

タンパク質の形のダイナミックな変化を1分子観察でとらえる 「介添人」シャペロンのはたらきを分子レベルで解明

発表者：

坪山 幸太郎（東京大学大学院新領域創成科学研究科 博士課程3年）

多田隈 尚史（大阪大学蛋白質研究所 助教）

泊 幸秀（東京大学定量生命科学研究所 RNA機能研究分野 教授）

雑誌名：「*Molecular Cell*」

日本時間5月18日（金）午前1時（アメリカ東部夏時間：17日（木）正午）

発表のポイント：

- ◆タンパク質の一部は、「介添人」の役割を果たすシャペロン（注1）の助けを借りて、自身の形を変えることではじめて機能を発揮します。
- ◆今回、シャペロンが手助けをする対象であるクライアントタンパク質（注2）の形のダイナミックな変化を、1分子レベルで観察することに世界で初めて成功しました（図1）。
- ◆シャペロンがクライアントタンパク質に作用する際、前半ではたらくシャペロンシステムと後半ではたらくシャペロンシステムの機能に、大きな違いがあることを見出しました（図2）。

発表概要：

タンパク質の一部は、「介添人」の役割を果たすシャペロンの助けを借りることにより、自身の形を変えることではじめて機能を発揮することができるようになります。このようなタンパク質は「クライアントタンパク質」と呼ばれ、細胞の中に少なくとも数百種類あることが知られています。しかし、シャペロンがクライアントタンパク質の形をどのように変化させるのかについては、これまで詳しく調べる方法がなく謎に包まれていました。

今回、東京大学定量生命科学研究所の坪山幸太郎大学院生、泊幸秀教授、大阪大学蛋白質研究所の多田隈尚史助教の研究チームは、1分子イメージング技術（注3）（図3）を用いて、クライアントタンパク質の一つであるアルゴノート（注4）の形がダイナミックに変化する様子を直接観察することに、世界で初めて成功しました。

本成果は、シャペロンがクライアントタンパク質の形を変え、その機能を活性化するしくみを解き明かす画期的な研究成果であるとともに、シャペロン機能の制御を利用した医薬品開発を加速させることが期待されます。

発表内容：

シャペロンは、作られたばかりのタンパク質の形を整えるだけでなく、完成したタンパク質の形を変化させることによって、そのタンパク質の持つ本来の機能を引き出し、活性化する作用があります。分子シャペロンの一つにHsp70とHsp90（注5）という2つタンパク質を中心としたHsp70/90シャペロンシステムがあります。

Hsp70/90 シャペロンシステムが手助けするタンパク質は、細胞の中に少なくとも数百あることが知られています。この中には、がん細胞の成長を抑える役割を持つ p53、逆にがん細胞の成長を促す異常な融合タンパク質である BCR-ABL、アルツハイマー病の原因であるタウタンパク質、そして RNA サイレンシング（注 6）において中心的な役割を果たすアルゴノートなど、数多くの重要なタンパク質が含まれます。これまでに、アルゴノートは、Hsp70/90 シャペロンシステムの助けを借りてはじめて、小さな RNA（注 7）と機能的な複合体を形成することが分かっていました。しかし、複合体を形成するのに必要な Hsp70/90 シャペロンシステムが、アルゴノートに対して具体的にどのような変化をもたらしているのかは、これまで詳しく調べる方法が無く、謎に包まれていました。

今回、東京大学の坪山幸太郎大学院生、泊幸秀教授、大阪大学蛋白質研究所の多田隈尚史助教の研究チームは、アルゴノートの 2 つの異なる場所にそれぞれ異なる蛍光分子（注 8）で目印をつけ、1 分子イメージング技術を用いることで、Hsp70/90 シャペロンシステムのはたらきによってアルゴノートの形がダイナミックに変化する様子を直接観察することに成功しました。これは、Hsp70/90 シャペロンシステムがクライアントタンパク質の形を変化させる過程を 1 分子レベルでとらえた、世界で初めての例です。

具体的には、アルゴノートは単体で空の状態では閉じた形をしていますが、Hsp70/90 シャペロンシステムがはたらきかけると、アルゴノートは大きく開いた形になるということが分かりました。一方、シャペロンがはたらいている状態のアルゴノートに小さな RNA が取り込まれ、複合体を作ると、アルゴノートの形はやや開いた形になって安定しました（図 2）。つまりアルゴノートが小さな RNA と機能的な複合体を作るためには、まずシャペロンの力を借りて一旦大きく開いた形になり、小さな RNA が入るためのスペースを作る必要がある、と考えられます。

