



# TAGEN FOREFRONT 05

# 多元研

*CHICHIBU, Shigefusa*

*INABA, Kenji*

*YAMANE, Hisanori*

*OHTANI, Hiroshi*

*UEDA, Kiyoshi*

*TAKAHASHI, Masabiko*

*KAWAMURA, Junichi*

# 最前線

# 生体機能を司るタンパク質 その維持管理機構を解き明かす試み



ヒトの細胞内の成分は70%が水ですが、その次に多いのがタンパク質で約15%を占めています。このタンパク質は、生体機能を司る重要な役割を果たしています。タンパク質は遺伝子の遺伝情報に基づいて、細胞内で合成されます。ヒトの遺伝子は約2万~3万個と言われ、通常は1つの遺伝子から1種類のタンパク質が転写されて作られますが、1つの遺伝子から複数のタンパク質が作られることもあり、それも入れると約10万種程度とも言われます。

細胞内で遺伝情報に基づき合成されたタンパク質は、適切な場所で正しい立体構造を形成することにより、それぞれ独自の機能を発揮します。しかし中には、うまく構造を形成できずに不良タンパク質になったり、合成後に何らかのストレスを受けて不良になる場合もあります。それでもそれら不良品は通常、細胞の中には検出されません。つまり正しく形成されたタンパク質を残し、不良なものは分解・除去しようというタンパク質の品質管理が働いているからです。

なぜ立体構造が正しく安定し、なぜ不良なものが排除されるのか。稲葉謙次教授は、タンパク質の立体構造を安定化させるジスルフィド結合に着目し、どのように結合が形成補強され、またどのように結合が解除されるのか、細胞システムの機能発現メカニズムについて、さまざまなアプローチによって解明への取り組みを進めています。

こうした研究によって、細胞内でタンパク質の品質がどのように管理維持されているか、基礎細胞生物学的に非常に重要な知見が得られ、さらに細胞の中で機能不全に陥ったタンパク質の蓄積に起因する疾病の成因解明は、将来的には治療法の開発や疾病予防にもつながるものと期待されています。

多元物質科学研究所  
有機・生命科学部門  
生体分子構造研究分野 教授

## 稲葉 謙次

INABA, Kenji

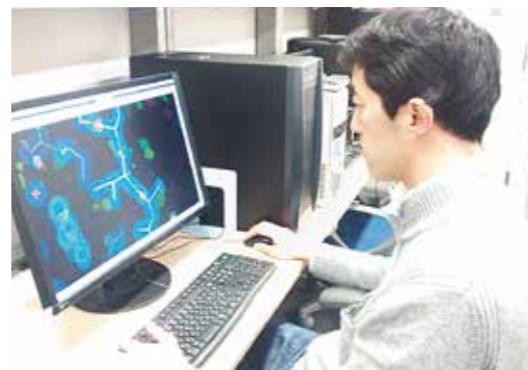
1970年京都府生まれ。1993年京都大学理学部化学科卒業、1998年京都大学工学研究科博士課程修了、1998年英国 Medical Research Council 博士研究員、2000年京都大学ウイルス研究所博士研究員、2001年JSTさきがけ21研究員、2005年JST CREST研究員、2006年九州大学生体防御医学研究所特任准教授、2011年九州大学生体防御医学研究所准教授、2013年東北大学多元物質科学研究所教授。第8回(2011年度)日本学術振興会賞受賞。

<http://www.tagen.tohoku.ac.jp/modules/laboratory/index.php?laboid=87>

## FOREFRONT REVIEW

2013年4月、稲葉謙次教授が多元研に着任して誕生した、新しい研究室です。研究の基本は「タンパク質の徹底研究」。タンパク質は、安定した立体構造を形成して初めて、さまざまな機能を発揮します。また誤った構造を形成し、不良なタンパク質ができてしまうことがあります。細胞は、生かすタンパク質と不良なタンパク質を排除するという品質管理のシステムを備えています。この巧みなタンパク質品質管理の仕組みを、分子構造レベルから細胞レベルまで広く探求しようというのが、研究室の目標です。

