

オスモライトによるタンパク質の変性機構： 過剰溶媒和 vs. 脱水和

(豊橋技科大) ○墨 智成, 関野 秀男

【はじめに】

オスモライトは、生体内において浸透圧を調節する物質であるが、その中でも尿素や塩酸グアニジンがタンパク質の変性剤として良く知られている。強い変性作用を持つ界面活性剤などとは異なり、オスモライトによる変性では、多くの添加量を必要とするのが特徴である。尿素の場合、通常 6–8M 程度の添加量を必要とするが、水に良く溶ける生体内物質という点から、変性剤として幅広く用いられている。それにも関わらず、尿素変性に関する分子論的・熱力学的メカニズムは良く分かっていない。

タンパク質の構造安定性と添加物分子の溶媒和との関係は古くから知られている。一般に変性剤の場合は、タンパク質への過剰溶媒和が観測され、安定剤の場合はタンパク質に対して過小吸着するという傾向が知られている。この現象の解釈には様々な議論があるが、タンパク質の露出表面積に比例した水の界面自由エネルギーが、天然構造を安定に保つ水和自由エネルギーにおける主要部分である点[1]に着目すれば、平面界面に対するギブスの等温吸着式による類推から、タンパク質表面への添加物分子の過剰吸着は、界面自由エネルギーの低下を導き、それにより、タンパク質は変性すると考えられる。一方、タンパク質表面への過小吸着は、界面自由エネルギーの上昇を導くため、タンパク質の天然構造を安定化させる。しかしながら、平面界面に対する吸着量と界面自由エネルギーの関係を、ナノスケールの球状界面を形成するタンパク質の構造安定性の解析に適用できるかどうかについては、自明ではない。

最近、Berne 等はタンパク質(疎水性高分子)および水の全原子モデルを用いた μ 秒に及ぶ大規模分子動力学シミュレーションを行い、タンパク質(疎水性高分子)と尿素とのファンデルワールス力が水とのそれより強い事が、尿素変性において本質的であるという“直接相互作用機構”を提案した[2,3]。彼らが主張するメカニズムは、尿素とタンパク質とのファンデルワールス相互作用が、タンパク質表面への尿素の選択的溶媒和を誘起し、尿素がタンパク質の内部に浸透する事により変性へ至るというシナリオであるが、界面自由エネルギーと過剰溶媒和との関係については議論させていない。

本研究では、オスモライトによる変性が、タンパク質の種類や微視的構造に定性的に依存しない、すなわち、タンパク質の普遍的な現象である点に着目し、疎水性高分子をその粗視化分子モデルとして採用する。それにより、オスモライトの添加による高分子構造、溶媒和構造、および熱力学量等の変化の関係を明らかにする事を目的に研究を行った。

【粗視化分子モデルおよび計算方法】

タンパク質の粗視化分子モデルとして、Lennard-Jones(LJ)モノマー128 個が、剛体結合により 109 度の結合角で連結された高分子鎖を採用した。オスモライト水溶液の粗視化分子モデルとしては、二成分 LJ 溶液を採用した。このモデルにおける水のモデル化では、タンパク質の構造安定性において重要である、水の凝集性液体としての性

質に起因した疎水性相互作用を定性的に再現する。この種の疎水性相互作用は、溶質の露出表面積に比例した水和自由エネルギーに起因する事が Chandler ら[1]によって指摘されている。また、オスモライト分子には、水よりサイズの大きい比較的親水性の強い LJ 粒子を用いてモデル化した。オスモライトのモデル化では、添加物による変性において重要となる、添加物の親水性(または疎水性)の効果およびタンパク質と添加物との直接相互作用による効果を調べる事が出来る。

二成分混合溶媒中での高分子シミュレーションは、我々が開発した密度汎関数理論に基づくマルチスケールシミュレーション法[4]を用いて実行した。

【結果および考察】

まず、オスモライトを加えない常温常圧付近において、コンパクトなグロビュール構造を保持する高分子鎖および水の粗視化モデルを作成した。次に、添加物分子の水への親和性を調節することにより、3M から 8M の間の添加量によってランダムコイル化を実現するオスモライトモデルを作成した。Fig.1 に慣性半径の添加量依存性の結果を示す。■, △, ● の順で、親水性の強いオスモライトに対応している。Fig.1 で最も親水性の強い●が一般的な尿素変性の場合に対応する。

Fig.2 および Fig.3 には、Fig.1 と同様の親和性の順序で、高分子-オスモライト間および高分子-水間の Kirkwood 積分, G_{po} および G_{pw} を示す。Fig.2 の●は、変性が起きる高濃度領域において、過剰溶媒和とは逆の負の値となった。Fig.2 で最も親和性の弱い■の高濃度における過剰吸着量は、Fig.3 に示す脱水和量■に比べ一桁小さく、脱水和の方が顕著である事が分かる。

具体的な数値結果は当日の発表で示すが、Berne 等が主張する様に、高分子-オスモライト間の相互作用を強くすると、中濃度領域でのランダムコイル化が促進される。しかしながら、その場合も含め、オスモライトの高分子への過剰溶媒和による寄与というよりむしろ、水の脱水和、すなわち高分子周りに水が存在しなくなる事による溶媒和自由エネルギーへの寄与が、変性において本質的な役割を果たしている事が、グラントポテンシャルの熱力学積分の結果により明らかとなった。これは、半透膜を介して水の量を調節するオスモライトによる変性の重要な特徴の一つであると考えられる。

【参考文献】

- [1] D. Chandler, Nature **437**, 640 (2005).
- [2] L. Hua, R. Zhou, D. Thirumalai, B. J. Berne, PNAS **105**, 16928 (2008).
- [3] R. Zangi, R. Zhou, and B. J. Berne, J. Am. Chem. Soc. **131**, 1535 (2009).
- [4] T. Sumi, K. Kobayashi, and H. Sekino, J. Chem. Phys. **127**, 164904 (2005).