Hsp70/90 シャペロンシステムは複数のタンパク質からなり、前半ではたらく Hsp70 システムと後半ではたらく Hsp90 システムに分けることができます。これまで、この 2 つのシステムが協調してクライアントタンパク質を活性化することは知られていましたが、2 つのシステムのはたらきの違いについてはよく分かっていませんでした。今回、アルゴノートをモデルとして、それぞれのシステムの役割を詳しく調べてみると、前半ではたらく Hsp70 システムだけでは、アルゴノートを一時的に開いた形にすることができるものの、すぐに閉じた形に戻ってしまいました。一方で、後半ではたらく Hsp90 システムは一時的に開かれた形を安定化し持続させる機能があることが分かりました（図 2）。このように、これら 2 つのシステムは、共にアルゴノートを開かせる方向にはたらくものの、その作用メカニズムには大きな違いがあることが見いだされました。今回明らかになった Hsp70 システムと Hsp90 システムのはたらき方の違いと協調動作のしくみは、アルゴノートに限らず、様々なクライアントタンパク質に対しても共通であると考えられます。よって今回の研究は、長年不明だった「Hsp70/90 シャペロンシステムはクライアントタンパク質に対して何を行っているのか」という根本的な問いに対し、1 つの答えを与えるものと言えます。

近年、シャペロンのはたらきを制御して、がんやアルツハイマーなどの原因となるタンパク質の機能を調整することにより、病気の治療を行うという試みがなされています。本成果は、

シャペロンが担う分子レベルの役割に迫る画期的な研究成果であり、現在進められているシャペロンを標的とする医薬品の開発などの応用を加速することが期待されます。

発表雑誌：

雑誌名：*Molecular Cell*

論文タイトル：Conformational activation of Argonaute by distinct yet coordinated actions of the Hsp70 and Hsp90 chaperone systems

著者：Kotaro Tsuboyama, Hisashi Tadakuma†, and Yukihide Tomari† (†責任著者)

問い合わせ先：

東京大学 定量生命科学研究所 RNA機能研究分野

教授 泊 幸秀 (とまり ゆきひで)

用語解説：

注1「シャペロン」

英語表記は **Chaperone**。シャペロンとは、フランス語で社交界にデビューする際の「介添人・付添人」というのが元来の意味です。転じて、細胞内でタンパク質の正しい折りたたみや機能の活性化、複合体の形成などを促進するはたらきをもつタンパク質のことを総称してシャペロンと呼ぶようになりました。

注2「クライアントタンパク質」

英語表記は **Client protein**。クライアントとは「顧客」という意味であり、シャペロン(介添人)が対象とするクライアント(顧客)としてのタンパク質というところから、このように呼ばれるようになりました。

注3「1分子イメージング技術」

分子1個だけを可視化し、観察する技術。今回の実験では、全反射蛍光顕微鏡という特殊な顕微鏡(図3)を用い、蛍光分子で目印をつけたアルゴノートをガラス上に固定して、1分子のアルゴノートの形がダイナミックに変わっていく過程を観察しました(図1、2)。

注4「アルゴノート」

英語表記は **Argonaute**。アルゴノートは、RNAサイレンシング(注8)における中心的なタンパク質であり、細菌からヒトに至るまで幅広い生物がもっています。シャペロンのクライアントタンパク質の一つであり、シャペロンの助けを借りて小さなRNA(注9)と複合体を形成し機能します。

注5「Hsp70」「Hsp90」

読み方は「エイチ・エス・ピー70」「エイチ・エス・ピー90」、Heat shock proteinの略。日本語では、熱ショックタンパク質とも表記されます。熱ショックを与えたときにその量が増えることから、この名前が付けました。シャペロンに属するタンパク質です。

注6「RNAサイレンシング」

読み方は「アール・エヌ・エー・サイレンシング」。二本鎖の RNA が存在すると、そこから小さな RNA が作られ、その配列に対応する遺伝子の発現が抑制されるという現象のことを指します。1998年に線虫で発見されて以来、現在までにヒトを含む様々な生物で RNA サイレncing が起きることがわかっています。この発見と応用が生物学の進歩に与えた影響は高く評価されており、発見者のアンドリュー・ファイアー博士とクレイグ・メロー博士には、2006年にノーベル生理学医学賞が授与されました。

