



## たくさんつくれるタンパク質に 隠された秘密

守屋 央朗

酵母は約5700種のタンパク質をつくっている。しかし、細胞内で発現している全タンパク質量の50%はたった150種類で占められているという。つまり、ごく少数のタンパク質だけがたくさんつくられているのだ。どんな性質をもったタンパク質がたくさんつくられているのだろうか。

Infographic vector created by joomp - www.freepik.com

生体の機能は、数千から数万のタンパク質が協調的に働くことで営まれている。これらのタンパク質の発現量は、細胞当たり数分子から数百万分子と大きく異なっている。それぞれのタンパク質の発現量は、置かれた環境で生体の機能を最大限に発揮できるように、長年の進化の結果決まったのだろう。ここではこのなかでも、「たくさんつくられるタンパク質とは何か？」を考えてみる。この問いを突き詰めると、生体内で働くすべてのタンパク質は、「毒性」とよぶべき性質を潜在的にもっていて、その毒性にこそタンパク質という生体高分子が生体内で働くとはどういうことなのか、その本質が隠されていることに気づく。

なお、ここでは真核生物のモデルである出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*、以降は単に「酵母」) についての研究を中心に紹介する。単細胞生物の酵母は、ヒトを含む真核生物群のなかでは単純だといわれるが、真核細胞の生命の営みについてたくさんのことを教えてくれる。ここではたいがい単細胞生物の酵母のことを考えているので、「生体」と「細胞」はほぼ同じ意味で使う。もう一つ、ここでは、タンパク質を「つくる」という表現をするが、これは遺伝情報が転写・翻訳されてタンパク質へと至る過程すべてを含んでいる。「発現」という用語も用いるが、これは「つくる」と同じ意味で使っている。

### たくさんつくられているタンパク質の種類は多くないが、すごくたくさんつくられている

それではさっそく、たくさんつくられているタンパク質について見ていきたい。酵母のすべてのタンパク質 (プロテオーム) の発現量を眺めてみよう。図1aは、Proteomap という手法によって視覚化された酵母のタンパク質の役割と発現量だ。細胞内にはいろんな機能 (のタンパク質) があって、その実行のためにタンパク質という資源が割り当てられていることがわかる。

Proteomapを眺めると、タンパク質合成装置のリボソームを形成するタンパク質 (ribosome) と、代謝経路の解糖系 (glycolysis) の酵素群が、特にたくさんつくられているタンパク質であることがわかる。タンパク質を発現量で大まかに分け、そこに含まれるものの役割を見てみると、タンパク質の発現量はその機能によってだいたい決まっているように見える (図1b)。このなかで、細胞当たり10万分子以上のタンパク質がつくられているタンパク質は、約5700種類の酵母タンパク質のなかの150種類程度 (2.5%) しかない。一方、Proteomapからわかるように、分子の数で見るとこれらのタンパク質で全体の50%以上を占めている。つまり、たくさんつくられているタンパク質の種類は多くないが、それらはすごくたくさんつくられている。

### たくさんつくるわけ/たくさんつくれるわけ

それでは次に、生体がこれらのタンパク質を「たくさんつくるわけ」と、「たくさんつくれるわけ」を考えてみよう。一つ目は簡単な問いだ。「たくさんつくるわけ」は、そのタンパク質がたくさん必要だからだろう。酵母の例だと、大量にタンパク質をつくるためにたくさんのリボソームが必要で、大量にエネルギーをつくるためにたくさんの解糖系の酵素が必要なのだろう。この必要性に応えるために、これらのタンパク質のmRNAはたくさん転写され、そのmRNAからタンパク質がたくさん翻訳される。このために、これらのタンパク質をコードする遺伝子には、たいがい転写活性の高いプロモーターと翻訳効率の高いコドンが使われている。そのタンパク質が必要だからたくさんつくっているのかは、その発現量を人為的に下げる実験をすればわかる。発現量を下げたときに生体の機能が低下すればわかる。発現速度が下がるといえることになれば、やはりその量が必要だったのだとわかる。

