

分子シャペロン ～誕生の歴史と概念～

町田 幸大

皆さんは“シャペロン”をご存知だろうか？シャペロンの語源はフランス語とされており、元々是中世ヨーロッパで頭部に着用した布や帽子を意味する用語であった。ここからどう転じたかはフォローできなかったが、19世紀末から20世紀初頭のイギリスにおいては、家事使用人の上級職の一つを表す用語として使用されるようになっていた。その仕事内容は“若い未婚の女性が初めて社交会にデビューする時に介添えし、社交の行儀作法が正しく守られているか監督する”というものであった。では、本稿のタイトルにあげた“分子シャペロン”とは何だろうか？現在では高校の生物の教科書や参考書などでも取り上げられるほど一般的かつ重要な細胞内因子として認識されており、生物工学会の会員であればすでにご存知の方も多いと思われるが、専門外の方にはあまり知られていない“分子シャペロン”誕生の歴史と概念の確立について紹介しよう。

最初の分子シャペロン

分子シャペロンという用語が科学分野で最初に使用されたのは、1978年のLaskey¹⁾らの論文であると言われている。その論文には“We suggest that the role of the protein we have purified is that of a ‘molecular chaperone’ which prevents incorrect ionic interactions between histones and DNA.”と記述されており、世界で最初の分子シャペロン（molecular chaperone）はヒストンとDNAの間に生じる不正確なイオン性の相互作用を阻止する働きを持つタンパク質（後にヌクレオプラスミン²⁾と命名される）だったことが分かる。Laskeyらは



図1. ヌクレオソーム形成とヌクレオプラスミン

試験管内の実験において、生理的イオン強度の緩衝液中でヒストンとDNAを素早く混合すると不溶性の沈殿が生じるが、緩衝液中にアフリカツメガエルの卵から精製したヌクレオプラスミンを添加しておくことで、ヒストンとDNAが適切に会合しヌクレオソームのコア構造が正しく形成されることを発見した(図1)。この過程において、ヌクレオプラスミンは自身の負電荷領域を介してヒストンの正電荷領域に一時的に結合している。これによりヒストン表面の正電荷が覆い隠されるためヒストン分子間に生じる静電反発力が低減し、ヌクレオソームの核となる8量体ヒストンの形成が促進される。これと同時に、ヒストンとDNAの間に生じる静電引力も低減されヒストンとDNAの非特異的な相互作用も最小限に抑えられる。その結果、8量体ヒストンがDNAと適切に会合できる機会が増加し、正しい構造のヌクレオソームが形成されやすくなっている。

ヌクレオプラスミンの作用機構は上記のように複雑なものであったが、Laskeyらはその働きをタンパク質（生体高分子）のシャペロンに見立て“分子シャペロン”の一言でシンプルかつスマートに表現してみせた。

自発的フォールディングとその例外

1950年代にAnfinsenらが試験管内で行ったリボヌクレアーゼのリフォールディング実験により(図2)、ネイティブタンパク質の立体構造はアミノ酸配列によって決まる、もう少し具体的に言えば、アミノ酸が連結したポリペプチド鎖は機能を発揮するための特異的な立体構造へと外的因子の補助なしに自発的にフォールディングする、というタンパク質フォールディングに関するもっと

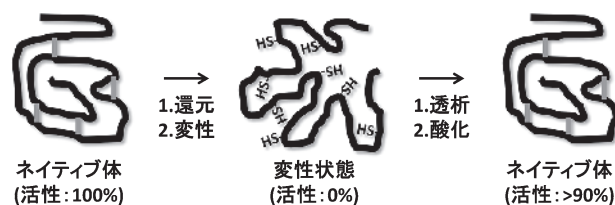


図2. リボヌクレアーゼのリフォールディング実験

も重要な仮説 (Anfinsen's dogma) が発表された³⁾。また同時期に、別の研究グループから、核酸とタンパク質を試験管内で混ぜ合わせると、それらが自発的に会合し、元の機能を持った構造体 (タバコモザイクウイルス⁴⁾や原核生物のリボソーム^{5,6)}) を再構成できることが報告されたこともあり、細胞内で起こる複合体の形成も試験管内と同様に外的因子の補助なしに自発的に起こるという考え方が一般に受け入れられていた。一方で、バクテリオファージのカプシドタンパク質の会合には足場となるタンパク質が要求されることも知られていた⁷⁻⁹⁾。この足場タンパク質は大腸菌の生育に必須の因子として発見されたGroELである。GroELはヒートショックタンパク質の一種で、現在ではもっとも研究が進んでいる分子シャペロンとして知られているが、1970年代の後半までは、先に紹介した“自発的なフォールディングや会合”の例外くらいにしか考えられていなかった。しかし、1980年代に入ると、GroEL以外にも進化的によく保存されたHSP70やHSP90が、さまざまな種類の細胞に比較的豊富に存在するヒートショックタンパク質として発見され、多様な手法で解析が進むに連れて、これらヒートショックタンパク質にスクレオプラスミン様の働きがあることが予想されるようになってきた。特にHSP70においては、部分変性した基質の疎水性領域に特異的に結合し、基質間に生じる不適切な相互作用を最小限に抑える働きがあることや、ATP加水分解による構造変化を利用して基質との親和性を変える (結合と解離を繰り返す) ことで、基質のフォールディングやアンフォールディング、さらには会合や脱会合を助ける働きがあるのではないかと示唆されるまでになっていた¹⁰⁾。

