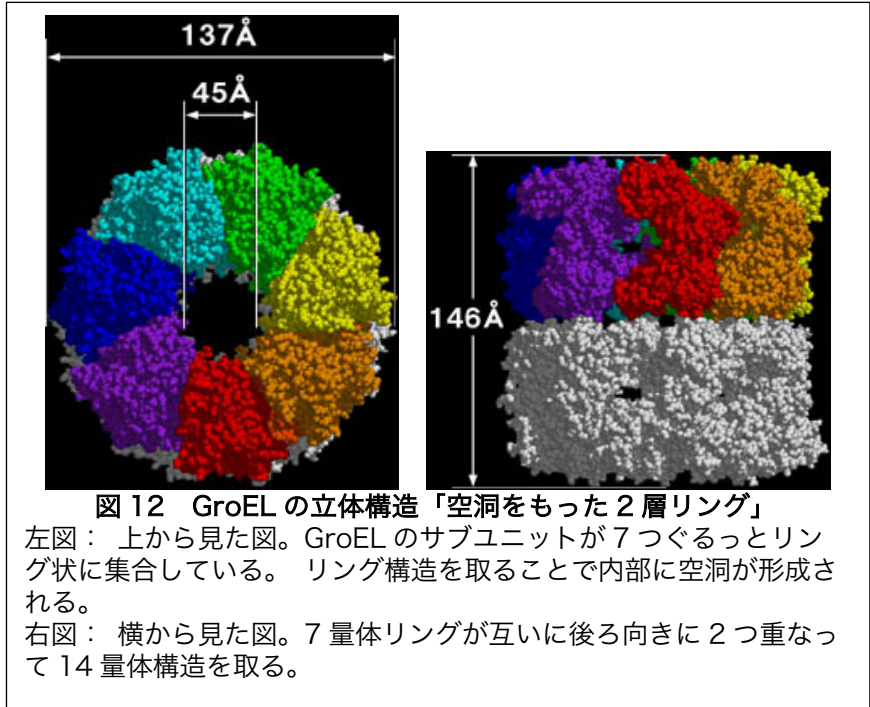


図 12 GroEL の立体構造「空洞をもった 2 層リング」

左図： 上から見た図。GroEL のサブユニットが 7 つぐるっとリング状に集合している。リング構造を取ることで内部に空洞が形成される。
右図： 横から見た図。7 量体リングが互いに後ろ向きに 2 つ重なって 14 量体構造を取る。

(b) 「フォールディングのための快適空間」 - GroEL-GroES 複合体
教授： GroEL の構造解析に成功した米国の Horwich と

Sigler は、はよ その 3 年後に GroEL-GroES 複合体の立体構造を解明したちうわけや。GroEL は ADP 存在下で GroES と結合して安定な複合体になるのでこれを結晶化したのや (図 14)。

学生： GroES のフタは、GroEL の円筒の片側についとるわけじゃけん、もう分子は対称じゃあなかるうに。

1) 空洞の体積が約 2 倍に増大し、分子のゆりかご登場。

教授： そうや。ADP は GroES の結合した GroEL リング(cis リングと呼ばれる) の 7 つのサブユニットにだけ結合しとった。おったまげたんは、cis リングの GroEL に 大きな構造変化が起こることや (図 13 右)。GroEL の 3 つのドメインのうち 頂点ドメインが「立ち上がる」のや。単に立ち上がるのやなく、中間ドメインの 2 つのヒンジ部位を中心に、上方に 60° 立ち上がり、右側に 90° ひねりが入るちうわけや。お辞儀をしてん人が横をむきながら上体を立ち上

