



蛋白質のガラス性 転移と動力学

片岡 幹雄

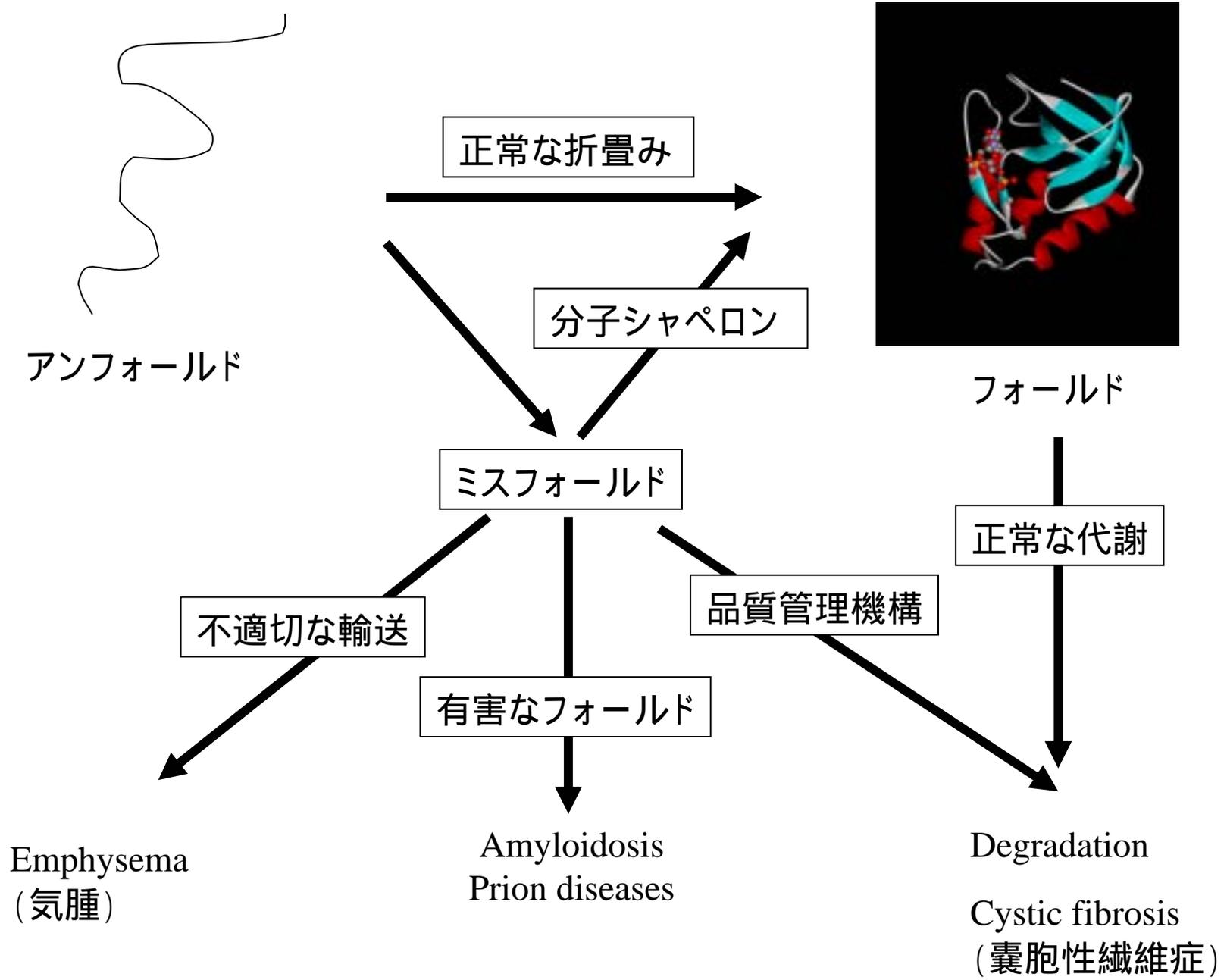
奈良先端科学技術大学院大学
物質創成科学研究科・エネルギー変換科学講座

- 生命は水の中で生まれた。
- 我々の体重の70%は水である。
- 我々は、水がなければ生きていけない。
- 水と生体分子の関係を理解することは、生命の物質的基礎を理解する上で本質的である。
- 乾燥に耐える生物がいる(干からびても水があれば生き返る)(クリプトビオシス)。
- 臓器や食品の保存に水との関係の理解は欠かせない。
- 薬の作用の理解にも水との関係を理解する必要がある。
- 水は、何をしているのか?

タンパク質とは何か

- 生物の機能素子。ほとんど全ての生命現象には、それを担う蛋白質が存在している。
- 消化酵素、呼吸や光合成におけるエネルギー代謝、筋肉など運動、免疫、脳・神経での情報処理、伝達、成長と分化など、蛋白質の担う機能は多種、多様。
- 薬の標的はほとんど全て蛋白質。

- (地球上の生物では) 20種類のアミノ酸がペプチド結合によって共重合した高分子。
- アミノ酸の配列は、遺伝情報によって決定されている。
- 遺伝情報に変異があると、その部位のアミノ酸が変異し、遺伝病の原因になる場合がある。
- 多くの場合、タンパク質は変異に対して寛容であり、その事実が生物の多様性を生み出している。



