



研究ノート

# 蛋白質の細胞内配置を決定する シグナルについて

長谷俊治\* 松原 央\*\*

## 1. はじめに

生物体の構成単位である細胞の内部には、細胞小器官と呼ばれる構造的、機能的に分化した各種の微細区画が存在し、各々の部分が細胞全体の生命活動の中の一部を担っている。代表的な例として、呼吸や光合成によるエネルギー産生場であるミトコンドリアや葉緑体、遺伝子の複製や発現場である核などがある。細胞小器官はそれぞれ自身の機能と関連した多くの種類の蛋白質（酵素）を含んでいるが、これらの大部分のものは細胞小器官内で合成されるのではなく、その外側の細胞質で合成されている。したがって、これらの蛋白質は合成の場である細胞質から機能する場である所定の細胞小器官へ移動し、そこに局在化しているわけである。そして、この動きは方向性のある、いわば能動的なものとして理解されており、これを調節する何らかのシグナルが蛋白質自身の中含まれていると考えられる。われわれは、このしくみを明らかにすることを旨として、ミトコンドリア蛋白質の局在化に関与する蛋白質の構造の解明を試みており、その概略を以下に述べる。

## 2. 遺伝子操作を利用した変異蛋白質の作製

研究材料とする蛋白質は、酵母のミトコンドリアに局在している分子量7万の蛋白質（70kと略）である。ミトコンドリアは内膜と外膜の2重膜に囲まれた細胞小器官で、70kは分子の極く一部（10%以下）で外膜に強く結合し、残りの大部分は細胞質側に露出したような姿で存

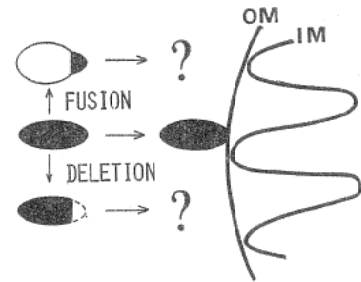


図1 70Kのミトコンドリア外膜局在化を調べる実験方法。元の70K（黒くぬりつぶしたものは外膜（OM）に移行する。この蛋白質の一部を欠させたり、他の蛋白質に融合させたものについて、その挙動を調べる。

在している。この蛋白質の遺伝子をクローン化してDNAの構造決定を行い、アミノ酸配列順序を推定した。この70kのミトコンドリア外膜局在化に必要なシグナルが蛋白質自身の中にあるのか、あれば分子のどの部分なのかを調べるために図1に示すような実験を計画した。まず、分子の一部を欠いた欠失蛋白質を作り、これの細胞内での挙動を追跡する。もし欠失部分が局在化に不要な部分であれば、その欠失蛋白質はミトコンドリア外膜に局在化する能力を保持しているであろう。逆に、必要な場合はその能力を失っているはずである。次に70kの分子の一部を他の非ミトコンドリア蛋白質に融合させたハイブリッド蛋白質を作る。局在化に必要な部分を融合させた場合には、このハイブリッド蛋白質はミトコンドリアへ移行する能力を新たに獲得することが予想される。このような検定法を用いることにより、70kのシグナルを見いだせるものと期待して研究を進めた。従来の蛋白質化学の手法で欠失蛋白質や融合蛋白質を作るのは困難であるので、クローン化した遺伝子进行操作して、それぞれの変異蛋白質に対応する遺伝子を作り、それを酵母細胞内で発現させる新しい手法を適用した。

\*長谷俊治 (Toshiharu HASE) 大阪大学理学部、生物学科、助手、理学博士、生物化学

\*\*松原 央 (Hiroshi MATSUBARA), 大阪大学理学部、生物学科、教授、理学博士、生物化学



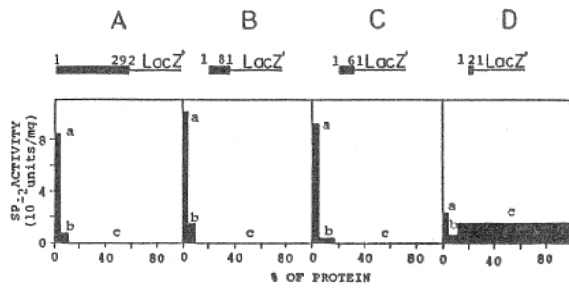


図3 70K と  $\beta$ -ガラクトシダーゼ (LacZ') の融合蛋白質の細胞内分布. a, b, c は各々, ミトコンドリア, 小胞体, 細胞質基質画分を示す.

だけでは不備であることがわかる。これらの結果から、70kのN末端部21残基以上、そして、長くても61残基までの部分に $\beta$ -ガラクトシダーゼをミトコンドリアに局在化させ得るすべて

の情報が含まれていると結論できる。これは先の欠失蛋白質を使った実験より導いた結論と良く一致している。

### 5. おわりに

蛋白質の細胞内局在化を決定している情報が、その蛋白質分子全体としての性質によるものでなく、分子の極く限られた部分、70kの場合はN末端側41残基内に存在するペプチド構造がシグナルとして働いている事が明らかとなった。このような現象は、他の蛋白質についても、しだいに明らかになりつつあり、細胞内の高度に制御された物質代謝や刺激反応の場を作り上げている蛋白質の秩序ある配置の調節機構が統一的に理解できる日が近いと期待される。

