

本リリース配信先:草津市政記者クラブ、京都大学記者クラブ

※本日、岡山大学からも、岡山大学記者クラブ、文部科学記者会、科学記者会に配信されています。

NEWS RELEASE



2021. 9. 3 <計4枚>

報道機関各位

立命館大学広報課

水はタンパク質の立体構造を不安定化する ～長年信じられてきたタンパク質変性メカニズムの見直しへ～

立命館大学生命科学部応用化学科の今村比呂志助教と岡山大学異分野基礎科学研究所の墨智成准教授は、水はタンパク質の立体構造を不安定化していることを見出しました。これは従来のタンパク質の変性メカニズムを見直す必要性を示しています。本研究成果は、2021年8月12日に米国蛋白質科学会の国際学術誌「Protein Science」(出版社 Wiley)に掲載されました。

【本件のポイント】

- ・長年信じられてきた「タンパク質は、それを構成する疎水基が水との接触を避ける様に立体構造を安定化する」という仮説を、独自に開発した理論計算により検証した。
- ・疎水基の水との接触はむしろタンパク質を不安定化させていた。タンパク質が変性しないで行われるのはタンパク質分子内に働く直接的な相互作用によることを明らかにした。

論文名 : Water-Mediated Interactions Destabilize Proteins

著者 : T. Sumi^a, H. Imamura^b

所属 : ^a岡山大学 異分野基礎科学研究所, ^b立命館大学 生命科学部 応用化学科

発表雑誌 : Protein Science

掲載日 : 2021年8月12日

DOI : 10.1002/pro.4168

URL : <https://doi.org/10.1002/pro.4168>

【研究成果の概要】

タンパク質は体内で働く不可欠な分子であるという他に、近年は抗がん剤や新型コロナウイルスの治療薬などのバイオ医薬品、酵素などとして応用されています。タンパク質が働くためには規則正しい立体構造(天然構造)が保たれている必要がありますが、天然構造はそれほど安定ではなく、しばしば崩壊機能が失われます。これを変性といいます。タンパク質がどのようなメカニズムで変性するのか? これは安定なタンパク質分子を作るという応用のためにも重要な課題となってきました。現在の教科書では、「タンパク質の天然構造はそれを構成する疎水基が水との接触を避ける様に、いわゆる“疎水効果”によって安定化する(変性しないで行われる)」と説明されています。

本研究ではこの仮説を理論的に検証すべく、液体の密度汎関数理論(※1)を適用して、水を介した間接的相互作用の寄与を計算しました。その結果、水は疎水基を露出させるように、すなわち天然構造をむしろ不安定化(変性するように)していることがわかりました。タンパク質が変性しないで行われるのは、タンパク質分子内に働く直接的な相互作用に起因することも明らかにしました。

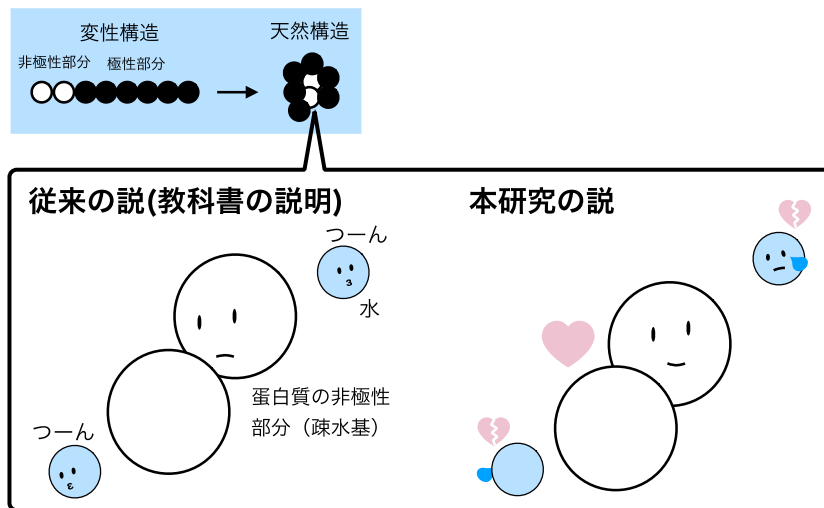


図 1. 今回の研究成果の要点。タンパク質は規則正しい立体構造(天然構造)を持つ状態と規則性が失われた変性構造の状態がある。タンパク質が働くためには、変性状態から天然状態へ変化する必要がある。タンパク質の非極性(炭化水素)部分は疎水基と呼ばれ、従来は疎水基が水を避けるように(“水からしぼり出されるように”[ヴォート生化学より])集合する効果で天然構造が安定化されていると説明されてきた。しかし本研究で検証したところ、疎水基は水と相互作用していた方がエネルギー的に安定であり、疎水基が水を“嫌っている”という従来のイメージは誤りであることがわかった。疎水基同士で働く直接的な相互作用(ファンデルワールス力)が強いため、疎水基は水と相互作用するより、疎水基同士で集合する。疎水基が集合するという“見える”現象は同じだが、そのメカニズム(解釈)が異なるのがポイントである。

