



# 酵素の謎を探る

## 吉田研究室 ~ 資源化学研究所



吉田 賢右 教授

酵素よ、おまえは美しい

これは、ノーベル賞を受賞した生化学者、Boyerの言葉である。タンパク質は生物において重要な構成要素の一つであり、生命活動の本質とはタンパク質とその関連物質との相互作用と言っても過言ではない。とりわけ酵素の役割は多岐に渡る。今回はATP合成酵素とシャペロンという二つの酵素について研究している吉田研究室を訪れた。これらの酵素はそれぞれ微小なモーターとかごを持っているというのだ。この二つの酵素の研究について順を追って解説していこう。



# 生体内の微小モーター

人は運動している時はもちろん、読書している時や寝ている時でさえも、エネルギーを消費している。このエネルギーを人は食物を摂取することによって得ている。こうした一連のエネルギーの仲立ちをしているのがATPである。

ATPとはアデノシン三リン酸の略称で、エネルギー代謝の過程でエネルギーの受け渡しをする、いわば生物における「エネルギー通貨」として人体・植物から細菌まで地球上の多くの生物に広く使われている。このATPの末端にあるひとつのリン酸のエステル結合が加水分解され、ADP（アデノシン二リン酸）とリン酸が変わるとき、ATP 1 mol 当たり約7.5kcalものエネルギーが発生する。このエネルギーが筋収縮、解糖、能動輸送、生体物質の生合成など、生物のさまざまな生命活動に利用されているのである。

さて、ATPは生物の体内では酸素を使った呼吸（好気呼吸）によって大部分が作られている。呼吸に伴って、細胞内のミトコンドリアでは水素イオンが輸送され、内外に水素イオンの濃度勾配ができる。また、水素イオンはプラスイオンなので同時に電位勾配も発生する（図1）。この勾配

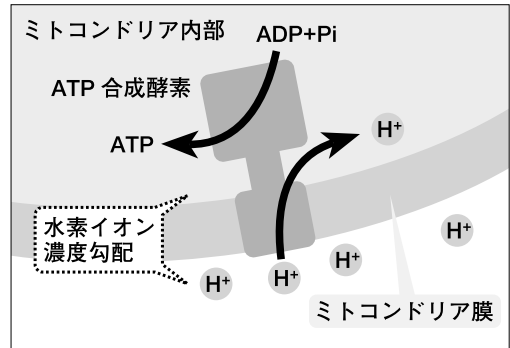


図1 ミトコンドリア膜内外の水素イオン

に従って水素イオンを流し、そのエネルギーでADPとリン酸からATPを作るのがATP合成酵素である。

しかし、ATP合成酵素が具体的にどのようにして膜の内外の水素イオン濃度差からATPを合成するかについては、長い間謎であった。そのような状況に一石を投じたのがアメリカの生化学者P.D.Boyerである。1982年、彼は自分の実験結果を最も合理的に説明する説としてATPを合成する酵素はモーター状になっていて、これが回転す

ることによってATPを合成する、という大胆な仮説を発表したのだ。しかし、当時の学者達は誰もこの仮説に取り合わなかった。なぜなら、回転運動を可能にする構造は物理的に複雑で、生物界には細菌の鞭毛モーターを除いて基本的には回転運動をするものはないだろうと考えられていたからである。こうしてBoyerの仮説、回転触媒説は、以後十数年間忘れ去られることになった。

ところが1994年、状況は一変した。イギリスのJ.E.Walkerの研究チームが牛のATP合成酵素のX線結晶構造を調べてみると、それは中心にある棒状のものと、それを取り巻くものから構成されていたのである(図2)。このいかにも回転しそうな構造を見た学者は誰もがBoyerの仮説を思い出したのである。

この研究により、回転触媒説の信憑性は、にわかにか高まった。そこで、酵素の回転を実際に目で確かめてみようと考えたのが吉田教授のグループである。ATP合成酵素はADPからATPを合成する正反応と共に、ATPをADPに分解するという逆反応も行う。この逆反応を利用して、回転を観察しようというのだ。まず、吉田教授らはATP合成酵素の回転を光学顕微鏡で観測することにした。しかし、酵素のサイズはナノメートル単位でとても光学顕微鏡では観測することができない。そこで教授らはアクチン線維の長い棒を軸に取り付けた(図3)。この棒の長さは軸の200倍もあり、蛍光色素がラベルされているので、ナノサイズの小さな軸の回転も蛍光顕微鏡で明瞭に見ることができる。さらに、ATP合成酵素の一端をガラス板に固定し、板の上から観察することで回転を観察しようとした。

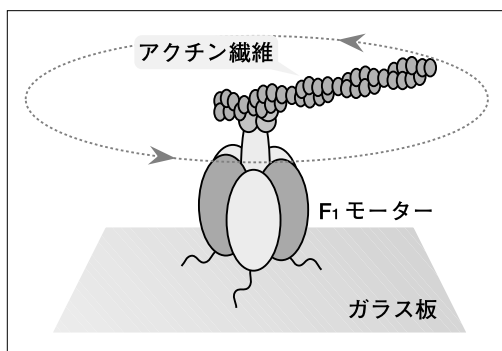


図3 回転を観察するための実験



図2 ATP合成酵素の構造

このようにして、酵素にATPを与えてからしばらくして観察すると、本当に回転をしている線維が見つかったのである。しかも、どの酵素も一様に反時計回りに回転していたのだ。これが、世界で最初の回転するATP合成酵素の観察実験になった。今では世界中のバイオの教科書に紹介されるほど有名になった実験である。