ちょうどこの頃に、植物細胞の葉緑体でCO₂固定化反応を触媒する酵素であるリブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (RuBisCo) に関する研究を行っていたEllisは、植物細胞には新規に合成されたRuBisCoサブユニットに結合するオリゴマータンパク質が存在していることを発見した¹¹⁾。さらに、このオリゴマータンパク質のRuBisCoサブユニットへの結合はMg²⁺イオンとATPに依存し、RuBisCoサブユニットがホロ酵素に組み込まれるまでの一時的なものであることも明らかにしていた¹²⁾。Ellisは、このオリゴマータンパク質の発見に加え、GroELやHSP70など、これまで自発的なフォールディングや会合の例外としか考えられていなかったタンパク質が、さまざまな種類の細胞に広く保存されており、細胞内で生じるポリペプチド鎖のフォールディングや会合は、これらのタンパク質が介添えすることによって適切に制御されているのではない

かと考え始めた研究者の一人であった。

分子シャペロンとは

1987年に、コペンハーゲンのカールスバーク研究所で開催されたNATO Advanced Study Institute Plant Molecular Biologyにおいて、Ellisはある重要な提案をした。それはLaskeyらがスクレオプラスミンの機能を分かりやすく表現するために生み出した“分子シャペロン”という用語を、スクレオプラスミンと同じような機能を持つ細胞内タンパク質全般を示す用語として拡大解釈しようというものだった。この時Ellisが発表した分子シャペロンの定義は、①基質となるポリペプチド鎖のフォールディングとオリゴマー構造への会合が正しく進むように介添えする、②基質の最終構造の一部にも成らないし、基質の立体構造も指定しない、であった¹³⁾。簡単に言えば、分子シャペロンは基質がアミノ酸配列によって規定されたネイティブ構造を形成しやすい環境、あるいはその機会を提供するだけで、この部分はヘリックス構造に、この部分はシート構造にならさいというような働きかけは一切しないと言うものである。さらにEllisは、さまざまな分子で混み合った細胞内環境を考慮すれば、新規合成ポリペプチド鎖のフォールディングや会合は予めそこに存在するタンパク質群と相互作用しながら進行すると考える方が直観的であり、細胞内では“自発的なフォールディングや会合”と“分子シャペロンが介在するフォールディングや会合”が共存すると考える方が適当であることに触れ、分子シャペロンという概念の重要性を強く訴えた¹⁴⁾。分子シャペロンの概念を発表した翌年、EllisはHemmingsenらとともに、植物のRuBisCoサブユニットに結合するオリゴマータンパク質が大腸菌のGroELと相同分子であることを同定した。同時期にMcMullinらによって、GroEL抗体に交差する、分子量58,000–64,000のタンパク質が、酵母、カエル、トウモロコシ、ヒトのミトコンドリアに共通して存在することが明らかにされていた¹⁵⁾ことから、Ellisらはこのサイズのタンパク質が進化的に保存された分子シャペロンであると考え、特別に“シャペロニン” (Chaperonins) と呼ぶことを発表した¹⁶⁾。分子シャペロンとシャペロニンはよく混同されるが、シャペロニンはスクレオプラスミンやHSP70などと同じように、分子シャペロンの定義に当てはまる一つのタンパク質ファミリーである。

