トピックス

シャペロニンがタンパク質フォールディングを
援助する仕組み

元島史尋 京都産業大学総合生命科学部

1. シャペロニンによるフォールディング援助

分子シャペロンは熱などにより変性したタンパク質、リボソームで合成された新生タンパク質などに結合し、そのフォールディングを援助するタンパク質の総称である。中でも大腸菌由来シャペロニン (GroEL/GroES) は、大腸菌の生育に必須であり、自発的なフォールディングが困難なタンパク質の多くをフォールディングできることから、その機能が注目されてきた。

X線結晶構造や生化学的実験から、シャペロニンは変性タンパク質をその親水性空洞に閉じ込めてフォールディングを援助することが明らかとなっている^{1),2)}。これらの事実から、シャペロニンは変性タンパク質を空洞内に隔離することで変性タンパク質同士の結合による不可逆な凝集体形成を阻害し、閉じ込められた変性タンパク質は自由にフォールディングすると考えられてきた (Anfinsen cage モデル)。

近年、凝集体形成阻害に加えて、シャペロニンの空洞への閉じ込め自体にフォールディング促進効果がある、とする論文が相次いで報告された^{3),4)}。それらによると、空洞による空間制限が変性タンパク質をコンパクト化してコンフォメーションエントロピーを減少させ、自由エネルギーを増加させることにより、変性状態と遷移状態との自由エネルギー差 (活性化自由エネルギー) が小さくなり、フォールディングが速くなると説明している (confinement モデル, 図 1a)。

筆者らは最近、変性タンパク質がシャペロニン空洞と疎水性相互作用した新規の中間体を想定したモデルを提唱した^{5),6)}。本稿では、このモデルに基づいてフォールディングを再検証した結果と、疎水性相互作用の予想される役割について紹介する。

2. 変性タンパク質と空洞との疎水性相互作用

シャペロニンのフォールディング反応は、変性タン

パク質が結合した GroEL に ATP と GroES が結合するのに伴い、変性タンパク質が空洞内部に閉じ込められて開始する (図 1)。筆者は、一度空洞内に閉じ込められた変性タンパク質のある割合が継続的に空洞外へ遊離することを発見した⁵⁾。この現象は変性タンパク質の空間制限が confinement モデルの想定ほど強いことを示唆している。そこで我々は、変性タンパク質が空洞内に完全に閉じ込められていない中間体を新たに想定した (図 1b)。この中間体の存在は空洞外から加えた抗基質タンパク質抗体の空洞内変性タンパク質への結合などにより確かめられた。変性タンパク質は空洞内にわずかに露出する疎水性のサブユニット界面近傍のシステインとジスルフィド架橋を形成し、変性タンパク質はこれらの領域と疎水性相互作用していると考えられた (図 2)。また、疎水性を減少させた GroEL 変異体にフォールディングが遅いものがあり、疎水性相互作用がフォールディングの促進に働く可能性が示唆された⁵⁾。

図 1

シャペロニン援助フォールディングのモデル。(a) Confinement モデル。空洞内の変性タンパク質は完全に閉じ込められるとする。(b) Tethering モデル。空洞内の変性タンパク質は完全に閉じ込められず (Tethering 中間体)、空洞内でフォールドするか、または空洞外に遊離後 (escape)、自発的にフォールドする。

The Mechanism by Which Chaperonin Assists Protein Folding

Fumihiro MOTOJIMA

Department of Molecular Biosciences, Faculty of Life Sciences, Kyoto Sangyo University

※図 1, 図 2 は、電子ジャーナル (<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/-char/ja/>) ではカラー版を掲載しています。

3. 空洞内フォールディングの再検討

この研究から、真の空洞内フォールディングを観察するには空洞外の自発的フォールディングを除く必要があることも示された (図 1b)。マルトース結合タンパク質変異体 DMMBP はすべて空洞内でフォールディングするとされていたが⁴⁾、実際は 90% も空洞外でフォールディングしていた⁶⁾。空洞内負電荷による水和水の安定化がフォールディングを促進するという説はこの自発的フォールディングに基づいており、否定された⁶⁾。また、confinement モデルを裏付けるとされた約 10 倍のフォールディング速度上昇⁴⁾は、タンパク質変性に用いたグアニジン塩酸が自発的フォールディングを遅くすることが原因であり、尿素変性の場合、2 倍程度しか促進しなかった⁶⁾。