この実験からは同時に様々な事実が解った。例えばATP合成酵素は大変な出力を持っているということだ。長さ1  $\mu\text{m}$ のアクチン線維を1秒間に8回転の速さで回すことができる。これは、人間が200mの竹ざおを水中で1秒間に8回振り回すことに相当するのだ。また、ここから回転エネルギーを計算し、ATP加水分解のエネルギーと比較すると、この酵素はほぼ100%に近いエネルギー変換効率で回転することが可能であるという驚くべき結果になる。自動車のエンジンの変換効率が30%、火力発電にしてもせいぜい50%程度にしかならないことを考えると、どれほど優秀なモーターかお分かりいただけるだろう。

次に、この生体モーターの詳しい構造を説明しよう。ATP合成酵素は膜に埋まったF<sub>0</sub>モーターと膜から突き出たF<sub>1</sub>モーターがシャフトで連結された構造をしている(図4)。この酵素がATPを合成するとき、まず、F<sub>0</sub>モーターがミトコンドリア内膜の内外の水素イオン濃度差を利用して回転する。そして、シャフトが回転をF<sub>1</sub>モーターに伝

える。すると、F<sub>1</sub>モーターはADPとリン酸でATPを合成するのだ。吉田教授らが観察したのは、このF<sub>1</sub>モーターである。

以上の発見によって、F<sub>1</sub>モーターの機能の概略は解明されたが、もうひとつのモーターであるF<sub>0</sub>モーターについては実は今でもあまりよく解っていない。F<sub>1</sub>モーターと同様にF<sub>0</sub>モーターも顕微鏡でリアルタイムに観察することが吉田研究室の今後の課題だそうだ。また、そもそもなぜ生物はこのような複雑な仕組みを持つ酵素を使っているのか、という疑問がある。水素イオンを利用してATPを生成する能力のある酵素は他にもたくさんある。しかし、生物が使っているものは、その中でもとりわけ複雑なシステムを持つものなのだ。水素イオンでひとつのモーターを回すことによってシャフトを回転させ、その回転をもうひとつ

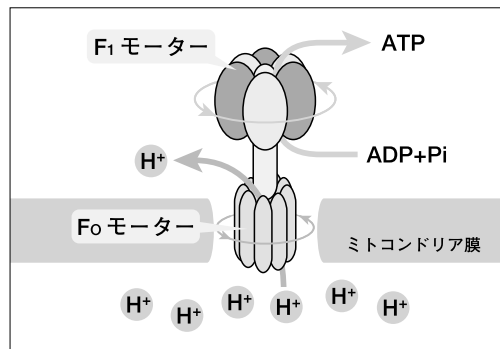


図4 F<sub>1</sub>モーターとF<sub>0</sub>モーターの模式図

つのモーターに伝えてATPを合成する。このような面倒な過程を生物がたどるには何か重要な理由があるはずだ、と吉田教授は考えその原因を模索している。



## タンパク質の品質管理

まず、次のような実験を紹介しよう。ゆで卵は身近に起こるタンパク質の凝集現象の代表例だ。通常、卵白は70℃以上に熱せられると固まってゆで卵になる。しかし、この卵白にシャペロンという酵素を加えて熱すると、いつまで経っても固まらず、生卵のままなのである。シャペロンとはタンパク質の変性を防ぐ働きを持つ酵素なのだ。

生体にとってタンパク質は重要である。タンパク質はアミノ酸が重合した直鎖のポリペプチドであり、その中には全く枝分かれが存在しない。そのため、一次元のヒモ状構造になっている。しかし、そのままではいつまで経っても三次元の肉体系構成できないし、タンパク質の持つ正常な役割も果たせない。そこで、タンパク質の折れたたみが起きる。

この現象には大きく分けて二つの力が関係している。一つは水素結合や静電気力。そして、もう一つは疎水性アミノ酸同士のまとまりによるものである。タンパク質は疎水性のアミノ酸を内側にたたみこみ、親水性のアミノ酸を水に接する表面に配置しようとする。これによって、疎水基が内側に折れたたまれ、外部が親水基に囲まれた三次元の構造をとるのだ。

しかし、この疎水基がしばしば問題を起こすのである。ポリペプチドが一本しかない時は、正常

に折れたたみができるのだが、複数のポリペプチドに限られた空間にたくさんあると、互いのアミノ酸の疎水基同士が結合し、からみあって不可逆的なポリペプチドの塊ができてしまうのだ。これが、生命現象における大敵、タンパク質の凝集現象である。タンパク質の凝集現象は生物の体内でいろいろな問題を起こしている。プリオン病はタンパク質が凝集することによって発病する病気の一例である。しかし、もし細胞内で生成するタンパク質全てが凝集してしまえば生物は存在できないはずである。つまり、我々の細胞の内部では、タンパク質を凝集させない何らかのメカニズムが働いているということになる。