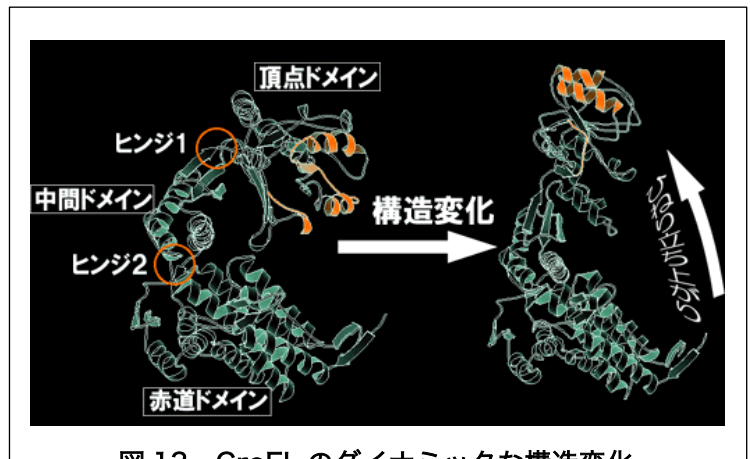


図 13 GroEL のダイナミックな構造変化

GroEL サブユニットの構造。頂点ドメイン、中間ドメイン、赤道ドメインから成る。2 層リングは赤道ドメイン同士が結合して重なっている。各ドメインがつながる部位 (丸で囲った部分) はヒンジとなつて構造変化を起こすことができる。変性タンパク質の結合する部位は頂点ドメインの端 (オレンジ色) あたりである。

がるようなもんや。この、ヒンジを中心からねじ曲がりながら立ち上がる構造変化の結果、次の重要なことが起こる。GroES が結合した GroEL リング内の空洞が体積にして約 2 倍に広がるちうわけや。GroES は 10kd のサブユニットが 7 つ集まっては帽子のような形状をしてん。これが、広がった GroEL の空洞にフタをするんで、内部に密室が出現するちうわけや (図 15)。

院生： この密室の中に 1 本のポリペプチドが入り込んでよお、凝集体形成の危険から解放され、天然構造までフォールディングできることが既に生化学実験から証明されておるぎゃあ。わしんたらあのきょうびの結果によると、この密室内には 57kD ぐりやあまでの大きさのポリペプチドが入り込めやあす。

