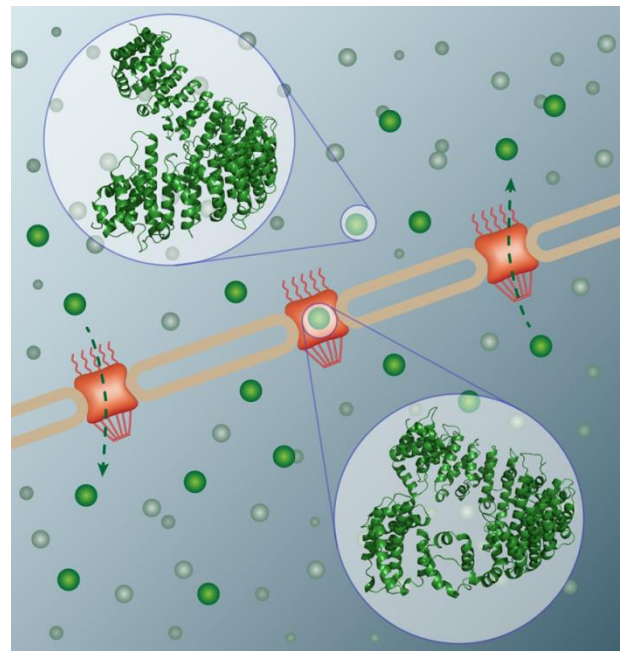


## タンパク質が核膜孔を通り抜ける際の構造変化を解明

—細胞核内部への遺伝子導入技術への応用に期待—

### 概要

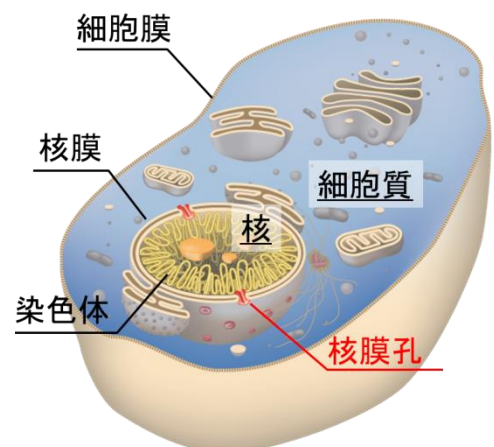
真核細胞の核は核膜によって細胞質と隔てられていて、その間の物流は核膜に埋め込まれた核膜孔を介して行われる。核膜孔内部はタンパク質が密集した空間であり、タンパク質などの生体高分子の自由な通過を邪魔している。吉村准教授らの研究グループは、核膜孔を通り抜ける性質を持つタンパク質群の構造的「やわらかさ」に着目し、その柔軟な構造変化が核膜孔内部の密集空間をすり抜けるのに重要なはたらきをしていることを明らかにした。これは、まさに人間が混雑した空間をすり抜けるときに、まわりの状況に応じて自分の体の形をやわらかくするのと同じである。この発見に基づき、同グループでは、細胞核内部へ遺伝子や薬剤を効率よく届けるためのキャリア分子を創出するための研究に着手している。これが成功すれば、非分裂細胞でも高い効率で遺伝子を核内部まで届けることのできるデリバリーシステムが確立され、実験室や遺伝子治療の現場への大きな貢献が期待される。



