

解禁時間 (テレビ、ラジオ、インターネット) : 平成22年7月7日 (水) 午前4時
(新聞) : 平成22年7月7日 (水) 付朝刊

平成22年 7月 2日

報道関係者各位

国立大学法人 奈良先端科学技術大学院大学
兵庫県立大学

呼吸の重要タンパク質、シトクロムcが鎖状に連結し、機能を失う メカニズムを半世紀ぶりに解明 ～タンパク質構造変異が引き起こす病気の原因究明に期待～

【概要】

奈良先端科学技術大学院大学 (学長：磯貝彰) 物質創成科学研究科の超分子集合体科学講座 (廣田俊教授) の研究グループと同研究科エネルギー変換科学講座、兵庫県立大学 (学長：清原正義) 生命理学研究科 (樋口芳樹教授 (理化学研究所 客員研究員))、独立行政法人理化学研究所 (理事長：野依良治) 放射光科学総合研究センター (センター長：石川哲也)、同志社女子大学薬学部および西華師範大学の共同研究チームは、生物の呼吸に不可欠なタンパク質であるシトクロムc (cyt c) について、その分子の立体構造が変化し、いくつもつながった塊 (多量体) が鎖状に伸びた構造を形成 (ポリマー化) することにより機能を失うメカニズムを初めて明らかにした (図1、2)。若年性認知症、肝硬変、肺気腫、血栓症などを起こすセルピン病では、鎖状に伸びポリマー化したタンパク質が生体組織内にゴミのように蓄積し、疾病を引き起こすとされており、本研究は、タンパク質構造変異が引き起こす病気の原因究明や予防につながる研究と期待されている。

Cyt c は、細胞内の呼吸の場である小器官のミトコンドリアに含まれる。呼吸に必須のタンパク質で、変性すると鎖状に伸び、ポリマー化することが約50年間前から知られていた。しかし、どのような仕組みで変性するか、そのメカニズムは不明のままであった。廣田教授らは、cyt c 多量体を作製し、cyt c 分子2つ、3つ、4つから成る大きさの揃った純粋な多量体をそれぞれ得て、それらの分子構造と性質を解析する研究を重ねてきた。一方、樋口教授らはそれらの試料について結晶化に成功し、大型放射光施設 SPring-8 の放射光 X 線を使って分子構造を解明した。その結果、cyt c が多量体を形成する際、1分子 (単量体) をいくつかのパーツ (部分) からなる構造ユニットとしてとらえると、2つの分子が出会うとそれぞれ対応するパーツを交換して互いに入れ込ませ、パズルのように組み合わせられる「ドメインスワッピング機構」が起こっていることを突き止めた。この現象が複数の分子で連続して起きることにより、cyt c 分子が連続的に鎖状に連なってポリマー化するメカニズムを明らかにした。この成果は、7月6日 (火) から7月9日 (金) までの間にオンライン発行される米国科学アカデミー紀要に掲載される。【掲載雑誌のプレス解禁日時：平成22年7月7日 (水) 午前4時 (日本時間)】

つきましては、関係資料を配付するとともに、下記のとおり記者発表を行いますので、是非ともご出席くださいますよう、お願い申し上げます。

記

- <日時> 平成22年7月5日 (月) 11時～ (1時間程度)
<場所> 奈良先端科学技術大学院大学 事務局棟2階 大会議室
奈良県生駒市高山町8916-5 (けいはんな学研都市)
※アクセスについては、<http://www.naist.jp/>をご覧ください。
<説明者> 奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科 超分子集合体科学講座
教授 廣田 俊
兵庫県立大学 生命理学研究科 生命科学専攻 生体物質構造解析学部門
教授 樋口 芳樹

<ご連絡事項>

- (1) 本件については、掲載誌のプレス解禁日時が7月7日(水)午前4時(日本時間)となっておりますので、取り扱いにはご注意ください。
- (2) 本件につきましては、奈良県文化教育記者クラブをメインとし、学研都市記者クラブ、大阪科学・大学記者クラブ、文部科学記者会及び科学記者会に同時にご連絡しております。
- (3) 取材希望がございましたら、恐れ入りますが下記までご連絡願います。
- (4) 記者発表に関する問合せ先
奈良先端科学技術大学院大学 企画総務課 広報渉外係 里村 遼 (さとむら りょう)
TEL: 0743-72-5112 FAX: 0743-72-5011 E-mail: s-kikaku@ad.naist.jp