これら分子シャペロンの概念は、Ellisの提唱から約30年が経過した今日まで、ほとんど変わらずに受け継がれている。

分子シャペロンのいまとこれから

現在, Small HSPs, HSP40, HSP60 (Chaperonins), HSP70, HSP90, HSP100などのヒートショックタンパク質が主要な分子シャペロンとして知られており, 個々の分子シャペロンの構造と機能, 基質特異性, 細胞内局在など基本的な事柄については詳細な説明ができるようになってきた¹⁷⁾. また分子シャペロンは, ネットワークを形成して協奏的に働くことも知られており, 新規合成ポリペプチド鎖のフォールディングに関して言えば, 細胞内タンパク質の約30%が分子シャペロンの介添えを要求する(図3)ことが明らかにされている^{18,19)}. これ以外にも, 分子シャペロンは, タンパク質の品質管理(複合体形成, 輸送, リフォールディング, 脱凝集)をルーチンワークとしてこなしており, 細胞が正しく機能するために必要不可欠な因子となっている²⁰⁾. したがって, 細胞の老化や過度のストレスの蓄積により, 分子シャペ

ロンのネットワークが崩壊するような事態に陥れば, 細胞の恒常性維持に関わる個々のタンパク質の機能不全(機能バランスの不均衡化)が生じ, 代謝系の異常, 腫瘍の進展, 神経変性疾患や心血管障害など, さまざま病気の症状が進行すると考えられるようになってくる²¹⁾. 以上のように, 分子シャペロンと病気との関連性も少しずつ明らかになってきたが, 詳細に関してはまだまだ不明な点が多い. 分子シャペロンの機能と発病のメカニズムを総合的に理解し, 効果的な予防法や治療法を確立するためには, 引き続き地道な原理証明実験が必要である.

文 献

- 1) Laskey, R. A. *et al.*: *Nature*, **275**, 416 (1978).
- 2) Earnshaw, W. C. *et al.*: *Cell*, **21**, 373 (1980).
- 3) Anfinsen, C. B. *et al.*: *Science*, **181**, 223 (1973).
- 4) Klug, A.: *Harvey Lect.*, **74**, 141 (1979).
- 5) Traub, P. and Nomura, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **59**, 777 (1968).
- 6) Nomura, M. and Erdmann, V. A.: *Nature*, **228**, 744 (1970).
- 7) Georgopoulos, C. P. *et al.*: *J. Mol. Biol.*, **76**, 45 (1973).
- 8) Sternberg, N.: *J. Mol. Biol.*, **76**, 25 (1973).
- 9) Zweig, M. *et al.*: *J. Mol. Biol.*, **80**, 505 (1973).
- 10) Pelham, H. R.: *Cell*, **46**, 959 (1986).
- 11) Barraclough, R. and Ellis, R. J.: *Biochim. Biophys. Acta*, **608**, 19 (1980).
- 12) Musgrove, J. E. *et al.*: *Eur. J. Biochem.*, **163**, 529 (1987).
- 13) Ellis, J.: *Nature*, **328**, 378, (1987).
- 14) Ellis, R. J. and Hemmingsen, S. M.: *Trends Biochem. Sci.*, **14**, 339 (1989).
- 15) McMullin, T. W. and Hallberg, R. L.: *Mol. Cell. Biol.*, **8**, 371 (1988).
- 16) Hemmingsen, S. M. *et al.*: *Nature*, **333**, 330 (1988).
- 17) Vabulas, R. M. *et al.*: *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**, a004390 (2010).
- 18) Ewalt, K. L. *et al.*: *Cell*, **90**, 491 (1997).
- 19) Thulasiraman, V. *et al.*: *EMBO J.*, **18**, 85 (1999).
- 20) Buchberger, A. *et al.*: *Mol. Cell*, **40**, 238 (2010).
- 21) Balch, W. E. *et al.*: *Science*, **319**, 916 (2008).

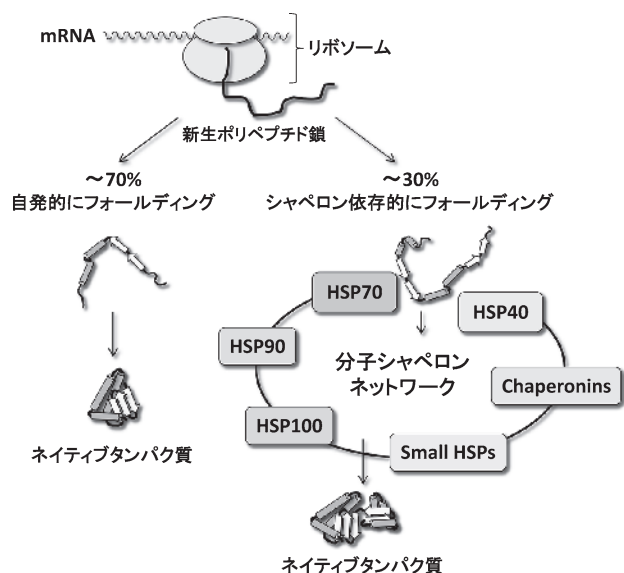


図3. 細胞内タンパク質フォールディングと分子シャペロン