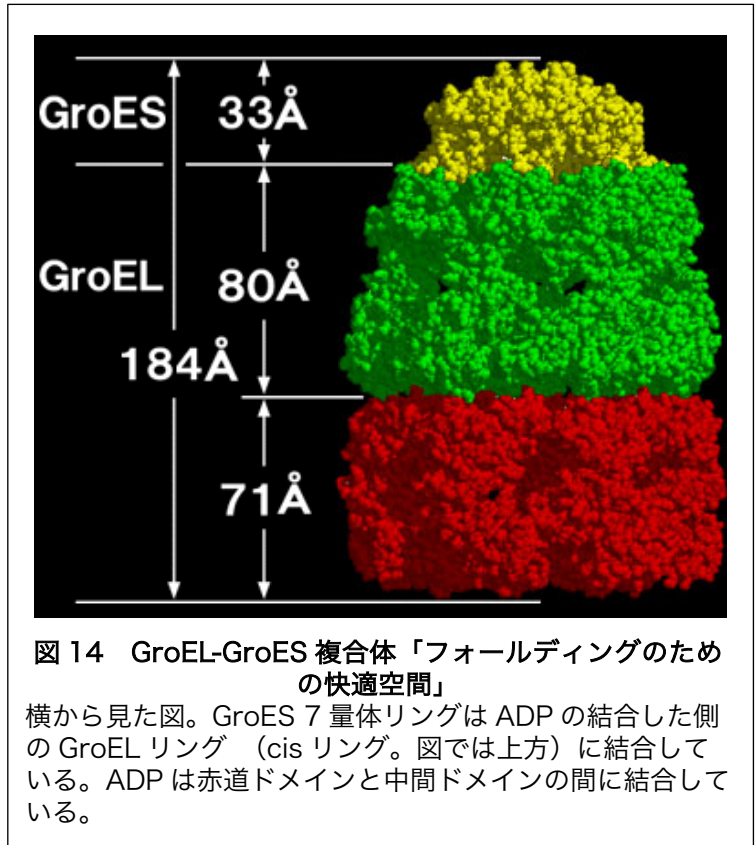
学生： 1 人ずつ隔離してから、集団でグレルんを防ぐわけか。

2) ポリペプチド結合部位が消失！

教授： 揺籃期のタンパク質の「ゆりかご」ちうわけや。さらにここでオモロイんは、GroEL のポリペプチド結合部位を形成しとったアミノ酸残基のほとんどは GroES との結合に動員されることや。結果としてポリペプチドはオノレが結合しとった結合部位を失ってまう。そないなわけで、GroES が結合すると、ポリペプチドは GroEL から引きはがされて、拡大した cis 空洞に放出されるちうわけや。

3) 空洞の内部は疎水から親水環境へガラリと変化

教授： cis リングでの GroEL のダイナミック



な構造変身によって、空洞内はポリペプチドのフォールディングに都合のええ環境になるちうわけや。GroES が結合しておらへんときには、GroEL のリング内の表面には疎水性アミノ酸残基がようけ露出してん。せやけどダンさん、GroES が結合すると、その疎水性残基は新たに形成されるサブユニット-サブユニットの接触界面に動員されてまう。結果として cis リングの内側表面では親水的な残基が主になるちうわけや。

学生：最初は基質タンパク質を疎水的な相互作用で結合しておいて、ATP、ついで GroES が結合すると環境が変わって疎水領域は隠されてしまうんじゃのお。そうすると、もうポリペプチドは、どこにも付着できん。

院生：きょうび読んだリボソームの結晶構造の論文に関連したことが書いてありやがったがなも。新生ポリペプチドはリボソームの中心部で合成されてまうもんだでよお、できたポリペプチドは、出口まで狭い長いトンネルを通過しやあす。そのトンネルがもし疎水的な領域をまっとったら、新生ポリペプチドはそこに結合してしみゃあ、外に出られなななまうぎゃあ。ポリペプチドの通り道は「テフロン」のようにスベスベである必要がありやあす。実際に結晶構造でみえた通り道は疎水的なアミノ酸も含んどるけど、ほんなもなバラバラに分布しとって集まっとらんそうだに。そのようすは GroEL-GroES 複合体の空洞内の環境と似とりやがると議論しておるぎゃあ。どっちも変性ポリペプチドを結合してはいけーせん、ちゅう点で似たのでござるぎゃあ。

教授：GroEL-GroES の立体構造はシャペロニンの機能を理解する重要なヒントを与えてもらた。これと生化学的な研究を総合すると、シャペロニンの反応サイクルをごつつうねちこく描くことができるちうわけや。

IV-3 シャペロニンの反応サイクル

教授：シャペロニン GroEL-GroES がタンパク質のフォールディングを効率よう助けるには ATP 加水分解のエネルギーが必要や。ATP 結合と加水分解・GroES 結合と解離・ポリペプチドの結合、フォールディング、ほんで解離、がどないな風にかみあっておるんか、今はそれが焦点や。うちらも異国勢とけっこう激しい論争をしてん。

院生：ここからちいとの間は、分かりやすくするために標準語で話しやあす。現在考えられているモデルをステップを追って解説してみますね。ポイントは、cis リングに結合した ATP が ADP になるまで cis 複合体は安定に維持されるという点と、GroEL ダブルリングの各々が交互に GroES を結合・解離する点です (図 16)。

[ステップ 1]