渡部聡助教。コンピュータを用いて、タンパク質の立体構造のモデリングを行っている。タンパク質の働きを理解するためには、タンパク質の立体構造を原子レベルで「目で見る」ことが必要。立体構造を明らかにすることによって、タンパク質の機能やタンパク質同士の連係の様子を解明することを目指す。



## 多彩な研究アプローチにより タンパク質を総合的に検証する

### タンパク質が働いている メカニズムを探る

「私たちの体の中でタンパク質はどのように働いているのか。そこがいちばん基本的なテーマです」と、稲葉謙次教授は話し始めます。タンパク質がどのような働きをしているのかを探ろうとする時に、タンパク質の立体構造が決定できれば、タンパク質が働いているメカニズムがかなり見えてきます。立体構造だけではなく、立体構造をもとにアミノ酸に置換を加えたり、他の機器を用いて反応中にどのようにタンパク質が変化しているのかをリアルタイムに観察しながら、タンパク質のメカニズムの本質に迫ります。

一方で、実際の細胞の中でメカニズム

の機能が発揮されているのを細胞レベルで検証するには、そのタンパク質を発現している遺伝子を壊してみたり、少しタンパク質を変えたものを細胞に入れてやったりして、実際その細胞の働きがどう変わるか実験することによって、ほんとうのタンパク質の機能やメカニズムが見えてくることがあります。

このように、主に X 線結晶構造解析によってタンパク質の立体構造と分子機構を研究し、細胞生物学的手法によってタンパク質の真の機能に迫ります。

「タンパク質の研究において、もうひとつ大事なのは、タンパク質は他のタンパク質や他の分子と協働で働いているということ」と稲葉教授は話します。つまり、それ

らは相互作用をしながらネットワークを形成することで、高次の機能が生まれるのです。たとえば免疫、あるいは記憶、これらは1つのタンパク質でできるわけではありません。その働きを行っているネットワークの全体像を解明する必要があります。タンパク質についての、こうした研究アプローチをプロテオミクスと呼んでいます。

「構造生物学・タンパク質化学とプロテオミクスのアプローチによって、細胞のタンパク質についてのメカニズムを網羅的、統合的に理解していこう、というのがこれからの分子細胞生物学に取り組む私たちの指針です」。

### 立体構造を形成して 初めて機能を発揮

そのようなアプローチによって、それでは何を探求するのでしょうか。「それは、タンパク質の品質管理。細胞の中でタンパク質の品質管理がどのように働いているか、を研究します」と、稲葉教授は答えます。

タンパク質は、合成直後はきちんとした立体構造を形成できずに、まだ機能を発揮できない状態です。正しい立体構造が



タンパク質を精密に分析するためには、適切なタンパク質の試料調整や結晶づくりが欠かせない。生化学的手法による試料からの精製や、さまざまな手法による結晶作成など、質の高い試料づくりの積み重ねによって、質の高い分析が実現する。



タンパク質というのは、遺伝情報に基づいて作られた複数のアミノ酸の連なりから成るポリペプチド鎖です。短いものでアミノ酸が数10個、長いもので1000個から数千個連なっています。タンパク質が生まれだての時には、このポリペプチドがぶらぶらした不安定な状態でタンパク質としての

機能できて初めて機能を発揮できるようになります。タンパク質の成長にとって、立体構造の形成はさきわめて重要な意味をもちます。そこで細胞には、タンパク質がうまく自然に立体構造を形成できるように補助するシステムが備わっています。一方でうまく立体構造を形成できずに不良品になるものもあり、それを分解除去しようとするシステムもあります。「正しいもの、正しくないものを見分ける仕組み、まさに品質管理がどのようなメカニズムで作用しているのか、その解明に取り組んでいます」。