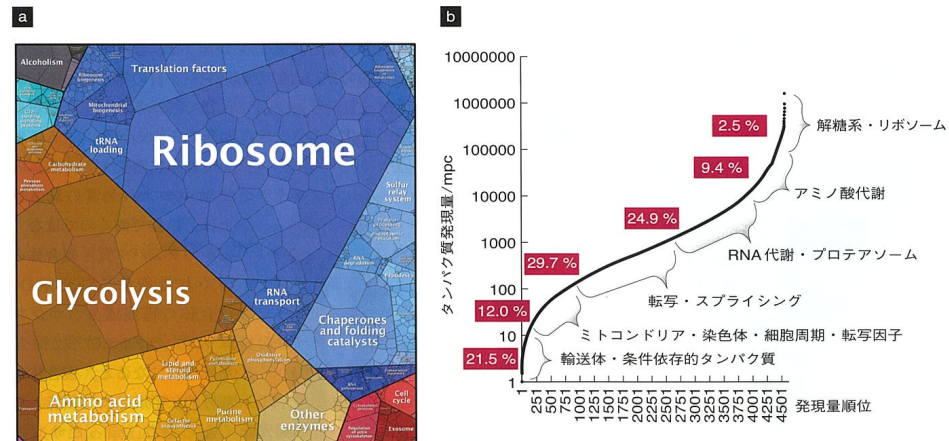
問題は二つ目の、「たくさんつくれるわけ」だ。先ほど述べたように、「転写活性の高いプロモーターと翻訳効率の高いコドンが使われている」からたくさんつくれている

る。分子機構としてはそれでいい。ここで考えたいのは、「生体内でたくさんつくっても大丈夫な、問題が生じないわけ」だ。タンパク質は実は難物で、必要に応じてたくさんつくれるというものではない。実は、「たくさんつくれる」というのは、タンパク質が生体内で機能するときにぶつかるいろいろな障害を、生体がうまくやりくりして手に入れた大きな特徴なのだ。たくさんつくれるタンパク質は珍しいのだ。なぜそんなことが言えるのだろうか？

### つけれない原因 —タンパク質の毒性—

「たくさんつくれるタンパク質は珍しい」。この事実は、過剰発現という実験により確かめることができる。細胞内で特定のタンパク質の発現をどんどん上げる。多くの場合、転写活性の高いプロモーターを使ってそのタンパク質のmRNAをたくさんつくらせる。そのタンパク質の遺伝子のコピー数を上げる方法もとられる。そうすると、多くのタンパク質は生体機能に悪影響をもたらす。酵母であれば増殖阻害を起こす (文献1,2など)。

たくさんつくらせると悪影響を及ぼすタンパク質のこの



a) Proteomapにより視覚化した酵母のプロテオームの発現量。各区画の大きさはタンパク質の発現量を表している。機能が近いタンパク質ほど近い場所に示されている。発現量のデータは文献10から取得し、Proteomapソフト (文献11) を用いて作成した。b) 酵母プロテオームの発現量のグラフ。タンパク質を発現量 (細胞当たりの分子数、mpc) の順位によって並べた。また、発現量の桁数によってタンパク質をクラス分けし、そこにおもに含まれるタンパク質の機能を表した。それぞれのクラスに含まれるタンパク質の種類を、全体に占めるパーセントとして示した (赤いラベル)。発現量のデータは文献10を利用した。

図1 酵母のプロテオーム

ような性質を、ここでは、「タンパク質の毒性」とよぶことにする。わずかに発現しただけで増殖阻害を起こすようなタンパク質は毒性が強く、大量に発現させても増殖阻害を起こさないようなタンパク質は毒性が低い。先ほど述べた、リボソームタンパク質や解糖系酵素はもともと細胞内にたくさん発現できているので、毒性の低いタンパク質だということができる (図2a)。

毒物学では、生体に悪影響を及ぼす用量によって物質の毒性を評価する。たとえば、半数致死量 (LD<sub>50</sub>) がその用量であり、塩の急性毒性はLD<sub>50</sub>で3 g/kgとして表される。筆者は、タンパク質の毒性の指標として、「限界発現量」が使えると考えている (図2a)。限界発現量とは、生体内でタンパク質の発現量を上げていったときに生体に悪影響を起こす、酵母の場合なら増殖阻害を起こす発現量のことだ。

このような視点からのタンパク質の毒性 (あるいは細胞毒性) については、ある種のタンパク質について盛んに研究されている。アルツハイマー病やハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) などの神経変性疾患の原因となるタンパク質群である。これらのタンパク質は生体内で通常の機能をもつが、変異や老化、あるいは未知の原因により凝集体などの異常構造体をつくり、それが神経細胞の機能を傷害する、すなわち毒性をもつ。これらのタンパク質は、さまざまなタンパク質のなかでも特に毒性の強いもの