蛋白質(分子機械)と通常の機械は同じか？

- ナノメートルサイズ vs メートルサイズ
- 確率入力(熱揺らぎレベルの大きさの入力) vs 確定入力(熱揺らぎをはるかに越えた大きさの入力)
- 出力は確率的でも決定的 vs 出力は決定的
- 低エネルギー消費 vs 高エネルギー消費
- 分子間相互作用 vs 素子間の結線
- やわらかい構造 vs 硬いしっかりした構造
- 設計図は一次構造のみ vs 詳細な設計図

中性子の持つエネルギーは、物質の振動エネルギーとほぼ同じ大きさである。中性子と物質が相互作用すると、中性子は物質にエネルギーを渡して振動モードを励起したり、物質の振動エネルギーを受け取って自身のエネルギーが増加したりする。入射中性子のエネルギーの増減を測定すると、物質の運動状態がわかる。

弾性散乱

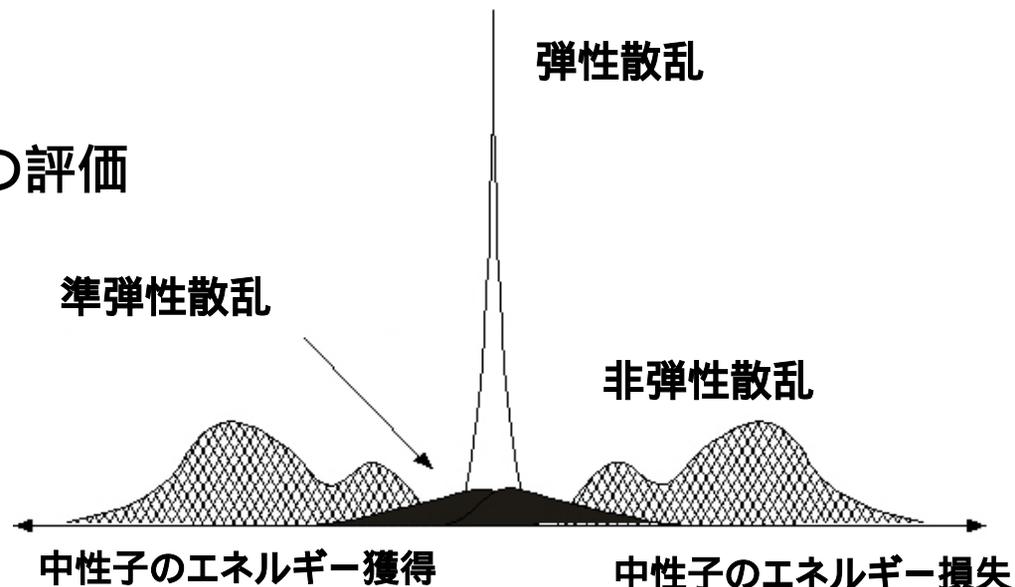
平均二乗変位の評価

非弾性散乱

振動スペクトル

準弾性散乱

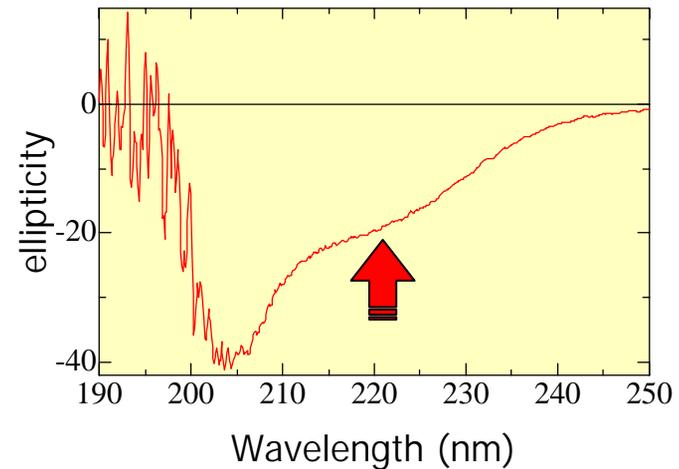
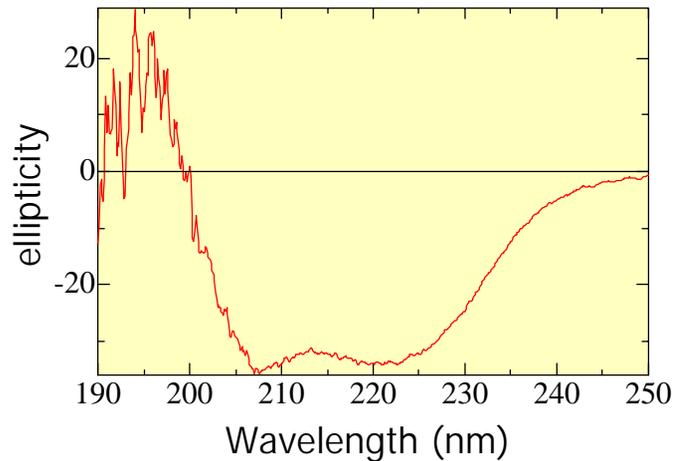
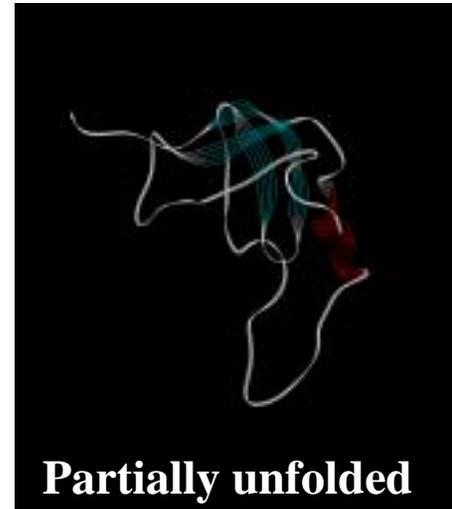
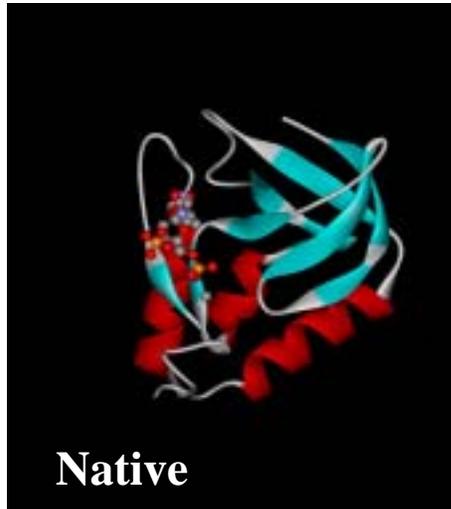
非調和な運動や拡散的な運動の評価