### 重要な役割を果たす 分子シャペロン

タンパク質品質管理の解説の前に、少しタンパク質の基本についてふれておきましょう。

機能を果たせません。細胞内の適切な場所で安定した状態、つまり特有の立体構造を形成できるように折りたたまれる必要があります。立体構造の安定性はまちまちで、30分ぐらいで分解に回される寿命の短いものや、安定して数か月維持されるものもあります。

タンパク質の立体構造形成の段階で重要な役割を果たしているのが、分子シャペロンという細胞補助因子です。自らもタンパク質ファミリーですが、多くのタンパク質が立体構造形成をしていく過程でアシストしています。

「私たちは、これら細胞が備えるタンパク質の立体構造形成促進のための作用システムを、生化学、分子細胞生物学的手法を駆使して、徹底的に研究しています」。

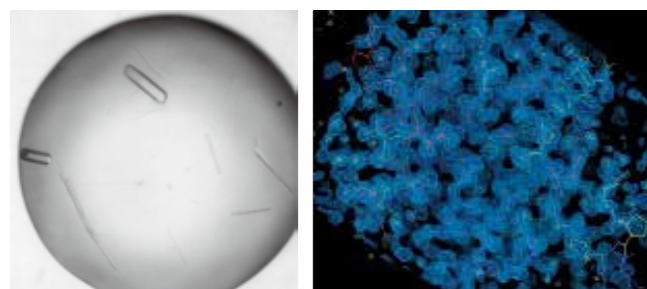
## TERM INFORMATION

### タンパク質のX線結晶構造解析

タンパク質の立体構造を原子レベルで決定するための主たる手法の一つ。これを達成するまでに、①高純度に精製したタンパク質を様々な条件で結晶が出るか検討する、②得られた結晶をSPring-8や高エネルギー研究所などの放射光施設にもっていき、回折データを収集・解析する、③分子置換法や重原子同型置換法などにより位相を決定する、④電子密度をみながらタンパク質モデルを構築する、⑤決定した構造が立体化学の法則や観測データと合致するかを指標に、構造リファインメントを行う、などのステップがあります。全てのステップにおいて障壁があり、タンパク質のX線結晶構造解析を達成するのは一般に容易ではない。タンパク質によっては、何年かけても達成できないことも珍しくない。また世界的に競争が激しく、同じタンパク質をターゲットにしている研究者が常に複数いると思っただけで遂行する必要がある。まさに実験センスと執着心と忍耐力が試される分野である。

### 分子シャペロン

細胞内で合成されたタンパク質が高次構造を形成する過程で凝集するのを防ぎ、正しい構造と独自の機能を獲得するのを助けるタンパク質群のこと。シャペロンとは、社交界にデビューする若い貴婦人に付き添う年上の女性を意味する。まさに合成された直後のタンパク質が細胞の中でデビューし、正常な構造と機能を獲得するよう促すという意味で、分子シャペロンと名付けられた。



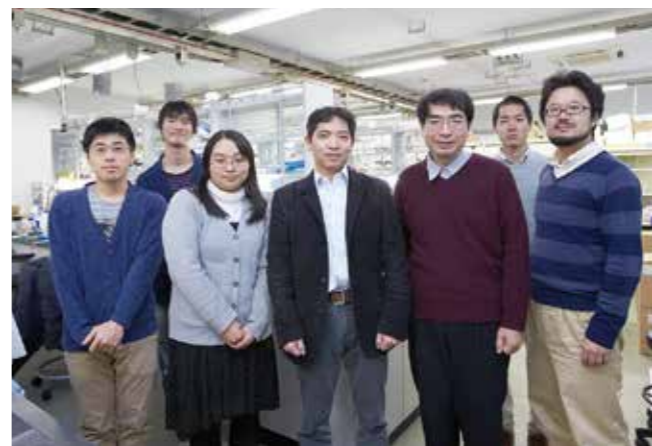
タンパク質の立体構造形成の仕組みを解き明かすためには、何らかの方法で作成したタンパク質の結晶を回折測定する。左はタンパク質の結晶。右は電子密度解析による、タンパク質の立体構造を反映した電子の集まり。これを利用してコンピュータ上で構造モデルを組んでいく。

