

統計力学モデルを用いて捉えなおす 蛋白質の酸変性・フォールディング

水上 琢也 (名古屋大学大学院理学研究科, Fox Chase Cancer Center, USA takuya.mizukami@fcc.edu)

榎 互介 (名古屋大学大学院理学研究科 k_maki@synapse.phys.nagoya-u.ac.jp)

生命現象において、プロトンの重要性を示すことからは枚挙するにいとまない。水素結合のほどよい特異性と結合の強さは、DNAの相補性に基づく二重らせん構造形成に本質的である。酸性細胞小器官は、物質の細胞内への取り込みや細胞内での輸送において重要な役割を果たす。また、生体膜内外のプロトンの電気化学ポテンシャル勾配は、アデノシン三リン酸(ATP)の合成を駆動する。

蛋白質は、生命現象の現場において多様な働きをする生体高分子である。ATP合成に際しても、蛋白質であるATP合成酵素が中心的な役割を果たす。蛋白質は、20種類のL-アミノ酸がペプチド結合によって連なった鎖状高分子である。多くの蛋白質は、アミノ酸の並びにしたがって、特異的な立体構造を自発的に獲得(フォールディング)し、その機能を発揮する。蛋白質の生物学的機能を捉えるためには、その立体構造についての知見が必須であることを考えると、フォールディング機構の解明は、生命現象を理解するために避けて通れない問題である。フォールディングの自発性は、その機構を物理学に基づいて理解できることを意味しており、この観点から盛んに研究が行われている。特に、フォールディング中間体や反応の遷移状態を、構造・エネルギーの面から特徴付けることにしばしば焦点がおかれている。

蛋白質の構造形成においても、プロトンが重要な役割を果たす。pH中性付近の生理的条件下において、蛋白質は天然状態にある。酸性条件下においては、天然状態はプロトン化によって不安定化され、変性・

失活—酸変性—するに至る。(脱)プロトン化が蛋白質の構造変化を引き起こすわけだが、その主な要因として、蛋白質分子とプロトンとの間の親和性(pK_a)や、蛋白質分子内の電荷間相互作用があげられる。例えば、蛋白質が持つカルボキシル基をはじめとするプロトンの解離基は、水素結合等の特異的な相互作用を通じて蛋白質を安定化していることがある。このとき、解離基のプロトン化状態が変わると相互作用がなくなり、蛋白質は酸変性する。これらの相互作用は、解離基の pK_a に反映される。また、酸性条件下においては、プロトン化によって蛋白質分子は正に帯電する。静電エネルギーによる不安定化を解消するために、これら正電荷同士は離れようとし、蛋白質は酸変性する。

これまでの多くの研究では、親和性のみを考慮したモデルが用いられ、静電エネルギーの影響が考慮されることはほとんどなかった。我々は、統計力学に基づき、二つの寄与を取り入れたイジング様モデルを構築した。このモデルを、モデル蛋白質キモトリプシンインヒビター2とアポミオグロビンについて、pHによるフォールディング速度論に適用した。フォールディング反応の各段階における構造安定化機構について、反応初期においては電荷間相互作用からの寄与が大きく、律速段階を含む反応後期においては解離基とプロトンとの間の親和性からの寄与が増加することが分かった。

本モデルは、pH(プロトン)によるフォールディングについてミクロな描像を与えるだけでなく、塩やリガンドによる構造形成への適用も可能である。

—Keywords—

フォールディング中間体:
多くの蛋白質は、フォールディングに際し、部分的に構造形成した中間体を蓄積することによって段階的に天然構造を獲得する。フォールディングの各段階で検出されるそれぞれの中間体の性質を特徴付けることによって、フォールディングの全体像を描くことを目指した研究が行われてきた。中間体形成の時間スケールは、マイクロ秒程度であり、従来の速度論的手法ではその形成過程を追跡することが困難であったが、近年では、連続フロー法等の実験手法の発展により、中間体の形成過程を直接測定することが可能となった。

pK_a :
プロトンの解離基は、プロトン化/脱プロトン化状態の二つの状態を取り得る。この二状態の平衡の平衡定数が酸解離定数(K_a)である。分子とプロトンの親和性の指標として、 K_a を常用対数表示した $pK_a = -\log_{10}(K_a)$ も用いられている。 pK_a は解離基のうち、半数がプロトン化するpHとしても知られており、解離基は $pH < pK_a$ ではプロトン化状態、 $pH > pK_a$ では脱プロトン化状態に偏る。蛋白質中の解離基の場合、 pK_a は、解離基の種類だけでなく、解離基が関わる相互作用の強さにも依存する。例えば、pH中性付近の天然条件下においては、酸性の解離基は脱プロトン化した状態にある傾向にあるが、脱プロトン化した解離基が天然構造内で安定で特異的な相互作用をしている場合、酸性解離基とプロトンとの親和性(pK_a)が減少する。