これが成功すれば、非分裂細胞でも高い効率で遺伝子を核内部まで届けることのできるデリバリーシステムが確立され、実験室や遺伝子治療の現場への大きな貢献が期待される。

### 1. 背景

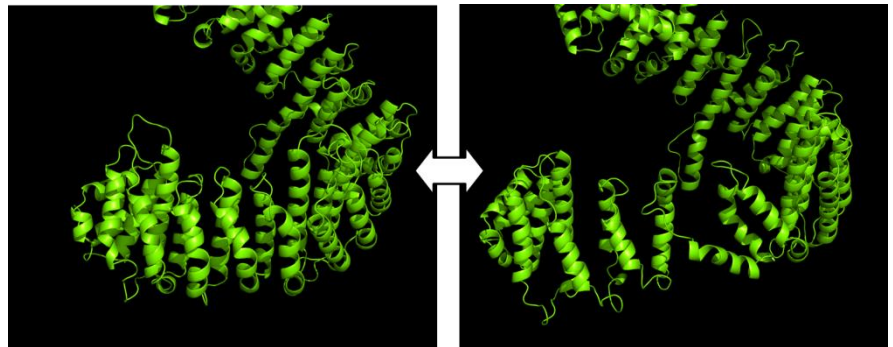
私たちの体を構成する細胞では、遺伝子は「核」という細胞内小器官に格納されています。遺伝子の発現等に関わるタンパク質達が正しく働くためには、細胞質から核内部に輸送されねばなりません。しかし、核は核膜で囲まれていて、細胞質との自由な物質流通が制限されています。そこで、核内部への流通の鍵を握るのが、核膜に存在する「核膜孔」とよばれるタンパク質複合体です。核膜孔内部はタンパク質が密集していて、細胞内部の様々な生体高分子が自由に通過することを妨げています。しかし一方で、細胞内部には核膜孔をうまくすりぬけることができるタンパク質が存在し、細胞質と核との間の流通において重要な働きをしています。タンパク質がいか



かにして核膜孔を通り抜けるかに関する分子メカニズムは、これまで明らかにされていませんでした。

## 2. 研究手法・成果

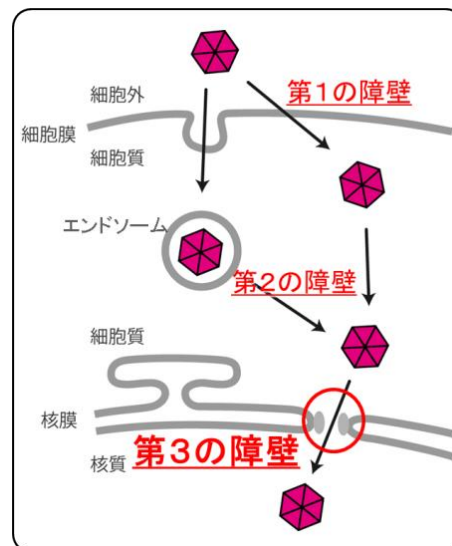
吉村准教授らのグループは、核膜孔を通り抜けやすいタンパク質がバネのように柔軟な構造を持っていることに着目しました。そして様々な分光学的手法や生化学的な手法を用いて、この柔軟性が核膜孔内部の疎水的な密集状態をうまく通り抜けるのに重要であることを突き止めました。さらに、計算機を用いた最新の分子シミュレーションにより、その原子レベルでの様子を明らかにすることに成功しています。また、タンパク質構造データベースの中から柔軟な構造を持つタンパク質モチーフを探し出して核膜孔通過能を調べたところ、これまでに知られていなかった多数のタンパク質で核膜孔通過能を確認することができました。タンパク質が自分自身のかたちを柔軟に変えながら分子が密集した空間を通り抜ける様子は、私たちが人混みの中をすり抜けるときに自分の体を柔らかくしながら進んでいくのと似ています。細胞内にはこのように「やわらかい」タンパク質が数多く存在し、周囲の環境に応じて柔軟に形を変えながらその働きを全うしています。この発見は、細胞内部でのタンパク質の「かたち」と「機能」をもういちど注意深く考え直す必要性を提示しています。



核膜孔を通過するときのタンパク質の構造変化。インポーチン $\beta$ と呼ばれるタンパク質は、多数の $\alpha$ ヘリクスから構成されていて、柔軟なバネのような形をしている(左)。核膜孔内部のようなタンパク質が密集した環境に入ると、バネがやや伸びた状態に変化している(右)。分子動力学シミュレーションによる計算結果。