変性タンパク質が結合する。

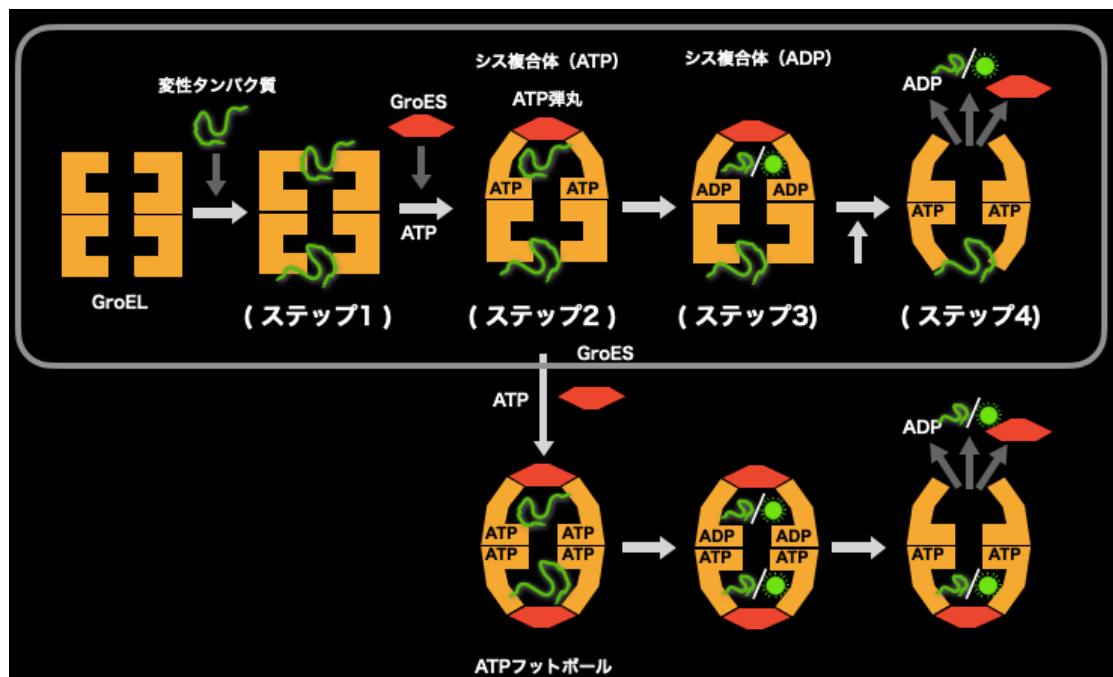


図 16 GroEL-GroES の反応サイクル

上段がテキストで説明されているモデルで、GroES が GroEL の片方のリングに順繰りに結合する弾丸型 GroEL 複合体経由モデル。

下段は GroES が GroEL の両側に結合するフットボール型複合体を経由して進むモデル。

まず空の GroEL に変性状態の基質ポリペプチドが結合する。

[ステップ 2]

GroES が結合して cis 複合体ができる。

変性タンパク質が結合している GroEL リングに ATP が結合してサイクルが開始する。ATP を結合した GroEL は構造変化を起こし、GroES を結合できるようになる。GroES が GroEL にしっかりと結合、そして cis リングの空洞にポリペプチドが閉じこめられた複合体を cis 複合体 (ATP 型) と呼ぶ。cis 複合体のときに、空洞内でのフォールディングが開始される。この cis 複合体 (ATP 型) は、ATP が加水分解して ADP になるまで安定だ。この意味するところは重要である。すなわち ATP の加水分解が cis リングで終了するまで、フォールディングのための「ゆりかご」は保持されるわけである。cis リングの空洞に入った新生ポリペプチドは シャペロニンの安全な「ゆりかご」の中で一定時間はフォールディングのための時間を保証されることになる。この複合体が安定な約 8 秒程度 (ATP の加水分解に必要な時間) の間、変性タンパク質は凝集の危険なくフォールディングできる。8 秒間が一種のタイマーとして作用することになる。

[ステップ 3]

ATP が加水分解して cis 複合体 (ADP 型) ができる。

cis リングの ATP が ADP に加水分解された cis 複合体 (ADP 型) になると、いよいよ「フタ」の GroES が解離する準備がととのう。ここでこれまで出番のなかった trans リングが