さらに confinement モデルを支持する次の実験を再検証した。DMMBP のネイティブ構造で接近しているが 1 次配列で離れている 2 つの残基をシステインに変異しジスルフィド架橋すると、シャペロニンでフォールディングが促進されなくなる⁴⁾。この結果から、空間制限による変性タンパク質のコンパクト化はジスルフィド架橋と同様の効果があると提唱されていた⁴⁾。我々はこれらのシステイン残基を 2 種類の蛍光色素で修飾し、蛍光色素間距離を蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) で測定したところ、空洞内の変性タンパク質のシステイン残基は自発的フォールディングと同じかそれ以上に離れており、コンパクト化は起こらないと結論された (第 50 回日本生物物理学会年会発表)。

4. 疎水性相互作用の役割

タンパク質 rhodanese の空洞内フォールディングは自発的フォールディングよりも遅く、confinement モデルでは説明できない現象である⁷⁾。ごく最近報告された rhodanese フォールディングの粗視化分子動力学シミュレーションによると、空洞との相互作用を考慮すると上の実験結果を再現できたが、confinement モデルで想定されている相互作用しない空洞では、空洞内フォールディングは自発的フォールディングよりも 1 桁以上速くなった⁸⁾。相互作用の中でも特に疎水性相互作用の影響が大きく⁸⁾、実際に空洞内には疎水性残基が多数露出している (図 2)。これらの結果は tethering モデルと矛盾しない。

空洞が必ずしもフォールディングを加速しないのならば、疎水性相互作用の役割は何だろうか？ シミュレーションにおいて、空洞との相互作用により変性タンパク質内の相互作用が減少し、自発的フォールディ

図 2

シャペロニン空洞の断面図 (PDBID: 1AON)。疎水性残基を緑、システイン変異すると変性タンパク質とジスルフィド架橋した残基をラベルした。

ングとは異なるフォールディング過程が観察されている⁸⁾。疎水性相互作用によってフォールディングの遷移状態エネルギーが減少する可能性が指摘されている⁹⁾。我々は、空洞との疎水性相互作用が自発的フォールディング中に陥る速度論的トラップ状態 (非ネイティブ相互作用により形成した安定な変性状態) の解消に働くと予想している。この論争に決着が付く日はそれほど遠くないかもしれない。

謝 辞

本研究は京都産業大学・吉田賢右教授の御協力のもと行われました。深く感謝いたします。

文 献

- 1) Weissman, J. *et al.* (1995) *Cell* **83**, 577-587.
- 2) Xu, Z. *et al.* (1997) *Nature* **388**, 741-749.
- 3) Tang, Y. *et al.* (2006) *Cell* **125**, 903-914.
- 4) Chakraborty, K. *et al.* (2010) *Cell* **142**, 112-122.
- 5) Motojima, F. *et al.* (2010) *EMBO J.* **29**, 4008-4019.
- 6) Motojima, F. *et al.* (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **39**, 15740-15745.
- 7) Hofmann, H. *et al.* (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 11793-11798.
- 8) Sirur, A. *et al.* (2013) *Biophys. J.* **104**, 1098-1106.
- 9) Jewett, A. *et al.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 13192-13197.

元島史尋

元島史尋 (もとじま ふみひろ)

京都産業大学総合生命科学研究科助教

2000 年東京工業大学生命理工学研究科博士課程修了、アメリカ HHMI 博士研究員、東京工業大学助教を経て、10 年より現職。

研究内容: 分子シャペロンのフォールディング機構の解明

連絡先: 〒 603-8555 京都市北区上賀茂本山

E-mail: fmotojim@cc.kyoto-su.ac.jp

URL: <http://www.cc.kyoto-su.ac.jp/~fmotojim>