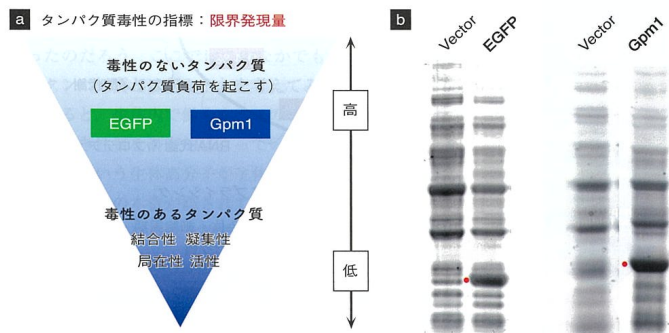
だと思うかもしれない。しかし、ここから解説する視点から考えると、実はどんなタンパク質でも潜在的な毒性があって、それが現れやすい状況にあるかないかの違いだけなのだと思う。

### タンパク質が毒性を発揮する 四つのメカニズム

ここからは少し、タンパク質の毒性発揮のメカニズムについて考える。つまり、タンパク質の発現量を上げていったときにどんな悪いことがどんなメカニズムによって起こるのかだ。筆者は、これまでのいろいろな研究から、毒性発揮のメカニズムは、「リソース過負荷」、「化学量不均衡」、「乱雑な相互作用」、「バスのウェイ修飾」の大きく四つに分けられると考えている (図3、文献3)。

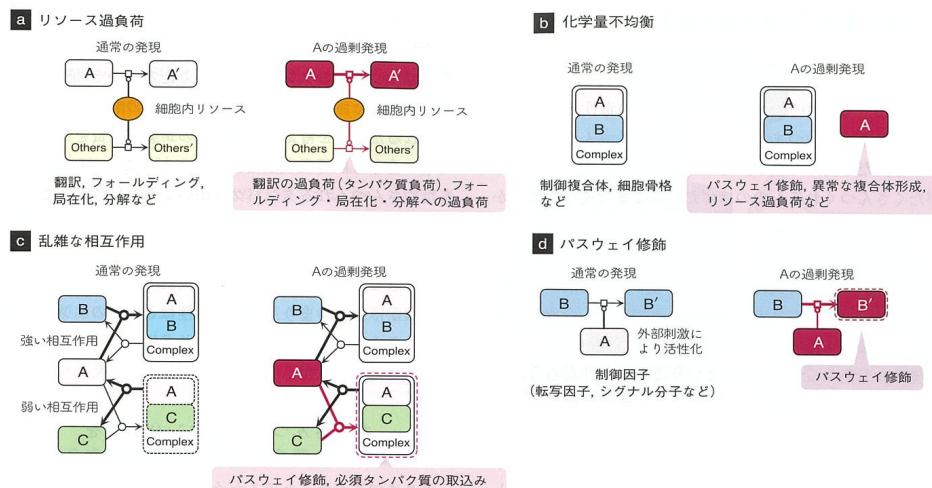
これらは、生体内でのタンパク質の運命、機能、および物性と関係する。図4はそれを概念的に表したものである。タンパク質は、いわゆる分子生物学のセントラルドグマのスキームに従って転写・翻訳され、ほかのタンパク質や生体分子と相互作用したり、細胞内の特定の部位に運ばれたり、翻訳後修飾を受けたりしながら機能を発揮する。積極的に分解されることもある。タンパク質が過剰になると、これらの各プロセスが強化されたり各プロセスに負荷がかかったりする。その結果が図3で示したような悪影響として現れるのが、ここでのタンパク質の毒性である。

後で述べるリソース過負荷以外の三つのメカニズムについて簡単に解説する。生体内で働くタンパク質の30%以上は、単独で働くのではなくほかのタンパク質と複合体をつくり機能する (文献4)。複合体の構成成分 (サブユニット) のタンパク質が一部だけ過剰になると、複合体が部分的に形成されて機能しなくなったり、余ったサブユニットが非特異的に生体分子にくっついて生体の機能に悪影響を与える。これが化学量不均衡だ。また、特異性の低い弱い相互作用が機能に重要なタンパク質もある。このようなタンパク質が過剰



a) 限界発現量が高いタンパク質は毒性が低く、限界発現量が低いタンパク質ほど毒性が高い。毒性を発揮する原因としては、タンパク質の結合性や凝集性、局在性や活性などが考えられる。b) EGFP (強化型緑色蛍光タンパク質) と Gpm1 (ホスホグリセリン酸ムターゼ1) の限界発現量 (本文p.6参照、文献5,6より改変)。酵母において、EGFPとGpm1を増殖阻害が起こるほど大量発現させ、抽出したタンパク質をSDS-PAGEにより分離した。Vectorは過剰発現していないコントロール。これらのタンパク質 (赤い点) は全タンパク質の約15%程度という高い限界発現量をもっていた。