## 3. 波及効果

遺伝子治療や様々な遺伝子導入技術では、導入すべき遺伝子 DNA を細胞外から細胞質を経て核内部まで送り届けて始めて高い導入効果が得られます。しかし、私たちの体を構成する多くの細胞は分裂を停止していて、核膜および核膜孔の恒常的バリアが外来遺伝子が核内部に輸送されるのを邪魔しています。細胞外から細胞質へ導入する技術はこれまでの多くの研究により確立されてきましたが、細胞質から核内への運搬に関しては、有効な方法が見つかっていませんでした。吉村准教授らの研究で得られた成果は、遺伝子導入効率を飛躍的に向上させる安全で安価な技術の開発への大きな一歩であり、今後の応用がおおいに期待されます。



ドラッグデリバリーにおける3つの障壁。細胞外からエンドソーム等による細胞内部への取り込み(第1の障壁)、エンドソームから細胞質への放出(第2の障壁)に加え、細胞質から核内部への移行には、核膜孔という第3の障壁が存在する。柔軟な両親媒性モチーフをベースに、この第3の障壁を超える新たなキャリアの開発に着手している。

#### 4. 今後の予定

吉村研究グループでは、柔軟な構造を持つタンパク質モチーフを人工的にデザインし、細胞核内部への導入キャリアとして利用する試みをすでに始めています。タンパク質構造データベースに含まれる膨大なデータを活用し、安全、小型、高効率な遺伝子導入キャリア分子を開発しようと実験を重ねています。細胞自身が持っている柔軟な構造タンパク質を模倣し、目的に合わせて改変、最適化する事で、安全で安価なドラッグデリバリーシステムを構築することを目指しています。すでにいくつかの候補の作成に成功しており、導入効率のさらなる上昇、安全性の検証等を経て、商品化へとつなげたいと考えています。

#### <論文タイトルと著者>

Structural mechanism of nuclear transport mediated by importin  $\beta$  and flexible amphiphilic proteins

Shige H. Yoshimura, Masahiro Kumeta and Kunio Takeyasu

#### <用語解説>

真核細胞：細胞内部に核を持ち、核内に染色体 DNA を格納している細胞。ほぼすべての動物、植物、菌類の細胞がこれにあたる。反対に、核をもたず染色体が細胞質に存在する細胞を原核細胞と呼ぶ。バクテリアなどがこれにあたる。

タンパク質：糖や脂質と並んで細胞を構成する重要な生体高分子の 1 つ。アミノ酸が共有結合により重合して鎖となり、それがさらに折りたたまれて三次元的な構造をとる。生体内での様々な反応を触媒する酵素の大部分はタンパク質からできている。それだけ細胞にとって重要な分子。ヒトの細胞内には約 3 万種類のタンパク質が存在していると考えられていて、そのひとつひとつが特有の働きをしている。

分光学的解析：物質に様々な光（電磁波）を照射し、その反射、吸収、蛍光等の特性を解析することで、物質の様々な情報を取り出す研究手法。タンパク質の場合、紫外領域での吸収、偏光吸収、蛍光、赤外領域での吸収等によりその構造に関するさまざまな情報を得ることができる。

分子シミュレーション：タンパク質の立体構造を元に、大型計算機を使って時系列的に構造変化を計算させる手法。全原子を対象にした計算が可能で、タンパク質の原子レベルでの動態や構造変化を予測することが可能。全原子を対象とするため計算に膨大な時間が必要で、スーパーコンピュータや GPU (Graphical Processing Unit) を用いた計算技術が飛躍的に進歩している。

ドラッグデリバリーシステム：細胞外から細胞内部に薬剤を導入するための技術の総称。薬剤のみならず、遺伝子導入技術も含む場合がある。一般的には、導入したい物質を小さな粒子に梱包し、その周りをさまざまな高分子（人工合成したもの）でコーティングし、細胞膜透過性を向上させたもの。臨床への応用を見据えた開発がされており、人体に無害でかつ効率の高い物質の開発を目指して研究が行われている。