試料: 黄色ブドウ球菌核酸分解酵素 (SNase)

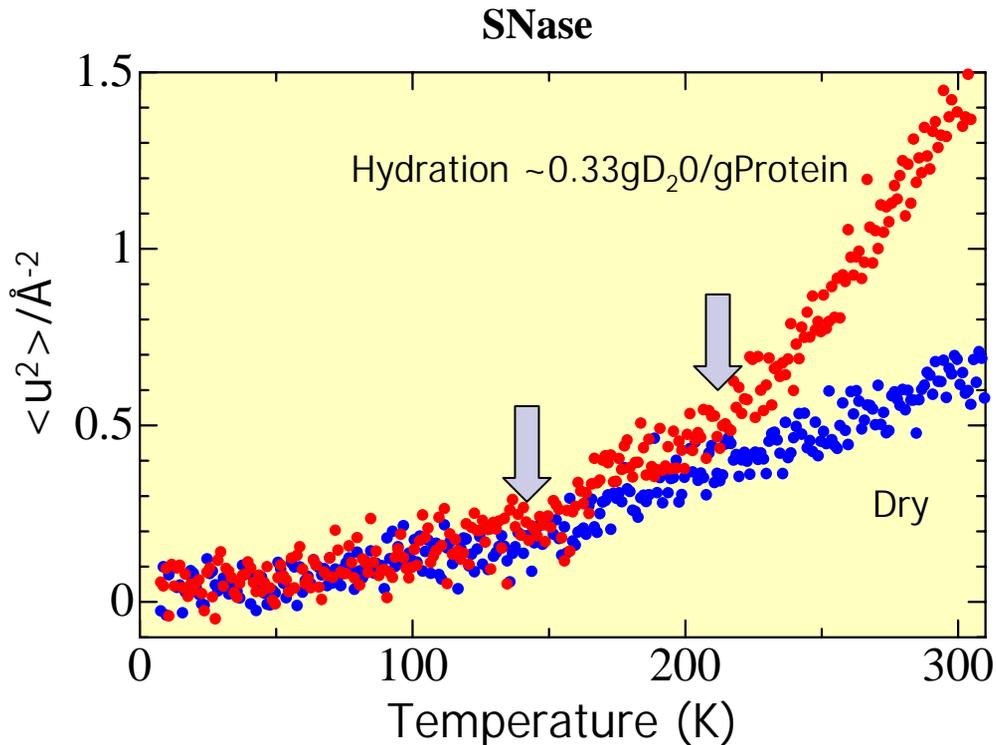
野生型 (折り畳まれている)

変異体 (折り畳まれていない)

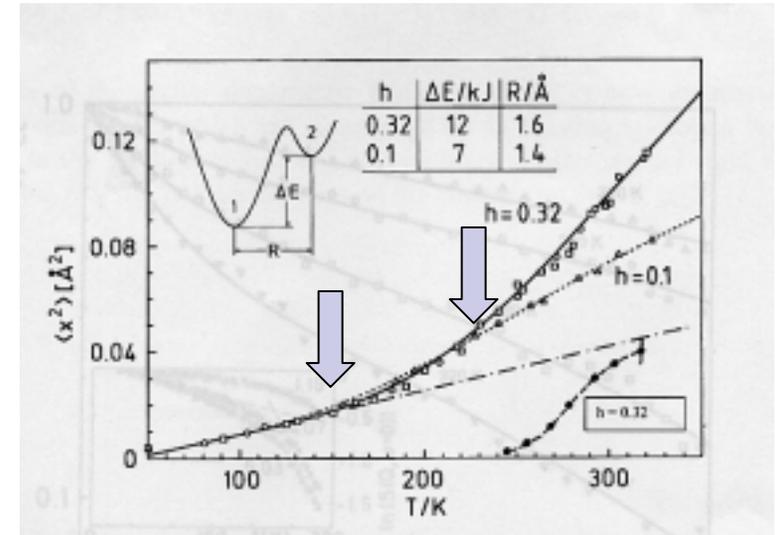


研究目的

- 室温下で蛋白質が獲得している動力学の成分を分離し、蛋白質固有の動力学を明らかにする
- 水和水とタンパク質動力学の関係
- 蛋白質の揺らぎの制御機構の解明
- 折りたたみに伴う蛋白質の動力学の変化の解明
- 機能発現に伴う蛋白質動力学の変化の解明