図2 タンパク質の毒性



タンパク質の過剰発現の際に現れる毒性のメカニズムは大きく四つに分けられる。それらはリソース過負荷、化学量不均衡、乱雑な相互作用、バスのウェイ修飾である。図では通常の発現の状態と、タンパク質Aを過剰発現したときの様子を表している。特に赤色で示した分子や状態が毒性の原因となる。

図3 タンパク質の毒性発揮のメカニズム (文献3より改変)

になると、本来起こらないような相互作用が発生し、これが毒性のあるタンパク質凝集体の形成を促すことがある。これが乱雑な相互作用。代謝経路や信号伝達経路などのバスのウェイで働くタンパク質が過剰になると、その機能が充てず、そのバスのウェイの不時の活性化や抑制が起こってしまう。これがバスのウェイ修飾である。

### リソース過負荷を説明する「樽モデル」

リソース過負荷については少し詳しく解説する。タンパク質の毒性を考えるうえで、リソース過負荷はわかりやすい概念 (樽モデル、図5) を提供してくれるからだ。図4で説明したように、すべてのタンパク質は転写、翻訳を経て合成される。合成後 (あるいは合成途中に)、細胞内の特定の部位に輸送されたり、翻訳後修飾を受けたり、分解を受けたりする。これらのプロセスには、そこに使われる資源 (リソース) の量によって処理能力 (キャパシティ) に大小がある。この処理能力を概念的に表したものが図5の樽モデルである。それぞれの樽が細胞内のプロセスとその処理能力の大きさを表している。それぞれの矢印はそのプロセスで処理される仮想的なタンパク質の運命を表している。処理能力が最大のものは、実質上すべてのタンパク

質が処理される合成 (転写、翻訳) のプロセスであろう。細胞内の一部のタンパク質のみが処理される輸送や折りたたみ、分解などのプロセスの処理能力はそれよりは小さいはずだ。タンパク質輸送は、小胞体、ミトコンドリア、核などの輸送にさらに分けられ、それぞれが別々の処理能力をもっているだろう。細胞質での折りたたみと、小胞体内での折りたたみはそれぞれ異なった処理能力をもっているだろう。

ここで、これらのプロセスで処理されるタンパク質を過剰発現する。すると、いずれ処理能力がいっぱいになりほかの大切なタンパク質の処理が追いつかなくなって生体機能に悪影響が及ぼされる。これが、「リソース過負荷」だ。複数のプロセスで処理されるタンパク質を過剰発現すると、最初に処理能力がいっぱいになるのは処理能力が一番小さいプロセスだろう。つまり、あるタンパク質がどれだけ過剰発現できるか (つまりタンパク質の毒性) を決めるのは、そのタンパク質を処理するプロセスのなかでいちばん小さな処理能力のプロセスだといえる。これを「ボトルネックプロセス」と言ってもいい。そして、小さな処理能力のプロセスで処理されているタンパク質は、必ず限界発現量が低い (毒性が高い) ことになる。

## たくさんつくれるとはどういうことか？

ここまで、たくさんつくれるタンパク質のことを考えるのに、たくさんつくれない理由（タンパク質の毒性）を考えてきた。なぜか？ そもそも、ここでの毒性とは、限界発現量を下げ、つまりタンパク質をたくさんつくれなくする原因だった。だから、その原因のないタンパク質こそがたくさんつくれるもののはずだ。ここまで述べたことから考えて、それはどんなタンパク質だろうか？

生体機能に強いインパクトのある機能をもっていない、ほかのタンパク質と複合体を形成しない、多面的な相互作用をしにくい構造やアミノ酸が使われている、合成以外のリソースを使わない（細胞質で働き、自ら折りたたまれ、積極的な分解も受けない）、ということが条件だろう。こんなタンパク質はあるだろうか？ ここからは少し筆者らの実験（経験）について説明する。