重要になってくる。少々ややこしいが、cis 複合体は ATP 型と ADP 型とで 各々の trans 側の構造が少し違うらしい。つまり、cis 複合体 (ATP 型) では trans リングに ATP が結合できないが、cis 複合体 (ADP 型) になると結合できるようになる。

[ステップ 4]

GroES が解離して基質が解放される。

次に、cis 複合体 (ADP 型) の trans リングに ATP が結合する。これは、trans リングにポリペプチドが先に結合していると促進される。この ATP 結合 (加水分解ではない) が引き金となって、cis 側の GroES が解離する。GroES が外れるのと同時に cis 側の ADP、および中に閉じこめられていた基質タンパク質も一緒に解離する。ちなみに cis 複合体 (ADP 型) になってから、GroES が解離するまでのステップはとても速く、1 秒以内に終了する。

さて、trans リング側には ATP (とポリペプチド) が結合している。ここで GroEL を逆さにひっくり返してみよう。ATP が結合しているリングに GroES が結合すれば、ステップ 2 へと戻ることがわかるであろう。これでサイクルは一巡したことになる。今度は先ほど途中まで出番のなかった trans 側が cis 側となって働くことになる。

(この経路以外に、変性タンパク質が多いときには GroES が GroEL の両側に結合するフットボール型を経由してサイクルが進行する)

教授：

こうして見てくるとシャペロニン GroEL がなんでリング構造を取っとるんか、さらにはなんで2つのリングが必要なんかが理解できるちうわけや。そもそも GroEL は単量体 (さらにその頂点ドメイン) だけでも変性タンパク質を結合してその凝集を防いで、結果としてフォールディングを助ける機能を多少もつとる。せやけどダンさん、それだけでは細胞内ではたらくには不十分やから、ぐるっとリングをつくったんかもしれへん。複数のポリペプチド結合領域があることでポリペプチドとの結合力もつよなるわけや。しかもリング状に並ぶことで空洞ができる。さらに、リングには GroES ちう「フタ」まで準備して、基質となるポリペプチドを格納するようなりよった。ほんで、一定時間外界から隔離した後、もう一つのリングがフタをはずすスイッチとなるわけや。スイッチ自身が次のサイクルでは「かご」となるちうわけやね。

院生：ほれぐりゃあで驚いっとたらかんで、まんだあるで 往生こくのは、このサイクルにおける変性タンパク質の影響だに。きょうびの知見によると、GroEL の反応シヤアクルは変性タンパク質がにゃあときになあずいぶんと遅なってまうぎゃあ。変性タンパク質がよおけあるときに、GroEL はフル回転で仕事をするみたやあな仕組みになっとりやがるわけだに。実に合理的だと思おるぎゃあなも。

学生： シャペロニンなあたきゃあ、できたばかりのポリペプチドが安全に折れたたむんに必要な空間を提供することに本質があるみたいに思えますけえの。

教授： そやね。GroEL-GroES 複合体の巨大な空洞は、分子シャペロンの能書きそのもん、すなわち凝集しやすいフォールディング中間体を保護する役割、を視覚化した 初めての例と言えるちうわけや。

院生： 単に空間提供するだけではあらずかよ。ATP の加水分解に要する時間をあんばあよお利用して 空間を「一定時間」だけ提供するんだぎゃあ。名付けて「時計じかけのゆりかご」ちゅうのは どうでござるぎゃあ。ほんと、あんばあよおできとりやがるタンパク分子装置でかんで。

学生： 聞いとると、こがあなすごいもんを持つとる大腸菌を尊敬しとおなるんじゃ。

教授： 「されど汝ら、そこらにおる大腸菌を見よ...。」や。細菌一匹やら、うちの知識と技術をはるかに凌駕するシステムを持つとる。

IV-4 シャペロニンによる変性タンパク質の認識機構

学生： シャペロニン GroEL は細胞の新生ポリペプチドの 10%以上のフォールディングを助けるゆうが、そうすると何百種類もん数になるんじゃ。アミノ酸配列や、天然構造になったときの立体構造がまったく異なる多様なタンパク質が、間違わんとおにシャペロニンに結合できるちゅうなあ不思議じゃ。どうしてそがあな融通無碍んようで間違いのない芸当がでけるんじゃろおか？