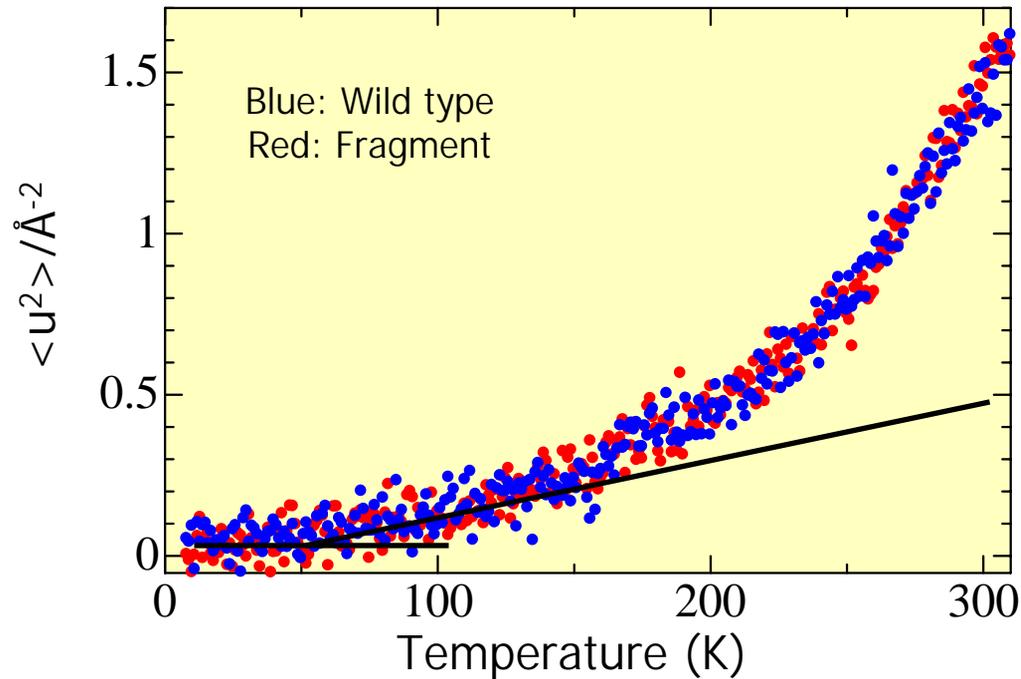


Myoglobin (hydrated sample)



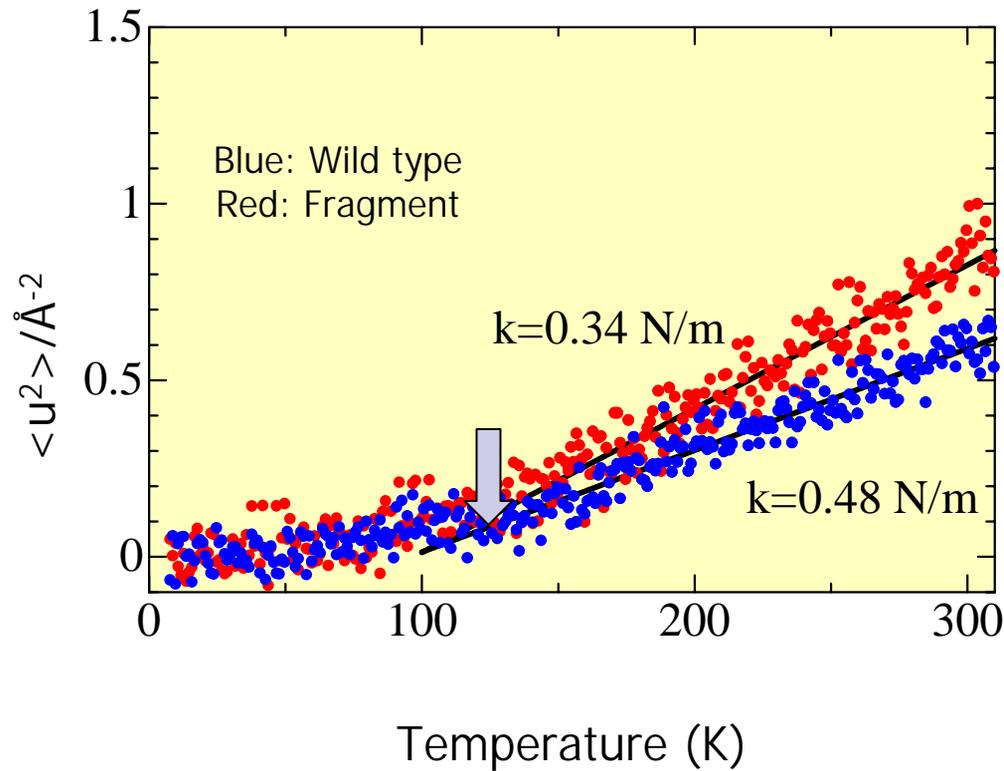
Doster *et al.* (1989) nature 337 754-756