## スポーツで鍛えた「負けるもんかスピリット」で、研究も乗り越えたい

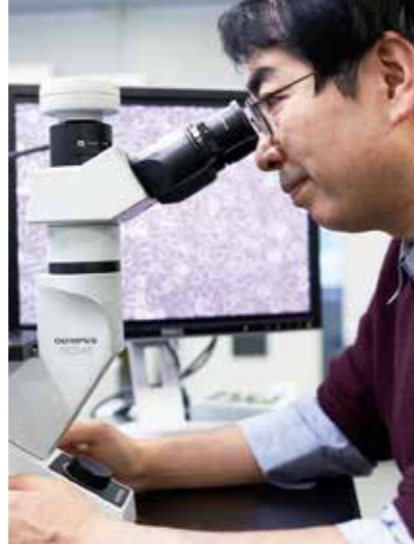
中学ではバレーボール、高校では陸上、大学ではテニス、研究者になってからもテニスやソフトボールと、常にスポーツをしてきました。そして東北に来てからはスキーも20年ぶりに始めました！中学、高校のクラブでは、京都府大会で2位や3位に入り、表彰されたことも(残念ながら優勝はできませんでしたが…)。特に、中学のバレー部で一緒だったエースの選手は高校で京都代表に入ったり、ライバルのチームで全日本に入った選手がいたりという環境の中で、けっこうハードな選手生活を過ごしていました。多元研に着任してから娘の小学校のPTAのバレーボール大会で、張り切りすぎてアキレス腱を痛めてしまったという笑い話があります。自分が活躍するイメージは昔のまま、体がそれに追いつかない状態でした。研究には競争もあるし、実験には根性も必要です。うまくいなくて辛いときがあっても、負けるもんかと、自分もみんなもがんばりましょう。



稲葉研究室のメンバー。メンバーになる条件は「細胞が備える巧みなタンパク質品質管理システムを分子構造レベルで解明したい」という強いモチベーションがあること。化学専攻からでも生命科学科からも幅広く門戸を開いている。



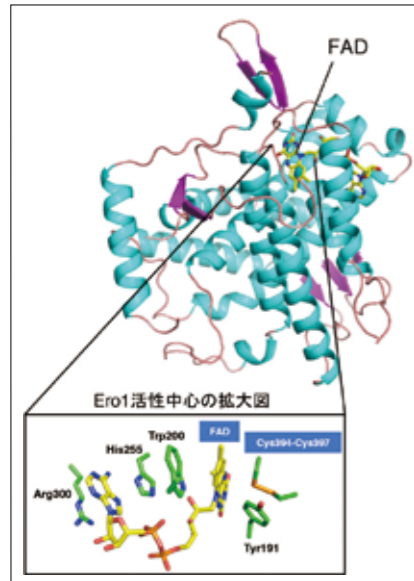
門倉広准教授。ジスルフィド結合形成の仕組みを解き明かすため、動物細胞を材料に、細胞生物学、プロテオミクス、化学遺伝学(特異的な阻害剤の探索と利用)などの手法で研究している。



# タンパク質の品質管理 その解明の先には医学的貢献も

## 不良タンパク質が引き起こす病気

多くのタンパク質が立体構造を形成して安定状態になる一方で、約30%ぐらいは立体構造を形成できずに機能不全の状態になるものもあります。おかしなタ



ヒト細胞におけるジスルフィド結合形成因子の構造とメカニズム / Inaba et al. EMBO J(2010)  
ヒト細胞内での蛋白質ジスルフィド結合形成において中心的役割を担うフラビン酵素 Ero1(小胞体において機能する酸化酵素のひとつ)の結晶構造解析に成功した事例。

ンパク質が蓄積してくると、細胞にとっても、われわれ個体にとってもストレスになります。そのストレスを軽減しようというシステムが細胞にはある、ということがかなり明確にわかってきました。「つまり個々のタンパク質に対して、これはまだ働いてもらおう、これはもう使えないので排除しよう、ということを見分ける品質管理システムです。それを司るタンパク質がどのように働いているのかを解明したい、というのが研究の大きな柱です」と稲葉教授。