【研究の背景】

生化学などの教科書では「タンパク質の天然構造は、それを構成する疎水基の水への露出を出来るだけ避けるように、いわゆる“疎水効果”によって安定化する」と説明されています(図 1)。この仮説は 1959 年の Kauzmann の“水と油モデル”を発端としています。大井と大嶋(1988 年)、Makhatadze と Privalov(1995 年)が提案した大井-大嶋-Makhatadze-Privalov(OOMP)の方法(※ 2)によってタンパク質分子内の直接的な相互作用の重要性が見直されたものの「タンパク質の非極性部分は水に露出しない方がタンパク質の天然構造を安定にする」とする疎水効果の仮説の本質は依然として支持されてきました。

【研究の内容】

この疎水効果の仮説を理論的に検証すべく、疎水効果によって安定化されるといわれる GCN4-p1 をモデルタンパク質として採用し、独自に開発した液体の密度汎関数理論を駆使して、変性構造への変化における水の効果(水を介した間接的相互作用: $\Delta\mu^{\text{ex}}$)を計算しました(図 2)。

また、タンパク質上の全ての電荷を仮想的にゼロにすることで $\Delta\mu^{\text{ex}}$ に含まれる非極性効果($\Delta\mu^{\text{ex}}_{\text{nonpol}}$)を計算した結果、 $\Delta\mu^{\text{ex}}$ と $\Delta\mu^{\text{ex}}_{\text{nonpol}}$ のいずれも変性構造を安定化させていることがわかりました。すなわち、タンパク質の非極性部分は水に露出しない方がタンパク質の天然構造を“不”安定にするという、従来の説明とは逆の結果が得られたのです。

従来の OOMP 法を見直すと、水和自由エネルギーがタンパク質表面積に比例することを仮定しているため、埋もれたアミノ酸残基を数多く有する天然構造の安定性(ギブズエネルギー)を常に過小評価してしまうという理論的欠陥があることがわかりました(図 2)。そして、水がタンパク質の天然構造を不安定化させている一方、タンパク質分子内に働くファンデルワールス力などの直接的な相互作用が天然構造を安定化していることが明らかになりました。

【社会的な意義】

教科書等を通じ約 60 年もの間信じられてきた疎水効果の仮説の再考を促すものです。これにより、水の新たな側面として従来考えられていたのとはむしろ逆の効果、すなわちタンパク質分子内相互作用によって固くコンパクトに折り畳まれた天然構造を、むしろほぐして柔軟に運動できる様にしており、水によって促される構造揺らぎは機能発現に対して多大なる影響を与えていると考えられます。このような見方を可能することは基礎科学として重要な一歩といえます。

また、抗体タンパク質をはじめとするバイオ医薬品は立体構造が不安定であると効果の低下や保存が難しくなるため、タンパク質を安定化させることは応用面でも非常に重要です。従来はタンパク質を安定化すると思われていた水の効果を見直すことは、タンパク質の改良技術の向上につながると思われられます。