注7「小さな RNA」

読み方は「アールエヌエー」。Ribonucleic acid の略。日本語ではリボ核酸とも表記されます。最も一般的な RNA であるメッセンジャーRNA (mRNA) は、DNA がもつ遺伝情報が RNA 合成酵素によって写し取られたものであり、タンパク質を作るための設計図としてはたらきます。一方、小さな RNA はタンパク質の設計図としてははたらかず、RNA サイレncing を誘導することによって、逆にタンパク質が作られない様にする役割を果たしています。

注8「蛍光分子」

ある特定の波長の光（励起光）を吸収し、その光よりも長い波長の光（蛍光）を放出する分子を蛍光分子と呼びます。蛍光分子を使って目印をつけることで、タンパク質や DNA、RNA など細胞をつくる部品の位置や動きについて、顕微鏡を用いて調べることができるようになります。今回の実験では、アルゴノートタンパク質を2種類の異なる蛍光分子で標識することによって、そのタンパク質の形が変わる様子を観察しました（図1、2）。

添付資料：

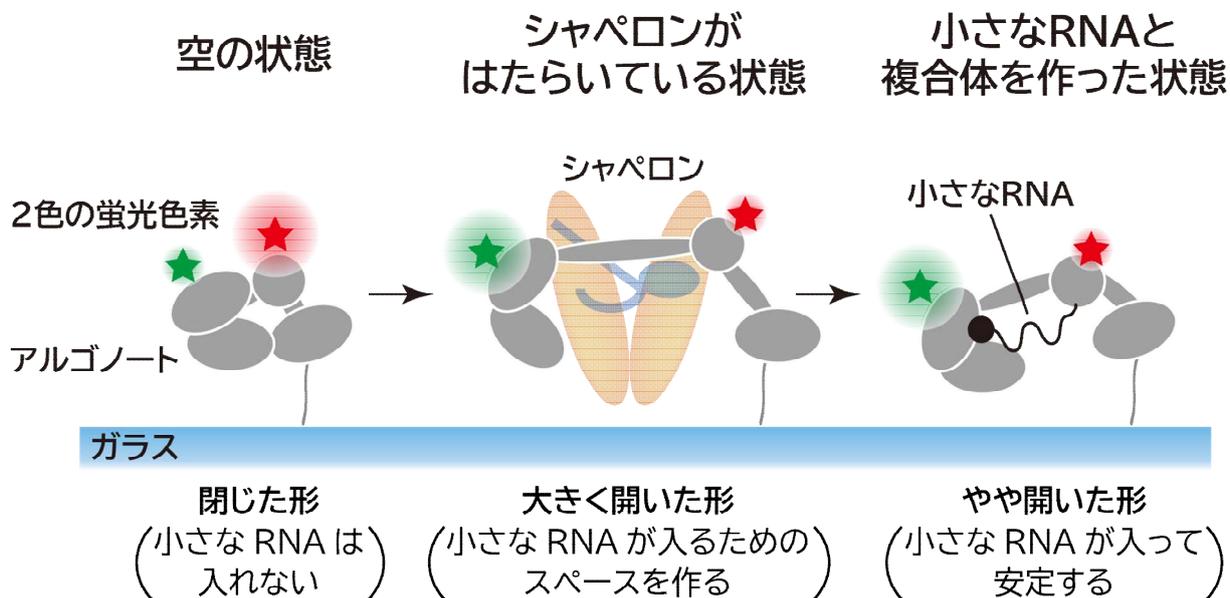


図1：今回の実験のイメージ図

スライドガラス上に固定したアルゴノートタンパク質（灰色の4つの丸が繋がったもの）には、赤色と緑色の蛍光分子（星印）で目印がついており、その間の距離をはかることができます。空の状態だと閉じた形ですが、シャペロンがはたらくと大きく開いた形になり、小さなRNAと複合体を作ると少しだけ閉じてやや開いた形で安定することが明らかになりました。