呼吸の重要タンパク質、シトクロムcが鎖状に連結し、機能を失う メカニズムを半世紀ぶりに解明 ～タンパク質構造変異が引き起こす病気の原因究明に期待～

【概要】

奈良先端科学技術大学院大学（学長：磯貝彰）物質創成科学研究科の超分子集合体科学講座（廣田俊教授）の研究グループと同研究科エネルギー変換科学講座、兵庫県立大学（学長：清原正義）生命理学研究科（樋口芳樹教授（理化学研究所 客員研究員））、独立行政法人理化学研究所（理事長：野依良治）放射光科学総合研究センター（センター長：石川哲也）、同志社女子大学薬学部および西華師範大学の共同研究チームは、生物の呼吸に不可欠なタンパク質であるシトクロムc (cyt c) について、その分子の立体構造が変化し、いくつもつながった塊（多量体）が鎖状に伸びた構造を形成（ポリマー化）することにより機能を失うメカニズムを初めて明らかにした（図1、2）。若年性認知症、肝硬変、肺気腫、血栓症などを起こすセルピン病では、鎖状に伸びポリマー化したタンパク質が生体組織内にゴミのように蓄積し、疾病を引き起こすとされており、本研究は、タンパク質構造変異が引き起こす病気の原因究明や予防につながる研究と期待されている。

Cyt c は、細胞内の呼吸の場である小器官のミトコンドリアに含まれる。呼吸に必須のタンパク質で、変性すると鎖状に伸び、ポリマー化することが約50年間前から知られていた。しかし、どのような仕組みで変性するか、そのメカニズムは不明のままであった。廣田教授らは、cyt c 多量体を作製し、cyt c 分子2つ、3つ、4つから成る大きさの揃った純粋な多量体をそれぞれ得て、それらの分子構造と性質を解析する研究を重ねてきた。一方、樋口教授らはそれらの試料について結晶化に成功し、大型放射光施設 SPring-8 の放射光 X 線を使って分子構造を解明した。その結果、cyt c が多量体を形成する際、1分子（単量体）をいくつかのパーツ（部分）からなる構造ユニットとしてとらえると、2つの分子が出合った時、それぞれ対応するパーツを交換して互いに入れ込ませ、パズルのように組み合わされる「ドメインスワッピング機構」が起こっていることを突き止めた。この現象が複数の分子で連続して起きることにより、cyt c 分子が連続的に鎖状に連なってポリマー化するメカニズムを明らかにした。この成果は、7月5日（月）から7月9日（金）までの間にオンライン発行される米国科学アカデミー紀要に掲載される。【掲載雑誌のプレス解禁日時：平成22年7月6日（火）午前4時（日本時間）】

タンパク質はさまざまな種類のアミノ酸が長い鎖のようにつながり、その配列（並び順）に従って特定の立体構造を形成して機能を発現する。しかし、タンパク質が構造変性した時、アミノ酸の長い鎖が元通りにきちんと再フォールディング（折れ畳み）しなかったり、あるいは細胞から排除するための分解が正常に起こらなかったりした場合、構造変性して機能を失ったタンパク質が生体組織内にゴミのように蓄積し、それが原因で疾病が引き起こされる。今回明らかとなった cyt c の変性メカニズムは、セルピン病で提唱されているメカニズムと非常に似ており、本研究成果は病気とも関連が深いタンパク質変性メカニズムの解明に役立つとみられる。

【本研究内容についてコメント出来る方】

兵庫県立大学 大学院生命理学研究科 ピコバイオロジー研究所 / 大阪大学 蛋白質研究所
月原 富武 教授

【本プレスリリースに関するお問い合わせ先】

奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科 超分子集合体科学講座
教授 廣田 俊
TEL 0743-72-6110、FAX 0743-72-6119
E-mail hirota@ms.naist.jp

兵庫県立大学 生命理学研究科 生命科学専攻
教授 樋口 芳樹
TEL 0791-58-0179、FAX 0791-58-0177
E-mail hig@sci.u-hyogo.ac.jp

【解説】

ミトコンドリア内の呼吸に関わる反応で、酸素を水に還元する酵素に電子を伝達する役目のシトクロム *c* (cyt *c*) は単量体で機能し、一方で細胞の自殺であるアポトーシスが誘導される際、ミトコンドリアから放出される。Cyt *c* は変性するとポリマー化するが、そのメカニズムは約 50 年間不明であった。廣田教授らはウマの cyt *c* を使い、cyt *c* 分子 2 つ、3 つ、4 つと大きさの揃った多量体を作製単離する方法を開発し、各多量体の X 線溶液散乱測定、示差走査熱量測定などタンパク質の構造と熱力学的性質を分子レベルで測定、解析する研究を重ねた。樋口教授らは、それらのうち 2 量体と 3 量体の X 線結晶構造解析を行った。その結果、cyt *c* 単量体が構造ユニットとなったドメインスワッピング機構により、cyt *c* 分子が連続的にポリマー化するメカニズムを明らかにした (図 1、2)。