ヒトの細胞内における不良タンパク質排除のメカニズムが解明されれば、医学的な意義が期待されるということになります。たとえばアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患の主要因のひとつとして、細胞の中に蓄積した不良タンパク質があるとされています。またその不良品蓄積によってストレスが起きて、糖尿病を引き起こすとも言われています。

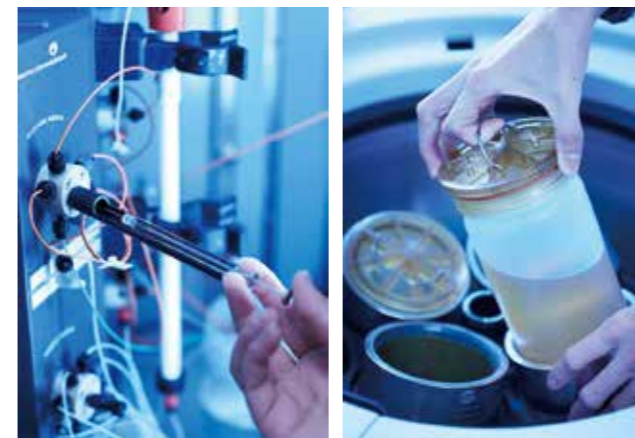
原因タンパク質としては、アルツハイマーはベータアミロイド、アルファシヌクレインなど。

筋萎縮性障害はトランスサイレチンというタンパク質が原因の一つとされています。「遺伝的にアミノ酸に変異を持つ先天的な病気を人もいますが、タンパク質の品質管理がしっかりしていれば、ふつうは病気が防がれています。これら品質管理にかかわるタンパク質の働きを、分子構造レベルで解明できれば、将来的には医学への貢献もできるようになると言えます」。

## 立体構造を安定させる S-S結合の役割

でき上がったタンパク質の立体構造の内部を調べると、アミノ酸間で多くの結合や相互作用が働いていることがわかります。そのなかで、ジスルフィド結合(S-S結合)と呼ばれる硫黄原子(S)間の共有結合は、その強固な性質のため、タンパク質の立体構造を安定化させる上で非常に重要な役割を担っています。

一方で、ジスルフィド結合は本来架かるべきペア間ではなく、誤ったペア間で形成されることもあります。誤って形成さ



タンパク質の機能研究には、立体構造の詳細な情報が欠かせない。構造生物学、生物物理学、生化学的な機能解析など、様々な手法による情報を得るため、研究室では、タンパク質精製用高速液体クロマトグラフィー、微量タンパク結晶化ロボット、大型遠心分離機などを備えている。

れた立体構造を修復するためには、ジスルフィド結合の組み換えが必要になります。「誤ったジスルフィド結合を開裂(還元)することでタンパク質の立体構造を解きほぐし、より分解除去されやすい形に変換するタンパク質(酵素)も見つかっています」と稲葉教授は話します。

このように、ジスルフィド結合の形成や開裂は、細胞におけるタンパク質の品質管理を決定する重要な要素であると言えます。

## さらに視野を広げてタンパク質を探求

近年の目覚ましい構造生物学の発展により多くの因子の立体構造が解かれ、それら因子の機能的性質を原子構造レベルで説明できるようになってきました。タンパク質品質管理のためのジスルフィドバイオロジーという分野を開拓し、追求しているのが稲葉謙次教授です。

大学院から一貫してタンパク質を研究し、京都大学ウイルス研究所時代、さら

に九州大学生体防御医学研究所時代に、主にタンパク質の立体構造を形成するシステムの解明というテーマで優れた業績を上げてきました。2011年度には、「タンパク質の品質管理に関わるジスルフィド結合形成・開裂システムの解明」によって日本学術振興会賞を受賞しました。

