乳がんの原因タンパク質、ついに精製!

Breast cancer protein is finally purified

ALLA KATSNELSON 2010 年8月22日 オンライン掲載www.nature.com/news/2010/100822/full/news.2010.422.html

BRCA2 の単離は、がんのリスクの解明に役立ち、 薬剤スクリーニングの助けになる。

15年にわたる努力の末、ヒトの細胞から、腫瘍抑制タンパク質である BRCA2 を高純度で単離精製することに、3つの研究チームがそれぞれ成功した。これによって BRCA2 タンパク質の腫瘍抑制機構に関して、多くの情報がもたらされるだろう。さらに、BRCA2 遺伝子の変

異ががんを引き起こす仕組みを調べたり、この破滅的な過程を阻止できる化合物を探索したりする道も開けるだろう。今回の成果は、 $Nature\ 2010$ 年 10 月 7日号 1 と $Nature\ Structural\ & Molecular\ Biology\ 10$ 月号 2,3 に掲載された。

BRCA2 (乳がん感受性タンパク質2

型)は、悪い意味で有名である。このタンパク質をコードする遺伝子にある種の 変異が生じると、乳がんや卵巣がん、そ の他のがんが発生する確率が大幅に上昇 するのである。

BRCA2遺伝子は1994年に発見された。BRCA2タンパク質は、近縁タンパク質のBRCA1など他の腫瘍抑制タンパク質とともに、細胞分裂の際に生じたDNA損傷を修復する。BRCA2が存在しないとDNA鎖の損傷が修復されないままになり、タンパク質を生成するための遺伝子読み取りに誤りが生じる。既にBRCA2と相互作用する複数のタンパク質は単離精製されているが、BRCA2そのものの単離精製は成功しておらず、線虫や細菌にある近縁タンパク質か、ヒトのBRCA2の断片を利用するしか、その機能を研究することはできなかった。

単離を難しくしている大きな原因の1つは、タンパク質の大きさにある。BRCA2 は 3418 個ものアミノ酸でできているのだ。「これは実に巨大です」と、カリフォルニア大学デービス校(米国)の生化学者で、Nature Structural & Molecular Biology 掲載論文のうちの1つ 2 の著者である Wolf-Dietrich Heyerは話す。「私自身、これまで均質に精製されたタンパク質で、これほど大きいものはほかに知りませんね」。

そのうえ、BRCA2 は単体では極めて不安定で、通常はほかのタンパク質と複合体を形成して存在していると、Nature 掲載の論文著者で、同じくカリフォルニア大学デービス校の生化学者 Stephen Kowalczykowski は話す。「このタンパク質はある程度までは精製できていたのですが、常に混入の問題が付きまとっていました。極度にクリーンな環境にする必要があり、そのことが大きなネックとなっていたのです」と彼はいう。

「修理屋」タンパク質

Kowalczykowski の 研 究 チ ー ム は、BRCA2 タンパク質の一端にマルトース結合タンパク質の標識を付けた。こうすることで、BRCA2 の可溶性やタンパク質の適切な折りたたみを促進し、安定化させることができる。さらに標識により、培養ヒト腎上皮細胞から BRCA2 を高純度で抽出することも可能になった。Kowalczykowski の 研究室のポスドクで、Nature 掲載論文 1 の筆頭著者である Ryan Jensen は、この精製過程の最適化だけに 4 年を費やしたという。

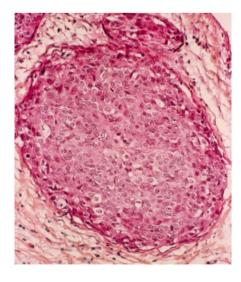
Heyer のチームは、Kowalczykowski らとはちょっと違う手法を使った。BRCA2 タンパク質を酵母で発現させたのである 2 。また、英国ロンドンがん研究所の遺伝学者 Stephen West が率いた第三のチーム 3 は、細菌人工染色体(BAC)に BRCA2 遺伝子を組み込んで、培養ヒト上皮がん細胞に導入した。どちらの研究チームも、BRCA2 タンパク質を精製できるように標識を付けた。

BRCA2 タンパク質が手に入れば、これまで研究者たちがしたくてもできなかった、機能に関するあらゆるたぐいの実験を行えるようになると、エール大学(米国コネティカット州ニューへイヴン)の生化学者 Patrick Sung は話す。彼は今回の研究に参加していないが、「この成果の意義は計り知れません。BRCA2 の作用機序の解明だけでなく、相互作用する他のタンパク質が BRCA2と共同で機能する機構の枠組みを知るのにも、大きくかかわってくるのです」と語っている。

3つの研究チームは、完全な長さのBRCA2 タンパク質と、他のタンパク質、特に RAD51 との相互作用を調べた。RAD51 が DNA 鎖の切断部の周囲に集まってフィラメントを形成すると、ヌクレオチド(DNA の構成成分)が取り込まれ、DNA の欠損部が修復される。3つの研究チームはいずれも、BRCA2と RAD51 の相互作用を調べることで、BRCA2 は RAD51 のフィラメント形成開始を助けることを明らかにした。

生化学研究の賜物

今回の研究で、BRCA2の機能について 推測されてきたことの大部分が実証さ



乳がんの顕微鏡写真。中央にある塊ががん細胞。精製されたBRCA2タンパク質により、変異タンパク質ががんを引き起こす仕組みの解明が進むだろう。

れた。「それだけではありません。我々は、生化学的な研究を行わなければわからなかった、いくつかの機能も明らかにしました」と Kowalczykowski は話す。例えば、BRCA2 は特定の型のDNA 損傷を修復するのを手伝っているとこれまで考えられてきた。ところがKowalczykowski らは、DNA との相互作用を調べることで、BRCA2 はもっと広い役割をもっているという結論に達した。「その特性からみて、BRCA2 は DNA 切断部の修復の総合的な調整役を果たしていると考えられます」と彼はいう。

BRCA2の精製が可能になったことで、構造生物学者はこのタンパク質の構造を解明することができるようになり、機能についてもっと多くの情報が得られるだろう。「原理的には、今回の手順は、タンパク質の単離精製をめざす研究者の助けになるでしょう」と Kowalczykowskiは話す。ただし彼によれば、3つのチームが用いた技術では、今のところまだタンパク質の収率が少なすぎるという。

今回の成果により、「腫瘍に関連するBRCA2の変異を調べるシステム」がすぐにできると Sung は話す。このシステムを使えば、BRCA2遺伝子の塩基配列に変異を導入して作製した変異タンパク質を精製し、その変異が BRCA2の機能にどんな影響を及ぼすかを解明することができるのだ。

最後に Kowalczykowski はこう語った。「BRCA2 以外のタンパク質でも、単離精製して、その振る舞いを知ることができれば、化学生物学のスクリーニングツールを用いて、変異したそのタンパク質が細胞に打撃を与えるのを止められるような化合物、ひいては薬剤を探すことが可能になるでしょう」。

(翻訳:船田晶子)

Jensen, R. B., Carreira, A. & Kowalczykowski, S. C. Nature 467, 678-683 (2010).

^{2.} Liu, J., Doty, T., Gibson, B. & Heyer, W.-D. *Nature Struct. Molec. Biol.* **17**, 1260–1262 (2010).

^{3.} Thorslund, T. et al. Nature Struct. Molec. Biol. 17, 1263–1265 (2010)