具体的な実験方法は、まず cyt *c* 単量体、2~4 量体、40 量体ほどの大きな多量体をそれぞれ精製した。反応の場である活性部位の構造やタンパク質の局所的な立体構造である二次構造は、cyt *c* 2~4 量体や 40 量体ではそれぞれ似ているが、単量体の構造とは若干異なることが、光の吸収スペクトル、CD (円偏光二色性) スペクトルという分子構造を測定する方法により明らかになった。

さらに、SPring-8 ビームライン BL26B2 の高輝度放射光 X 線を利用した結晶構造解析により、cyt *c* 2 量体と 3 量体を構成するアミノ酸の C 末端領域がドメインスワッピングしていることが判明し、結晶中の cyt *c* 2 量体および 3 量体の構造では、電子伝達に重要な鉄-Met (メチオニン、アミノ酸の一種) 結合が解離していた。

また、液体に溶けた状態の分子を測定する X 線溶液散乱測定により、水溶液中の cyt *c* 2~4 量体は多量体数の増加とともに鎖状に連なって伸びた構造をしていた。構造変化に伴う熱量変化を分析する示差走査熱量測定により、各多量体が単量体に解離するとき、モノマーユニット当たり約 20 kcal/mol のエネルギーが放出された。このエネルギーには、多量体の解離に伴い、Met がへムに再配位することによる安定化エネルギーが大きく寄与すると推測された。

以上より、cyt *c* 2~4 量体と 40 量体付近の多量体のへム配位構造と二次構造はそれぞれ類似しており、酸化型ウマ cyt *c* は C 末端領域が連続的にドメインスワッピングし、タンパク質が鎖状に連なってポリマー化すると推測された。

