

(慶應義塾大学 理工学部 物理学科) ○中迫雅由

蛋白質やその複合体は、生命活動の素過程を担う精緻な分子機械であり、20 種類のアミノ酸からなるポリペプチド鎖と少数の低分子や金属イオンによって構成されている。その大きさは様々であり、分子量は数万から数百万にもおよぶ。このような巨大な分子が、“どのようにして立体構造形成し、また、その機能を誤りなく発揮できるのか？”というありふれた疑問に答えることは依然困難である。蛋白質の動作原理や複雑な立体構造の構築原理を解明し、その巧みさを学び取ることを目的として、網羅的な蛋白質立体構造解析が世界中で開始された。しかし、既に蓄積された20000種以上の膨大な立体構造を元にしても、それら原理の解明にはまだ遠い状態にある。世界的趨勢となっている構造ゲノミクスによる立体構造情報の蓄積を行う一方で、現在の潮流とは異なる視点からのアプローチが必要なのかもしれない。

蛋白質機能発現の仕組みを真に理解するためには、分子内ドメイン、アミノ酸側鎖、水和構造のダイナミクスを時間・空間相関の立場から眺める必要がある。しかし、蛋白質のような膨大な原子からなる非線形振動子集団が織り成す広大な時・空間スケールでの相関関数の測定や解釈は容易でない。そのため、蛋白質に共通な物性に着目し、その理解を通じて蛋白質の機能発現原理へ向かうアプローチもあろう。ここでは、蛋白質がなぜ水の中でのみ立体構造形成しうるのか、蛋白質の反応場である水が、蛋白質ダイナミクスにどのような影響を及ぼすのかといった点に着目した研究の現状を紹介したい。水分子間で形成される水素結合や水分子の双極子などによって生じる集団運動は蛋白質ダイナミクスに大きな寄与をするものと考えられ、その重要性は古くから指摘されてきた。我々は、蛋白質の静的水和構造を探る手段として低温X線結晶構造解析を、動的側面を探るものとして分子動力学計算を行い、それら結果を相互補完的に検討することで蛋白質の立体構造形成や機能発現における水和構造の物理化学的寄与を考えると共に、生物学的な意義についても検討している。

極低温下蛋白質結晶構造解析技術は、大型放射光での放射線損傷低減を目指して開発された。水を多量に含んでいる蛋白質結晶(体積の35~90%)の急速凍結技術と実験手順が確立され、現在では、35~190Kの温度範囲で簡便な低温実験が可能となっている。蛋白質結晶を液体窒素温度程度に急速冷却すれば、運動性の高い蛋白質表面近傍の水分子の運動が抑制され、室温下に比べて遥かに多くの水分子を観測可能である。水分子は、正四面体型の水素結合を形成するが、蛋白質表面でもこの性質は保持されており、水と水分子同士あるいは水と水分子と蛋白質表面原子が形成する水素結合は、相互にリンクして、構造上遠く離れた蛋白質の2次構造や構造ドメインを連結する巨大な水素結合のネットワークを形成する。室温溶液中でも、このようなネットワークが蛋白質分子周辺

に形成され、その形や規模を活発に変化させながら蛋白質全体の協動的な動きに影響を及ぼしていると予想される。蛋白質水和構造の静的な側面の研究に加えて、蛋白質の運動に付随した水分子の動きが可視化されるようになってきた。構造ドメインを有する蛋白質分子は、その機能発現時にドメイン運動によって基質の捕捉や分子認識を行うと考えられているが、その運動には、蛋白質周囲の水分子は邪魔であり、蛋白質の運動と協奏した水和構造変化が不可欠である。最近、我々は、グルタミン酸脱水素酵素におけるドメイン運動中間状態およびその水和構造の立体構造解析に成功し、ドメイン運動と協奏しながら、蛋白質表面の水和サイトを水和水分子が移動してゆくことが明らかになっている。

結晶構造解析で得られる立体構造モデルからは、蛋白質およびその水和構造が剛直なものである印象を受けるが、水溶液中の蛋白質は水分子と相互作用しながら運動をしている。その時空挙動は、分子動力学計算によって追跡することができるが、特に、蛋白質に固定した座標系から眺めることで、蛋白質周囲の水分子の特徴的が明らかにされ始めた。蛋白質周囲に固定した観測点ごとの水分子の存在確率(溶媒密度分布)は、結晶構造解析で得られる電子密度に対応しているが、ヒトリゾチームの1ナノ秒分子動力学計算から得た溶媒密度分布と結晶解析で同定された水和サイトは高い相関を示した。各観測点での水分子の双極子モーメントの配向確立は、空間的協調性に富むパターンを示し、結晶解析で見出された水和サイト周囲で特に顕著であった。また、活性に関わる部位周囲での溶媒双極子場の特徴的パターンは、蛋白質の分子認識を考える上で非常に興味深いものである。

蛋白質の水和構造に関する洞察をさらに深めるためには、蛋白質の動的運動に伴う水和構造の協奏的变化、酵素反応中間状態における水分子運動の追跡、水和構造の分類、データベース化、水和構造予測等について、更なる実験的・計算科学的な研究の展開と連携が必要である。蛋白質、核酸、脂質、糖鎖の活動場を与える生体物質“水”の新しいパラダイムの展開を目指したい。

参考文献

- 中迫、肥後 (2002) *現代化学* No. 374, 24-30.
- Nakasako *et al.* (2002) *Biophys. Chem.* **95**, 211-225.
- Higo and Nakasako (2002) *J. Comp. Chem.*, **23**, 1323-1336.
- Nakasako *et al.* (2002) *Rev. Sci. Instrum.* **73**, 1318-1320.
- Nakasako (2001) *Cell. Mol. Biol.* **47**, 767-790.
- Nakasako *et al.* (2001) *Biochemistry* **40**, 3069-3079.
- 中迫 (1999) *結晶学会誌* **41**, 47-56.
- Nakasako (1999) *J. Mol. Biol.* **289**, 547-564.
- Nakasako *et al.* (1999) *Biochemistry* **38**, 9887-9898.
- Nakasako *et al.* (1999) *J. Mol. Biol.* **291**, 117-134 (1999).