

タンパク質分解装置プロテアソームの細胞内動態

佐伯 泰 (都医学研・蛋白質代謝)

プロテアソームはユビキチン化されたタンパク質をピンポイントで分解する巨大なタンパク質分解酵素複合体であり、オートファジー・リソソーム系と共にタンパク質恒常性の維持に中心的な役割を果たしている。近年、プロテアソーム機能の破綻が神経変性疾患や癌などのさまざまな難治性疾患を引き起こすことや、プロテアソーム阻害剤が抗がん剤として有効であることが明らかとなり、プロテアソームは基礎研究だけでなく臨床面からも大きく注目されている。プロテアソームは複雑な形状をもつ非常に不安定な酵素であり、作動機構や動態に関する研究は大きく立ち遅れていたが、近年の解析技術の進捗に伴い、この数年でプロテアソームの高次構造、ユビキチン化タンパク質の分解機構、細胞内ダイナミクスなど次々と新しいことがわかってきた。

プロテアソームは、触媒部位をもつコア粒子 (CP: core particle) の両端に制御粒子 (RP: regulatory particle) が ATP 依存的に会合した構造をもち、33 種類 66 個の構成サブユニットから形成される分子量 250 万の超分子複合体である。私たちは Max-Planck 研究所の Baumeister 博士らと共に酵母プロテアソームの立体構造をクライオ電子顕微鏡により決定し、全サブユニットの空間配置を明らかにした。さらに光架橋による結合実験により、プロテアソームのユビキチンレセプターがどのようなトポロジーでユビキチン鎖を捕捉するか明らかとなってきた。

プロテアソームは細胞質および核に存在するが、増殖中の細胞では主に核に局在化している。核内プロテアソームの機能は必ずしも明確ではないが、プロテアソームを核から排除すると大量のユビキチン化タンパク質が蓄積することから、核内タンパク質の品質管理や転写因子の分解を行っていると考えられる。さて、「ここで観察しているプロテアソームは一体どのような状態で存在しているのか？」という素朴な疑問が生じる。なぜなら、プロテアソームは 33 種類ものサブユニットをもち、さらに細胞質や核質に一樣に観察されたため、異なるサブユニットに異なる蛍光タンパク質タグを付加して観察しても複合体としてのプロテアソームを見ていることにはならないからである。そこで私たちは 5 年ほど前より、蛍光相関分光法 (FCS: fluorescence correlation spectroscopy) を用いてプロテアソームの細胞内動態を解析している。FCS は微小空間における蛍光のゆらぎを計測することで、対象分子の濃度、形状および分子量を決定でき、さらに 2 色の異なる蛍光タグを用いることで複合体形成率を決定することができる。FCS による生細胞計測の結果、プロテアソームサブユニットはほぼ全て完成体に安定に取り込まれていること、細胞内でプロテアソームの約半数は何らかのオルガネラや転写マシナリーと相互作用していることが明らかとなった。一方、プロテアソーム濃度は、細胞質では約 200 nM、核では約 1 μ M と見積もられ、出芽酵母 1 細胞あたり約 10,000 分子のプロテアソームが存在することがわかった。

ところで、プロテアソームは大きすぎて核膜孔を通れないと思っている方が多いが、プロ

テアソームのサイズは 20 nm×45 nm であり、核膜孔の内径は最大 39 nm まで拡大することから、物理的にはプロテアソームは核膜孔を通過できるはずである。そこで、プロテアソームの核移行に欠損を示すインポートイン変異体の FCS 解析や RP-CP サブユニット間を融合した安定型プロテアソームを用いた解析を行った結果、プロテアソームは細胞質で完成すること、完成したプロテアソームが核膜孔を通過して核に局在化することが明らかとなった。今後さらに FCS を用いた *in vivo* 生化学を進展させることで、プロテアソーム動態に関する新しい知見が得られると考えている。

さて、私は卒業研究のテーマでプロテアソームと出会って以来、酵母を用いてユビキチン・プロテアソーム系に関する研究を行ってきたが、遺伝学のみならず生化学、細胞生物学のいずれにおいても酵母が最強のモデル生物であることをまさに体感してきた。本シンポジウムでは酵母に対する私の思いを含めて発表したい。