「タンパク質の品質管理システムには、もっと広がりがある」と稲葉教授は指摘します。たとえば細胞の中には、細胞核、ミトコンドリア、小胞体などいろいろな場所があり、それぞれ水素イオン指数(pH)が違ってきます。「その違いを利用してタンパク質をコントロールするシステムがあるということがわかってきました」。また、カルシウム、亜鉛、カリウム、ナトリウム、マグネシウムなどの金属イオンは、場所によって濃度が違ってタンパク質の立体構造に深く関わっていることもわかってきています。

こうして、稲葉教授はタンパク質の品質管理について、さらに視野を広げた研究への取り組みを進めています。

## TERM INFORMATION

### 神経変性疾患

中枢神経の中の特定の神経細胞群が徐々に死ぬことで発症する脳神経疾患の一つ。原因は未解明な部分が多いが、細胞内に蓄積するアミロイドタンパクなど不良タンパク質が原因の一つと考えられている。代表的なものに、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)などがある。

### タンパク質ジスルフィド結合

二つのシステインと呼ばれるアミノ酸に含まれるチオール基が二電子酸化をうけて形成される硫黄原子間の共有結合。タンパク質分子中で捕獲金具のように振るまい、出来上がった立体構造の安定化、機能の発現制御などに関わる。

### 小胞体

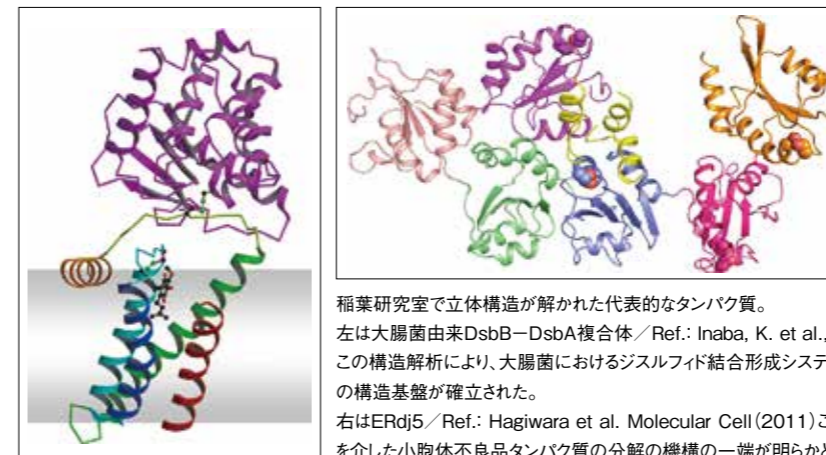
分泌タンパク質が合成される細胞内小器官の一つ。小胞体の中にはタンパク質の立体構造形成を助ける因子や、不良タンパク質の分解を促進する因子が多く存在し、タンパク質品質管理システムが特に発達していると考えられている。

## OFF TIME

### 仙台はお気に入りの街。これからも東北発見の旅を少しずつ

仙台に赴任して、まもなく2年になります。来るまではこちらは寒いのではと心配でしたが、思ったほど寒くなく安心しました。仙台の街並みは大好きです。定禅寺通は、歩いたり、車で通ったり、きれいでお気に入りの場所です。郊外では、秋保や作並の雰囲気が好きでよく出かけます。

だいたい忙しい日々になってしまいがちですが、ちょっとエネルギーがあって元気な時は、家族といっしょに東北の各所を見てまわっています。以前はずっと関西や九州にいましたので、東北の自然や文化が新鮮で、これからも少しずつ東北発見を増やしていきたいと思っています。



稲葉研究室で立体構造が解かれた代表的なタンパク質。  
左は大腸菌由来DsbB-DsbA複合体 / Ref.: Inaba, K. et al., Cell (2006)  
この構造解析により、大腸菌におけるジスルフィド結合形成システムDsbB-DsbAの構造基盤が確立された。  
右はERdj5 / Ref.: Hagiwara et al. Molecular Cell(2011)これにより、ERdj5を介した小胞体不良品タンパク質の分解の機構の一端が明らかとなった。