- 低温では、蛋白質はエネルギー極小構造にトラップされ、調和的に振舞う。
- 室温では、とりうるいくつかの構造の間を自由に行き来する。(非調和なモードが活性化される)。
- いくつかの構造を取りうるようになることがガラス様転移として表れる。
- 蛋白質は、ガラス様転移点以上の温度で、ガラス転移が起きる状態(水和状態)でなければ、機能しない。



- 水和している状態では、野生型(折り畳まれている)も変異体(折り畳まれていない)も動力学転移には大きな差はない。

構造状態による動力学転移の違い(2)



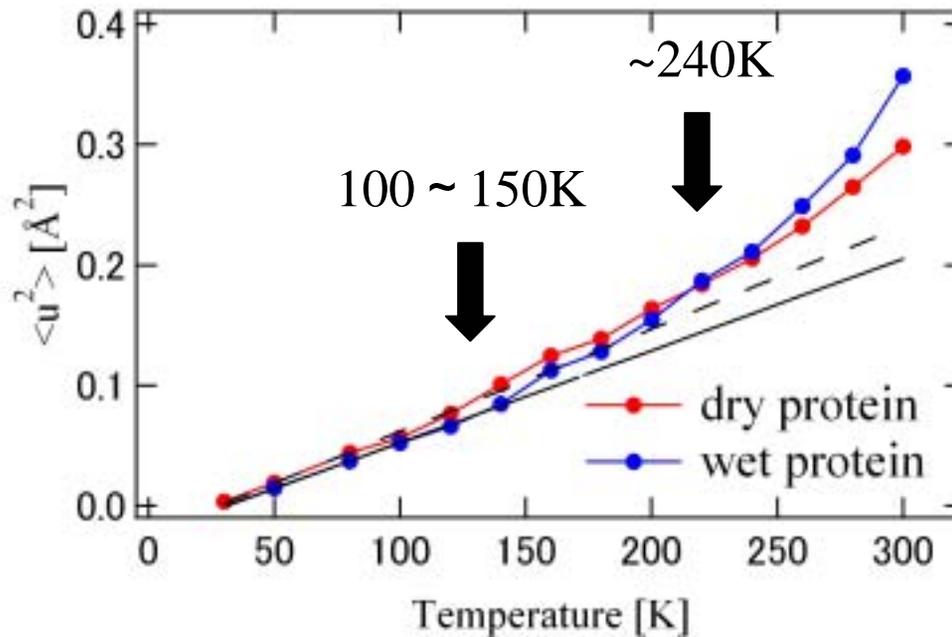
$$\langle u^2 \rangle \sim k_B T / k$$

k_B : Boltzman constant k : force constant

乾燥した状態では、140Kの転移に構造状態による変化が見られる。単なるポリマーと構造を取っている蛋白質の物性の違いを反映している？
240Kの転移は乾燥により抑制される。

動力学に対する構造状態の効果

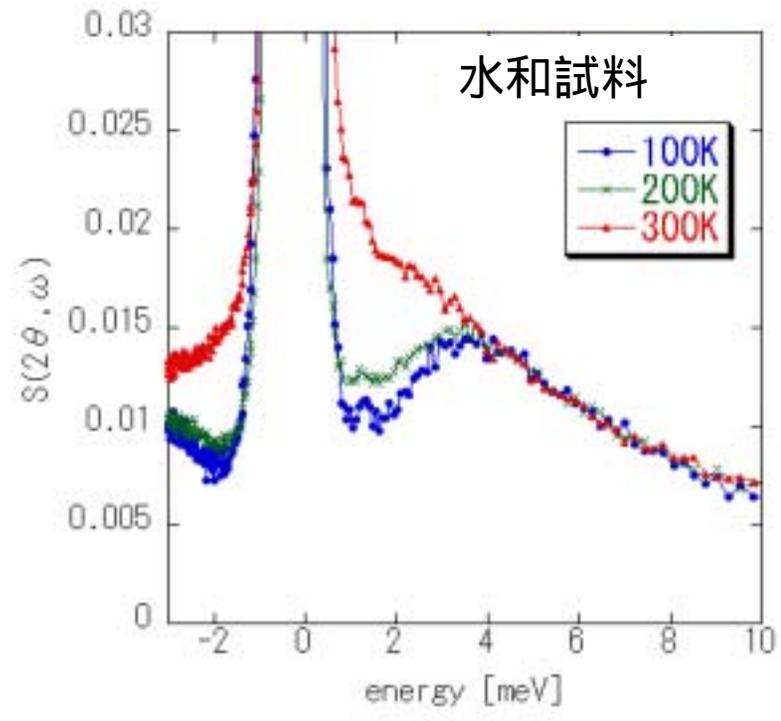
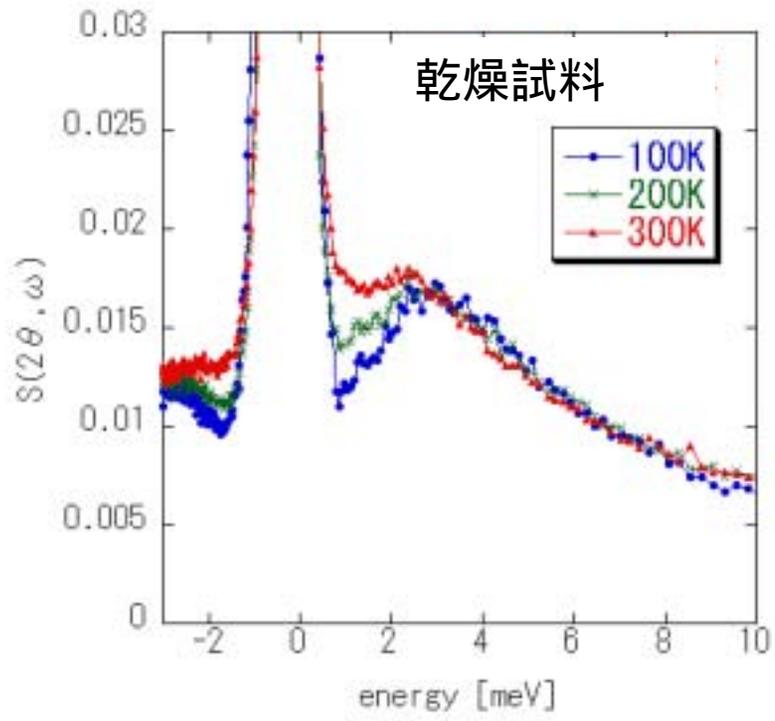
- 野生型(折り畳まれている)とフラグメント(折り畳まれていない)の動力学の違いは、乾燥試料に明瞭に現れる。
 - ➡ この違いは何に起因するのか?
- 水和した試料では両者に違いは見出せない。
 - ➡ 水和試料の動力学転移はなぜ、構造を持つとが持つまいが同じように見えるのか?