このメカニズムこそがシャペロンによるものである。シャペロンは、タンパク質が凝集しないように未熟なタンパク質を一時的に取り込み、しっかりと折れたたまるまで世話をする。これによりどんなに限られた空間にタンパク質が密集してもタンパク質は凝集しないのである。

ここでシャペロンが具体的にどのようにタンパク質を折れたたませるのか説明する。例として代表的なシャペロンの一種、シャペロニン (Hsp60) を挙げよう。シャペロニンはかご状になっている。疎水基が露出したタンパク質が近付くと、シャペロニンはこれを捕まえ、かごの中に取り込んです

ぐさまふたをする。しばらくするとふたが開き、しっかりと折れたたまれたタンパク質が出てくるといった具合である。

このようにして、シャペロニン内部でタンパク質が折れたたまれるのは、シャペロニンがそのタンパク質の構造を識別して折りたたんでいるからだとい前は考えられていた。しかし、現在の研究ではシャペロニンはタンパク質を折りたたんでいるわけではなく、タンパク質が自然に折れたたむのに必要な空間を提供しているだけだと考えられている。

シャペロンには他にもHsp70、Hsp90、Hsp104、Hsp27といった四つのグループがある。Hspとはheat shock protein、熱ショックタンパク質の略称で、細胞が熱ショックを受けると発現が誘発されるタンパク質群のことである。細胞が熱ショックを受けた時、タンパク質が変性しないように細胞がHspを生成して、熱変性に備えるのである。

また、シャペロンの中にはタンパク質を守る働きと共に、逆にタンパク質を殺す役割も合わせ持つものがある。シャペロンは凝集ないし変性したタンパク質を助けるのだが、完全に凝集してしまったタンパク質や変性してしまったタンパク質は助けずに分解してしまう。つまり、シャペロンはタンパク質の生と死、両方を司っているのだ。シャペロンはタンパク質のいわば品質管理をしていると言えよう。それどころか、シャペロンは進化にさえも関係していると教授は言う。

次のような報告が、最近Natureに発表された。ショウジョウバエの細胞内にあるシャペロンの働きの一つがある薬で阻害すると、頭から足が生えたりと奇形の手がが一挙に発生するのだ。これと同じ現象が自然界でも起こると考えられる。

自然界のある生物に何らかの原因で遺伝子に傷がついたとする。これによってその遺伝子からできるタンパク質に欠陥が出来てしまう。しかし、この欠陥をシャペロンがカバーすることによって

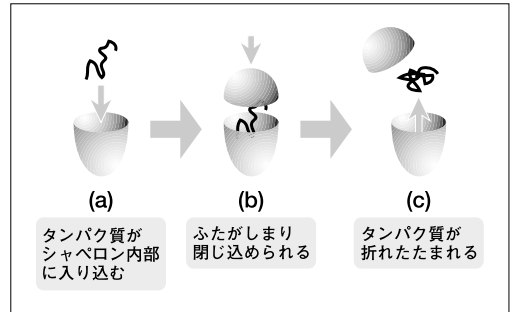


図5 シャペロンがタンパク質を折りたたむ過程

タンパク質は生体内で一見正常に働いてしまう場合がある。このようにして、遺伝子に傷がついても、正常に働くので、その生物は淘汰されずに生き残り、そうした遺伝の異常が表面に出ないまま蓄積されていく。そのうち、しばらくして大気温度の上昇など、他の要因で細胞内に変性タンパク質が増えてしまうと、シャペロンがそちらに動員されて今まで蓄積した異常まではカバーできなくなる。すると、どうなるか。今までの遺伝子の異常が一気に発現してしまうのだ。このように変性タンパク質を増やす何らかの要因があると、生物の様々な種類の変異が一度に表面に出てくる。生物のバラエティーが一挙に増すのだ。カンブリア紀の進化の大爆発も以上のように説明できるかもしれない。

吉田研究室では、現在、シャペロニンを中心に研究が進められている。シャペロニンの主な役割については解ってきているものの、どうやって取り込むタンパク質を認識するのか、どのようにしてタンパク質の折れたたみを識別しているかなどについては未だ謎である。こういった事柄を解明するのが今後の課題だそう。また、教授はプリオン病の研究として、大腸菌でモデル実験をしている。この実験により、タンパク質が凝集する詳しいメカニズムが解明されれば、プリオン病が不治の病でなくなる日も訪れるかもしれない。

吉田先生はATP合成酵素の実験の際に、ありふれた酵素を使うのではなく、伊豆の温泉に存在する特殊な細菌の酵素を用いた。これが鍵になって実験が成功したようだ。実験には周りの人が考えない斬新な発想が必要だと語ってくれた。

お忙しい中、快く取材を受けていただいたことに厚くお礼申し上げます。これからもその斬新な発想で先生の研究が発展されることを祈ってやみません。

(吉田 圭介)