筆者らは遺伝子工学でよく使われるオワンクラゲの由来の強化型緑色蛍光タンパク質（EGFP）がそれに当たると考えた。EGFPは自ら折りたたまれ酵母の細胞質にとどまる。蛍光を発する以外の機能をもたないし、相互作用する相手もない。実際、酵母でEGFPを思いっきり発現すると、全タンパク質の15%くらいまで発現できた（図2b、文献5,6）。EGFPを加工して、小胞体やミトコンドリアに輸送されたり、プロテアソームで分解を受けたり、折りたたみがうまくいかないなど、毒性のある性質をもたせると、確かにEGFPの限界発現量が下がった（文献5）。そのなかでも強い毒性があったのは核外へ輸送されるよう加工したEGFP（NES-EGFP）で、NES-EGFPの毒性はEGFPの20倍以上になった。核外輸送の運び屋タンパク質は常に忙しく働いていて、余計なタンパク質を運ぶ余裕がない

からだと考えられる（文献5,7）。

それでは、もともと細胞内にあるもので、EGFPくらいたくさんつくれるタンパク質はあるだろうか？ 筆者らは、もともとたくさんつくられている解糖系の酵素はたくさんつくれるだろうと考えた。解糖系のタンパク質をつくれるだけつって限界発現量を測ってみたところ、EGFPよりもたくさんつくれるタンパク質がいくつか見つかった。図2に示すGpm1はその一つである（文献6）。これらは過剰になると解糖系を乱す、つまりパスウェイ修飾を起こすと考えられるが、活性中心に変異を入れても限界発現量は上がらなかった。つまり、酵素の活性はこれらのタンパク質をたくさんつくる際の邪魔、つまり毒性の原因にはなっていなかった（文献6）。

## たくさんつくれるタンパク質をたくさんつくと何が起きるのか？

ここまで述べたことは、たくさんつくれるのは、要するに毒性のないタンパク質だということである。それでは、このような無毒のタンパク質は、細胞内で無限につくれるのだろうか？ EGFPのケースで、「全タンパク質の15%くらいまで発現できた」と述べたように、やはり無害のタンパク質にも限界はある。リソース過負荷の樽モデルにあるように、実質上すべてのタンパク質は合成リソースを使う。どんな無害なタンパク質でも、どんどん発現量上げていけば、最後には合成リソースに過負荷を起こしてしまう。このとき起こる現象は、リソース過負荷のなかでも特別に、「タンパク質負荷」とよばれている（文献6）。ここで大事なのは、無害なタンパク質だけがタンパク質負荷を起こせるということだ。なぜなら、毒性のあるタンパク質

は、ほかの理由で、より低い発現量で増殖阻害を起こしてしまうからだ（図2a）。

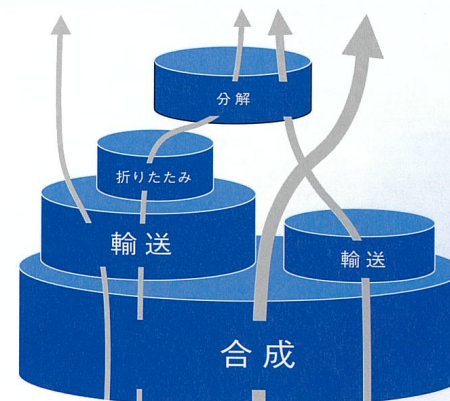
それではタンパク質負荷の実態とは何だろうか？ 合成に過負荷をかけたときに、合成プロセスの何が障害を起こすのだろうか、細胞はそれに対抗する術をもっているのだろうか？ 実はまだちゃんとわかっていない。筆者らが調べた限りでは、少なくとも転写は滞っていない。翻訳過程、たとえばリボソームの量が足りないとか、tRNAの量が足りないとか、余計なタンパク質を大量につくったせいでリボソーム自体がなくなっているとか、そういう可能性があるという段階だ。タンパク質負荷で増殖阻害が起こる理由がちゃんとわかってそれを改善できたなら、外來のタンパク質をめちゃくちゃつくる酵母ができるかもしれない。