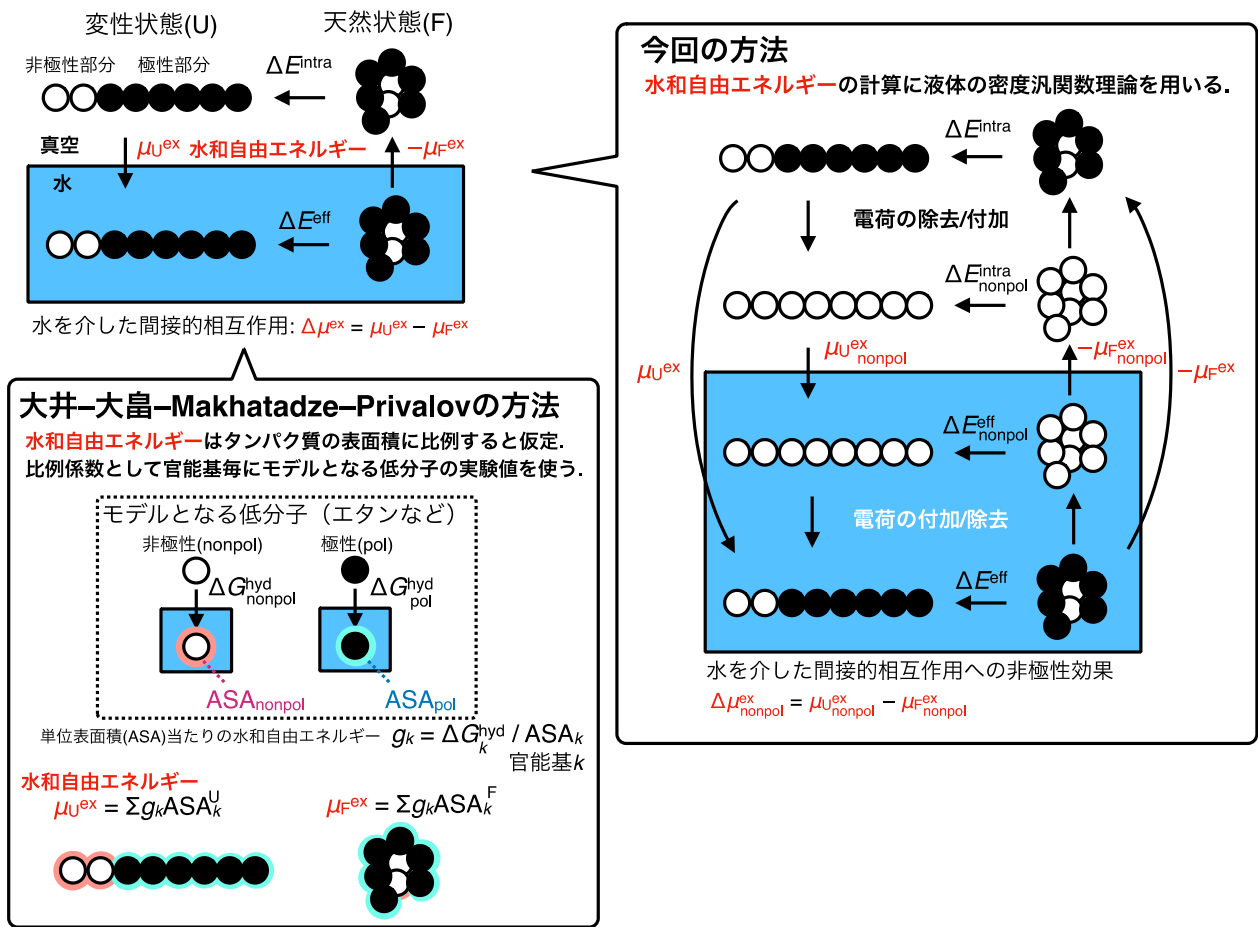


図 2. タンパク質の変性の熱力学サイクルとその計算方法。大井-大島-Makhatadze-Privalov(OOMP)の方法では水和自由エネルギーをタンパク質の表面積に比例すると仮定し、比例係数として官能基毎にモデルとなる低分子の実験値を用いている。今回の研究方法(右側)では水和自由エネルギーの計算に液体の密度汎関数理論を用いるため、上記のような仮定は入らない。

※本研究は、独立行政法人日本学術振興会(JSPS)科学研究費補助金(JP16K05657、JP18KK0151、JP20K05431、JP21K06503)の助成を受け実施しました。

【用語について】

※1 液体の密度汎関数理論

密度汎関数理論は原子、分子、固体の電子状態への適用を始め、様々な液体・溶液系の理論としても適用可能な、極めて汎用性の高い不均一系の多体理論である。発表者らは全原子分子モデルに適用可能な液体の密度汎関数理論 Reference-modified density functional theory (RMDFT)を提案し、数百個の有機分子に対する溶媒和自由エネルギーについて、実験値との平均絶対値誤差が1 kcal/molの精度で予測可能な、高精度でかつ高速な溶媒和自由エネルギー計算法を開発し、タンパク質構造安定性の解析に適用してきた。

※2 大井-大島-Makhatadze-Privalov(OOMP)の方法

1988年に大井-大島が、1995年に Makhatadze-Privalov が提案した、タンパク質の立体構造の安定性を解析するための方法。タンパク質の変性の熱力学サイクル(図 2 左上)に従い、変性ギブズエネルギーをタンパク質分子内相互作用による寄与と、水を介した間接的相互作用による寄与へと分割することが可能である。水を介した間接的相互作用の計算では、タンパク質全体の寄与を、それを構成する非極性基および極性基の水への露出表面積に比例した加成性に基づき算出する(図 2 左下)。この仮定に基づくと OOMP 法では、内部に埋もれた非極性基の水への露出が変性構造に対して常に不利に働くことになる。そのため、Kauzmann のモデルから導かれた「タンパク質の非極性部分は水に露出しない方がタンパク質の天然構造を安定にする」とする疎水効果の仮説の本質は、OOMP 法によっても引き続き支持されていた。しかし、OOMP 法ではタンパク質内部に埋もれた残基に対する正の空孔形成エネルギーが加算されていないため、埋もれた残基を多く含む折り畳まれた状態に対して常に有利に働くという問題点が明らかとなった。なお、疎水効果に関連する用語に「疎水性相互作用」がある。これには、水を介した間接的相互作用に加えて疎水基間のファンデルワールス力が含まれると定義されるが、水を介した間接的相互作用に重点を置いた説明がなされることが多い。

■本リリースに関するお問い合わせ先

(研究内容について)

立命館大学生命科学部 今村比呂志

TEL.077-561-3957

E-mail: himamura@fc.ritsumei.ac.jp

(報道について)

立命館大学広報課 担当:桜井

TEL.075-813-8300

E-mail: r-koho@st.ritsumei.ac.jp