教授： シャペロニンは変性タンパク質を認識して結合するちうわけや。しかし、天然構造のタンパク質には結合せん。どないして両者を見分けとるんか、こら今でもシャペロニンの作用機構の謎のひとつや。変性タンパク質というても いろいろな変性状態が考えられはる。そのどれを見分けとるんか、まだ研究者の間で合意があらへん。したかたなく、論文には、シャペロニンは「non-native」（天然構造ではおまへん構造）状態のポリペプチドを結合する、と書くのが通例や。これまでわかっとる知見を整理してみるで。

1) 伸びたヒモ>構造を持ったポリペプチド

教授： GroEL は基質タンパク質のモルテン・グロビュール構造を認識する、ちう考えや両親媒性の α ヘリックスが大切やとか、いろんな説があつたな。せやけど、わてたちのきょうびの結果では、2 次構造を取り得へん 人工のランダムなアミノ酸配列のポリペプチドでも GroEL につよ結合できてん。また、GroEL の頂点ドメインだけの結晶解析も発表されとるが、そこには運良う ペプチドが結合しとった。そのペプチドはヘリックスやらなん

やらの2次構造は とっておらへんし、伸びきった構造やった。天然構造に近いタンパク質でも GroEL に結合できる、ちう報告もあるが、GroEL に結合してんはそのタンパク質の構造のゆるんや一部分とちゃうか思われとる。 α ヘリックスが結合する 場合もあるが、結合力は どエライ小さいちうわけや。

2) 疎水相互作用>静電相互作用

教授： GroEL とポリペプチドは疎水性相互作用によって結合しとる。変性タンパク質は天然構造のタンパク質とちごて、ようけの疎水性残基を 水と接触できる表面に露出してんし、GroEL のポリペプチド結合部位にも 疎水性アミノ酸残基がいくつも存在してん。両者が疎水性相互作用によって 結合するんや。GroEL はヒモが好きで、疎水性残基が好きやからあり、これによって変性タンパク質と天然構造のタンパク質を見分けとる。せやけど、静電相互作用も結合に貢献してん。シトクロム c のように等電点の高いタンパク質では、塩濃度が高いほど GroEL との相互作用は弱まるやろ。逆に等電点の 低いペプシンは塩をぶちこむほどつよ結合するちうわけや。

3) ポリペプチドは GroEL の「立ち上がり」でさらに引き伸ばされる

教授： ポリペプチドが GroEL に結合すると、ポリペプチドはさらに引き伸ばされる（さらに変性の度合いがひどなる）ちう報告もされとる。Lorimer らの実験によると、実は GroEL に結合しただけではそないなことは起こらへんし、ATP と GroES が結合したときのみ引き伸ばしが見られはった。この強制的な変性作用は、先に述べた GroEL の「立ち上がり」の大きな構造変身によって引き起こされるらしおます。

4) 要は、あいまいな認識？

学生： 何だかすっきりとしませんのお。疎水結合はたしかに主要な結合力じゃが、そればっかしでもないらしいし。けっこう親水的な組成のペプチドも結合するし……。のびきった形で結合するときもありゃあ、ヘリックスでも OK っちゅう場合もある……。これじゃあ、一般のタンパク質-タンパク質の相互作用と似たようなもんで、なんで変性タンパク質だけ？っちゅう問いの答えにゃあならん。じゃが、結合する分子シャペロンと結合ポリペプチドは、どちらもかなりブラブラした構造じゃが、いったん出会うと安定な結合をとるらしいんじゃ。ちなみに結合した構造自体は あいまいじゃあのおてかっちりしとるようじゃしのお。