- ・140Kの転移 水和に依存しない。
- ・240Kの転移 水和に依存する。

これらは、蛋白質のみならず人工高分子でも共通に見られる性質である。

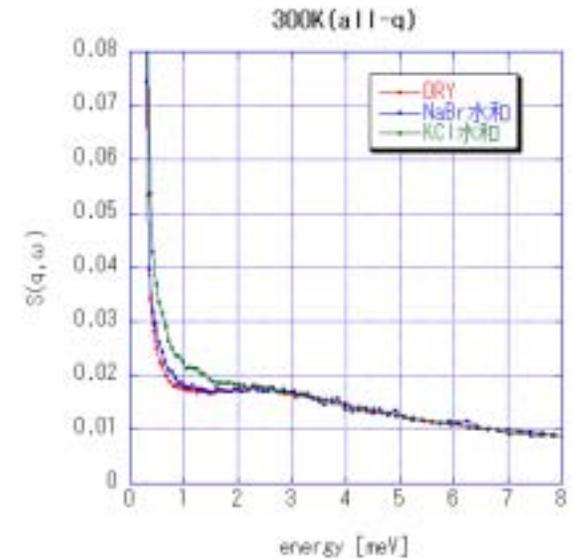
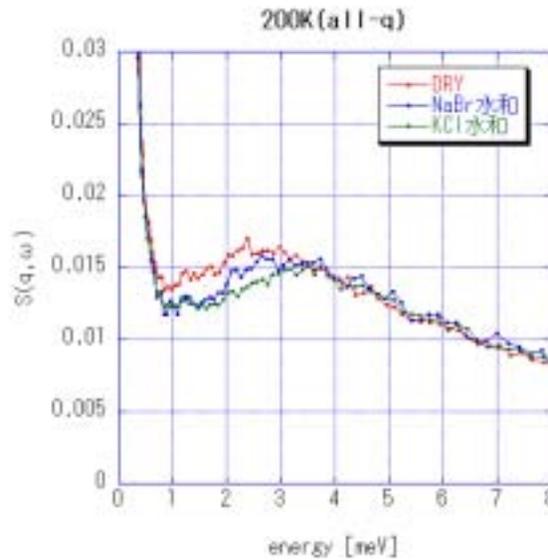
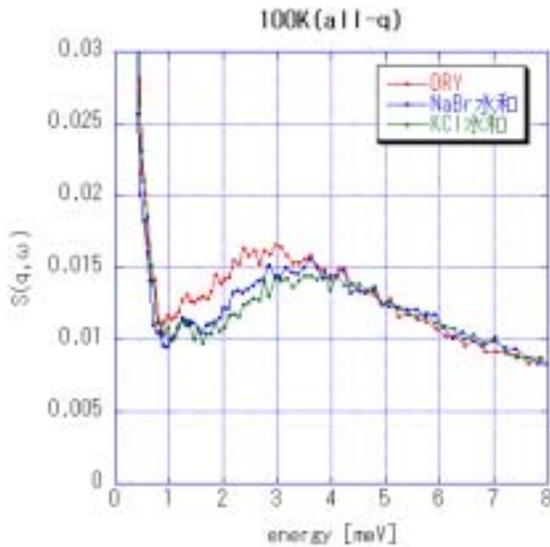
準弾性散乱の水和依存性 (1)



準弾性散乱の出現は、非調和な運動(緩和、拡散等)が活性化されることを示す。

100Kと200Kの間での準弾性散乱の増加は、140K転移の開始を示す。この増加は、乾燥試料、水和試料の両者に観測される。

水和試料での200Kと300Kの間の急激な準弾性散乱の増加は、240K転移を示す。



水和率

(g D₂O/ g protein)