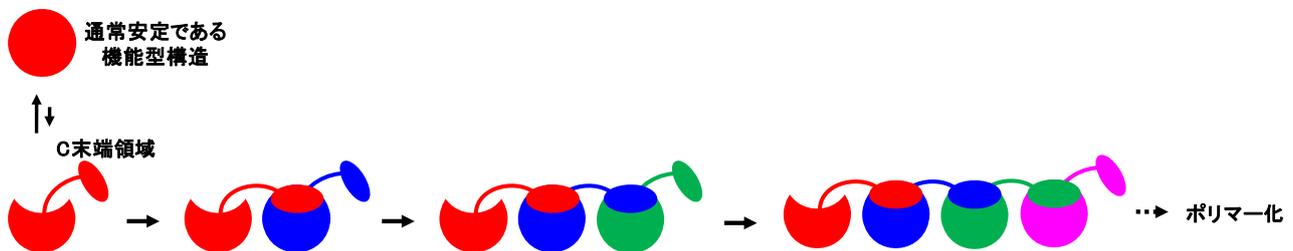


図 1. ドメインスワッピングによる cyt *c* ポリマー化メカニズムのイメージ図

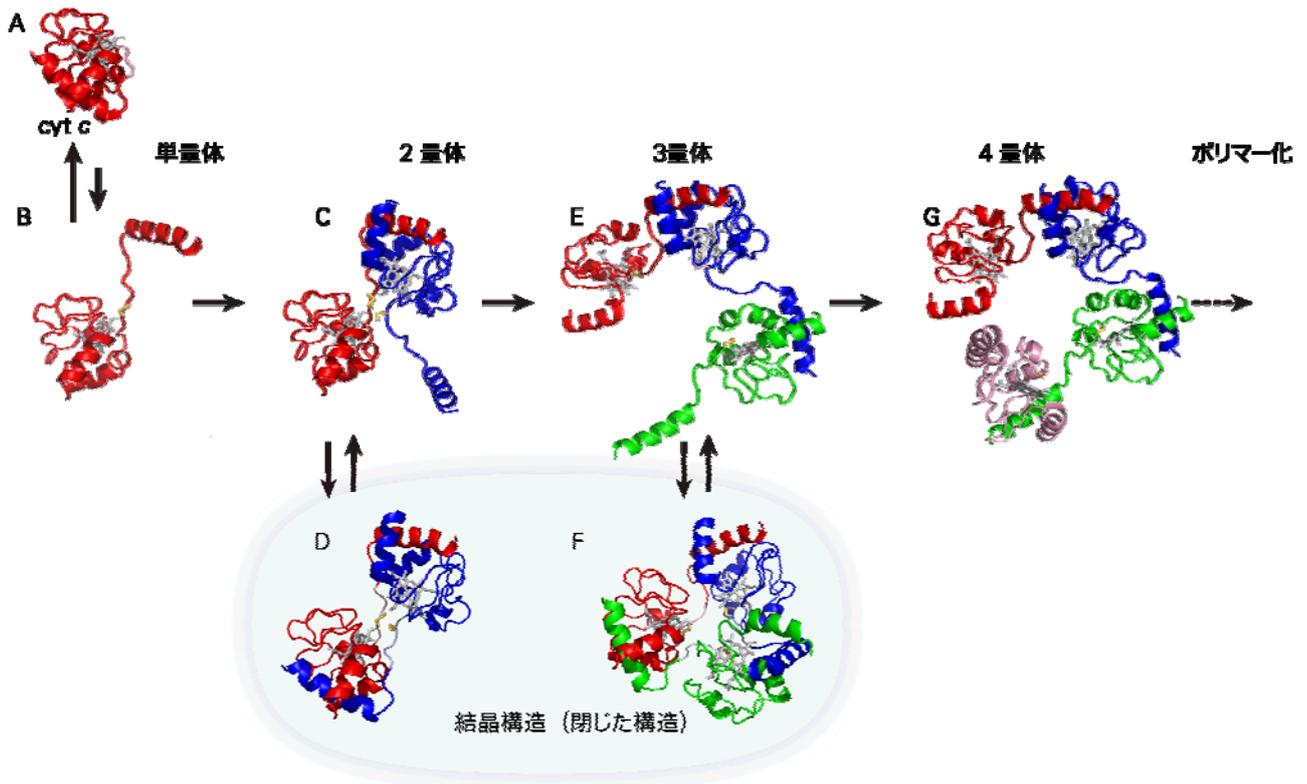


図 2. ドメインスワッピングによる cyt *c* ポリマー化メカニズムの構造模式図

A : これまでに知られていた cyt *c* 単量体の結晶構造。B, C, E, G : cyt *c* の単量体が 2 量体、3 量体、4 量体と線状につながっていく過程の模式図。D, F : 今回の研究で明らかになった cyt *c* の 2 量体と 3 量体の結晶構造。

【研究の位置づけ】

タンパク質はアミノ酸配列に従って特定の立体構造を形成して機能を発現する。しかし、タンパク質が構造変性した時、タンパク質の再フォールディングや分解が正常に起こらないと、構造変性したタンパク質が生体組織内に蓄積し、コンフォメーション（フォールディング）病（アルツハイマー病、パーキンソン病、牛海綿状脳症（狂牛病）、セルピン病など）が引き起こされる。最近、セルピンの変異体がポリマー化することで遺伝病であるセルピン病が発症することが報告されたが、未だほとんどのタンパク質で凝集体の生成メカニズムは不明であり、その解明はライフサイエンスの最重要課題の一つである。

本研究により、最も基本的なタンパク質の一つである cyt *c* の凝集体生成メカニズムが解明された。本メカニズムは、コンフォメーション病の一つであるセルピン病でセルピンの 2 量体構造から提唱されているメカニズムと非常に似ており、本研究でポリマー化をさらに具体的に実験で確かめたことにより、タンパク質の基本的な性質を示すとともに、これらの病気のタンパク質変性メカニズムの解明に役立つことが期待される。

【用語解説】

① 「ポリマー」

基本単位（単量体、モノマー）の反復構造から成る化合物。人工的に重合してできたものを指す場合が多いが、タンパク質などの生体分子の反復構造体を特にバイオポリマーと呼ぶこともある。ポリマーのうち、2 量体や 3 量体といった低分子量のものをオリゴマーと呼び、高重合体（ポリマー）と区別する場合もある。

② 「セルピン病とコンフォメーション（フォールディング）病」

セルピン（serpin）はセリンプロテアーゼ阻害（serine protease inhibitor）タンパク質の総称である。

セルピン病は、セルピンがポリマー化して起こる疾病群で、ニューロセルピンの変異体による若年性認知症、 α_1 アンチトリプシンの変異体による肝硬変や肺気腫、アンチトロンビンによる血栓症などが知られている。セルピン病は、コンフォメーション病の一種である。コンフォメーション（フォールディング）病とは、タンパク質の高次構造（コンフォメーション）変化によりタンパク質の凝集体が形成し、細胞組織内で沈着する病気の総称である。コンフォメーション病には、アルツハイマー病、パーキンソン病、牛海綿状脳症（狂牛病）なども含まれる。

③ 「ドメインスワッピング」

同じタンパク質分子どうしでつくる2量体や3量体の複合体において、分子内の二次構造（ α ヘリックス、 β ストランド、ループ領域）や三次構造（ドメイン）を相手の同じ部分と交換していること。はっきりドメインと確認できるものどうしがスワッピングする場合や、はっきりしたドメインを持たないで複合体の他方に単にループだけが入り込む例も多い。