教授： こないなあいまいな認識による相互作用の例は結構多いんや。免疫で大事な MHC とペプチドの複合体は はよから知られはった例やし、分泌せやなかつたら 輸送されるタンパク質のシグナル配列もあいまいのように見えるが間違えることはあらへん。基質特異性の広いプロテアーゼもそのたぐいと言えるかもしれへん。「鍵と鍵穴」に例えられはる厳密な特異性が生命現象の要であることに異論はあらへんが、シャペロンのように幅広くい

るんな相手と付き合うには、ある意味での「ええ加減さ」も必要なんかもしれへんな。

院生： いや、わしんたらあがあんばやあよお特徴を抽出でつきーせんもんだであいみやあに見えるだけでよお、シャペロンタンパク質の目から見れば「あいまいさなんてーてんよ」、ちゅうことなんじゃにやあきやあ？

教授： う〜ん……。まあ、へんな例えやけど、うちの基準のべっぴんちうのも 細菌やタンパク質から見れば、ずいぶんあいまいな認識で、何がべっぴんの 特徴やろかと問われても、あんじょう答えられへん。そうやる、君たち?? うちらは、えらく細かいな特徴の寄せ集めの総合点でべっぴんちう認識をしてんや。 シャペロンの認識は、タンパク質のべっぴんを定義するようなもんなんやるかあ？

学生： はあ、そうすると、こりゃあかなり難しい問題じゃ……。

エピローグ

Anfinsen のドグマ、再び

教授： さて、ずいぶんと長いことシャペロン、シャペロニンの話をしてきたなあ。ここで、もっかい Anfinsen のドグマを考えてみまひよ。分子シャペロンの 能書きが広まるにつれて、 Anfinsen のドグマはもう成立せんのでは、 と考えるヤカラも出てきよった。実際、細胞内で多くのタンパク質の フォールディングには分子シャペロンが必須や。

院生： 確かに「シャペロンがなければ天然構造に到達できせん」、ちゅう文章だけで見ると、 Anfinsen のドグマは崩れたのかな、と思えやあす。けどがよお、おみやあさん、シャペロニンの作用機構の本質は、基質となるタンパク質がフォールディングする空間と 時間を提供する、ちゅうことだに。タンパク質のフォールディングのすじ道には何ら影響を 与えておれせんでかんがやのならば、 Anfinsen のドグマはまんだ成り立ってやあす。

教授： そないな点をふまえて、シャペロニンの空洞を「アンフィンゼンのかご (Anfinsen cage)」と呼ぶこともあるんや。シャペロニンの空洞内で Anfinsen のドグマがしっかりと守られとるちうニュアンスや。

学生： 「分子シャペロンがタンパク質を折りたたむ」、のじゃあのおて 「分子シャペロンはタンパク質が勝手に折れたたたむんを見守る」 ちゅう感じじゃあおか。

院生： 実際、他のシャペロンも含めて、てみやあで自立できせんポリペプチドの折れたたたみを 手助けしとりやがる例は今のところないと思おるぎやあ。シャペロンはどこまで行ったってよ、タンパク質がてみやあのでフォールディングするのを間接的に手助けしとりやがるだけだにやあ。

教授： まとめると、タンパク質がその一生において自己実現できるように世話を するんが分子シャペロンやね。分子レベルで言うたら、シャペロンはタンパク質の 非天然構造（変性状態、フォールディング中間体、変性中間体）と結合して、凝集体形成を防ぐことでタンパク質が本来の姿ではたらけるよう ケアするタンパク質、とでも言えるやろ。 おっ！ ぼちぼち教授会が始まるさかい今日はお開きにしようか。えらい長い間話してしもたな。ごっつ読みにくかったやろ？ほんますまんなあ。ここまで読んでくれておおきに。

院生&学生： ありがとー さいならー お疲れさんでした。