- 乾燥試料
- 相対湿度 16%
- 相対湿度 26%

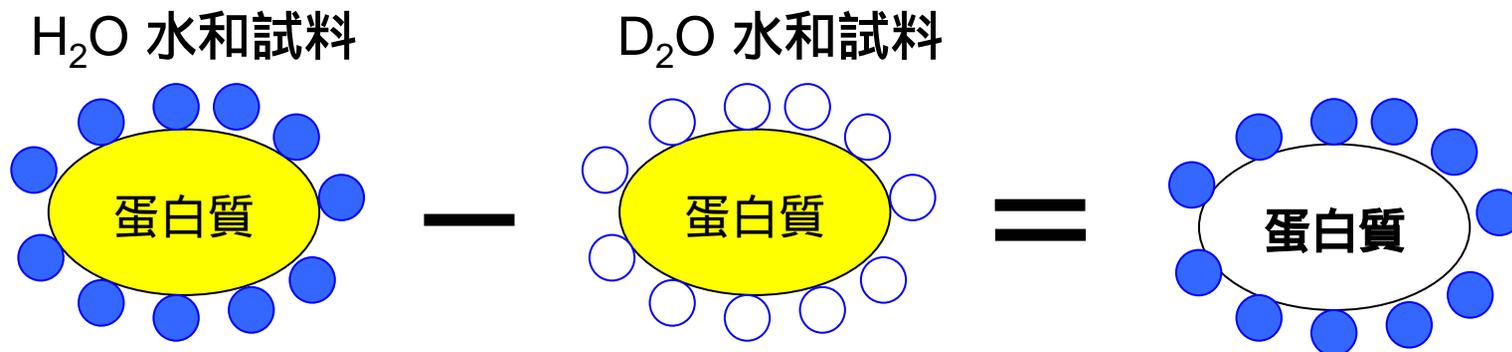
0.11

0.28

0.42

低温での水和効果は、少量の水和でもよい。240K転移を引き起こすための水和率には閾値がある。

- H₂O
- D₂O



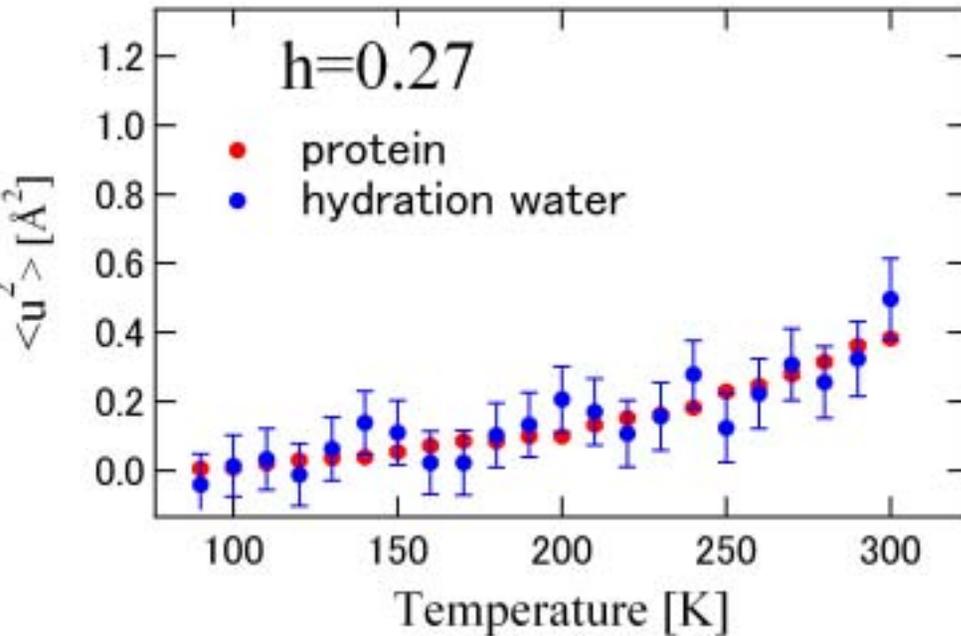
蛋白質からの散乱は差をとると消える。

水和水からの中性子散乱だけが残る。

中性子散乱断面積 (10⁻²⁸m²)