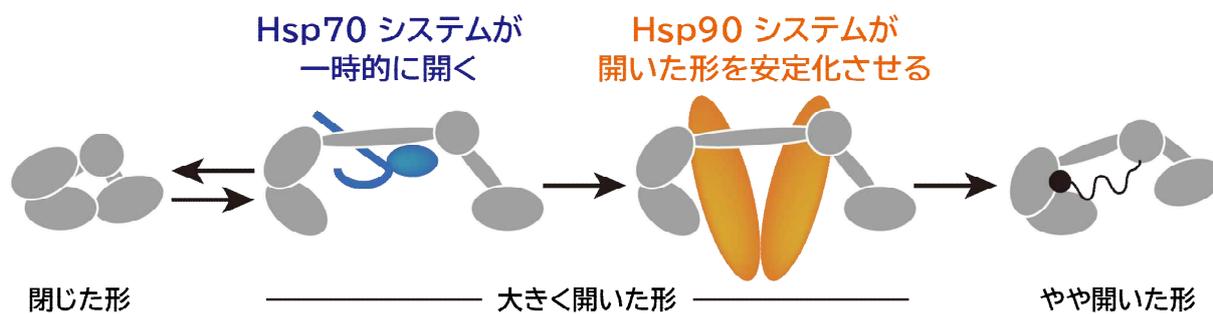


図 2 : シャペロンのはたらき方

空のアルゴノートは閉じた状態ですが、前半ではたらく Hsp70 システムだけでは、アルゴノートを一時的に開いた形にすることができるものの、すぐに閉じた形に戻ってしまいます。一方で、後半ではたらく Hsp90 システムは一時的に開かれた形を安定化し持続させる機能があることが分かりました。そして、この開いた形のアルゴノートは小さな RNA と複合体を作り、最終的にはやや開いた形で落ち着きます。

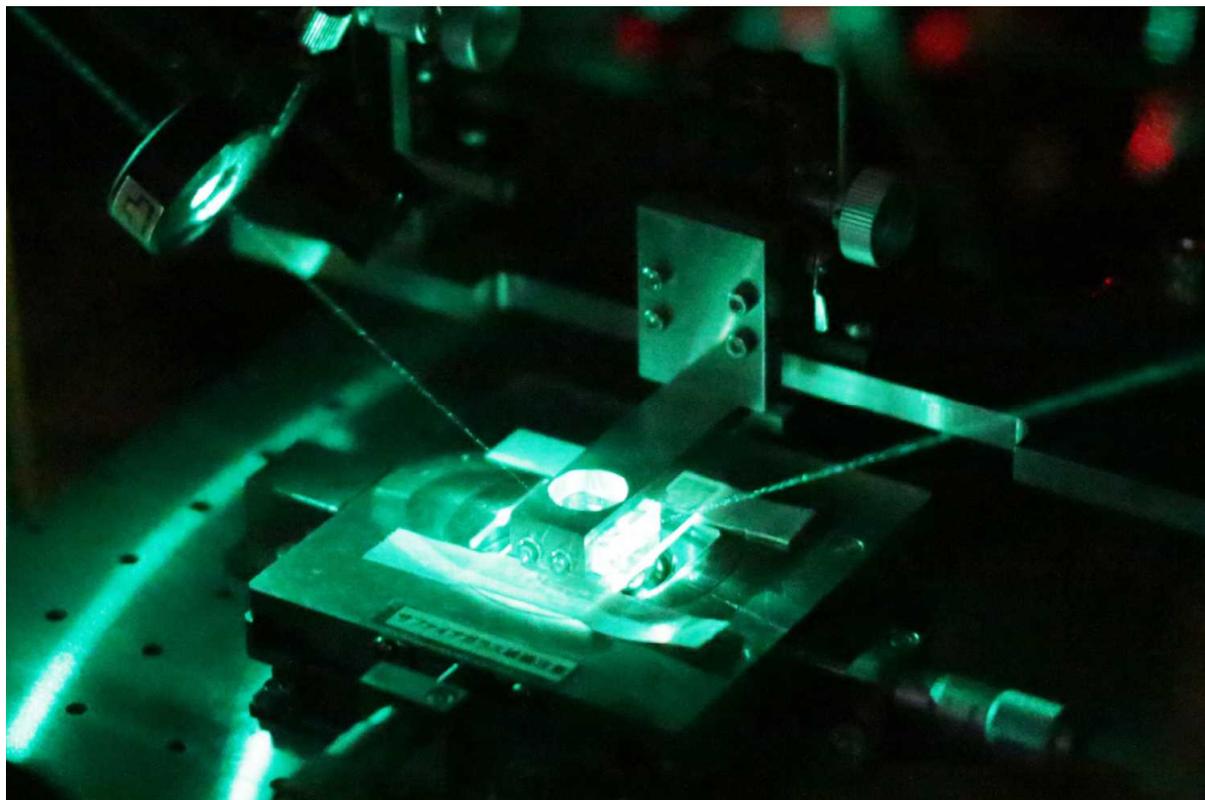


図3：1分子イメージング技術

写真は1分子イメージングの様子を表しています。観察するスライドガラスは、写真中央の石英プリズムの下に設置されています。写真左上から入射するレーザー光（緑色）は、石英プリズムで全反射し、写真右に抜けていきます。この時に生じる微弱な光を用いて、スライドガラス上でアルゴノートが形を変える過程をとらえました。