## たくさんつくれるタンパク質の進化設計

最後に、進化的視点からたくさんつくれるタンパク質がどんなものなのかを見てみよう。細胞内でたくさんつくられているタンパク質は、先ほど述べたような毒性をもたないよう進化してきて現在の姿にあると考えられる。このような考えのもと、「折りたたみ失敗回避説」や、「非特異的相互作用回避説」が提唱されている（文献8,9）。たくさんつくられているタンパク質は、折りたたみがうまくいくように、余計な相互作用をもたないように進化してきた、磨き上げられた「たちのよいタンパク質だ」という説である。そうなってくると、たちのよさをなくさないように、たくさんつくられているタンパク質はもうあまり変化できないことになる。実際、たくさん発現しているタンパク質は、いろいろな生物種を比べてときにあまりアミノ酸配列に違いがない（文献8,9）。これらは、ピカピカに磨き上げられているからこそたくさんつくられるので、少しでもいじると毒性が出て生体に悪影響を及ぼすのだ。それとは逆に、潜在的な毒性をもつほかのタンパク質は、「発現量を低くする」という進化によって、その毒性が生体機能に悪影響を生まないようにしているのだろう。これらの発現量が増えたり、これらの毒性が上がるような変異が入ったりしたとき、生体へ異常が現れるということになる。神経変性疾患はこの例の一つといえる。

## おわりに

以上、「たくさんつくれるタンパク質がどういうものか」を追究すると見えてくる、生体内でタンパク質が働く際の背景、そしてタンパク質の毒性について筆者の考えを書い



細胞内のそれぞれのタンパク質は合成や輸送、折りたたみ、分解などのプロセスによる処理を受ける（灰色の矢印）。樽で表した各プロセスには、そこに割かれたリソースの大きさにより処理能力の大小がある（樽の大きさで表す）。

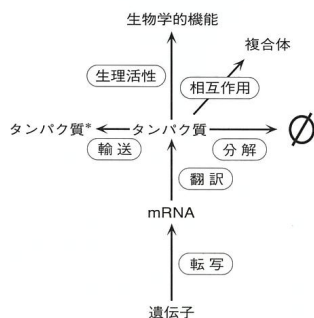
図5 細胞内のプロセスの処理能力を表す樽モデル（文献7より改変）

た。これまで研究者が注目をしてきたのは、生体にとって役に立つタンパク質の機能性、タンパク質のよい面だった。しかし、進化した生体とタンパク質を見ていると気づかないが、実はタンパク質という生体高分子は難物で、扱いを間違えると生体機能に悪影響を及ぼす。このタンパク質の悪い面とそれに生体がどう対応しているのかには、まだまだわかっていないことがたくさんある。本稿が、読者の皆さんにとってなじみのない内容で、だけど、「そう言われてみればそうだ」と思うところがあれば、筆者の目的は達成したことになる。

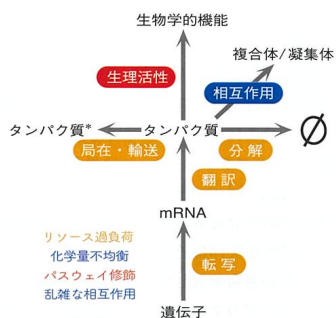
## 参考文献

1. R. Sopkoほか, *Mol. Cell*, 21, 319 (2006).
2. K. Makanaeほか, *Genome Res.*, 23, 300 (2013).
3. H. Moriyaほか, *Mol. Biol. Cell*, 26, 3932 (2015).
4. B. H. M. Meldalほか, *Nucleic Acids Res.*, 49, 3156 (2021).
5. R. Kintakaほか, *Sci. Rep.*, 6, 31774 (2016).
6. Y. Eguchiほか, *eLife*, 7, e34595 (2018).
7. R. Kintakaほか, *eLife*, 9, e54080 (2020).
8. D. A. Drummondほか, *Cell*, 134, 341 (2008).
9. J.-R. Yangほか, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 109, E831 (2012).
10. N. A. Kulakほか, *Nat. Methods*, 11, 319 (2014).
11. <http://bionic-vis.biologie.uni-greifswald.de/>

a) 通常の状態



b) 過剰発現



a) 通常の状態のタンパク質の運命。タンパク質は転写、翻訳を経て合成され、輸送されたり、ほかの分子と相互作用して複合体をつくらせ、生理活性を発揮する。積極的な分解を受けるものもある。実際には、それぞれ矢印の先は必ずしもタンパク質の最終的な運命ではなく、相互につながった複雑なネットワークになっている。  
b) 過剰発現による四つの毒性発現のメカニズムに対応するタンパク質の発現プロセス。過剰発現はタンパク質の運命にかかわる各プロセスが強化されたり、各プロセスに負荷がかかったりする。

図4 生体内のタンパク質の運命