atom	inc	atom	inc
H	80.2	D	2.0
C	0.0	O	0.0

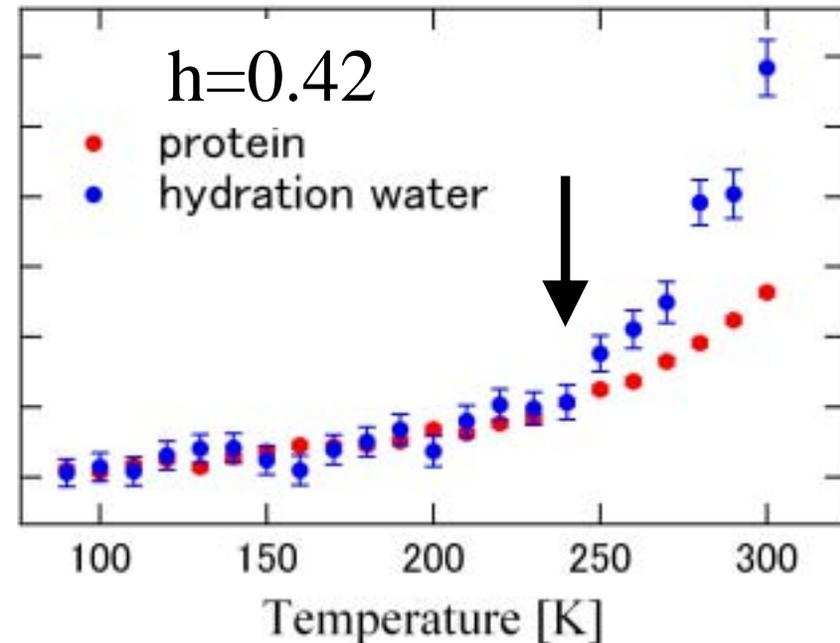
h=0.27 の水和率



水和水の平均二乗変位は、蛋白質の値とほとんど同じである。蛋白質と一緒に動く。

水分子は、水素結合によって蛋白質表面に硬く結合し、局在化している。

h=0.42 の水和率



水和水の平均二乗変位は、動力学転移点以上で急激に増加し、蛋白質の値よりも大きくなる。水和水が蛋白質を動かす。

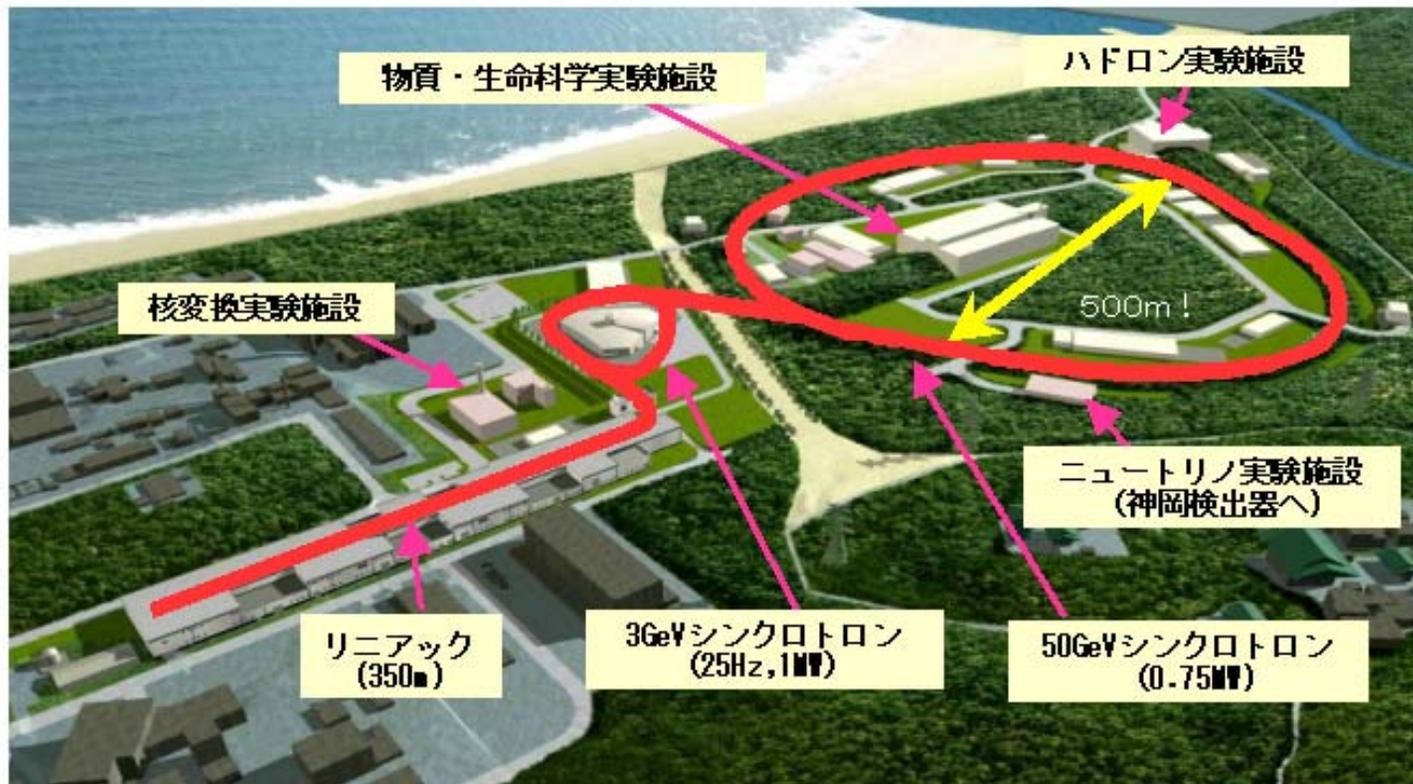
十分な水和により、水和水は協同的に動くようになり、水素結合を通して蛋白質の動力学転移を引き起こす。

蛋白質動力学や水和の研究は何の役に立つのか

- 動力学制御による機能制御技術の開発 創薬や治療の新しい原理の開発
- 繊維の保水状態の研究
- 蛋白質の水和状態と乾燥からの保護 食品蛋白質の保護、食品の有効な凍結乾燥技術の改良
- 皮膚や髪の毛の保水メカニズムの解明 化粧品やヘアケア製品の改良
- クリプトビオシス(耐乾燥性)の分子機構の解明 臓器や食品の保存技術の開発

J-PARC (Japan Proton Accelerator Research Complex)

量子ビームサイエンスとテクノロジー展開の多目的プラットフォーム



J-PARCは物質・生命科学、原子核・素粒子物理、核変換技術開発に明るさをもたらす。

積極的な産業利用が望まれている。