

タンパク質の機能と凹凸な地形

大阪大 応用生物工学科 四方 哲也

タンパク質は複雑である。それは、20種類のアミノ酸でつくられたヘテロポリマーで、各アミノ酸は、隣どうしの共有結合以外に、一次配列上離れたものどうしも非共有結合で相互作用する。よって、スピングラスからの類推として、ヘテロな要素を持つ結合系のポテンシャル曲面が凹凸を持つのは当然である。また、各要素（アミノ酸）が相互作用しながら運動するので、全体として、非線形性を含む多体問題となり、その運動は複雑になっても不思議でない。この意味において、タンパク質が複雑系であることは当り前のような気がしてきた。もちろん、定量的に、凹凸度を解析したり、複雑なダイナミックスを記述しながら、この複雑性を簡単な言葉で解剖していくことは重要である。しかしながら別の立場として、複雑性は与えられたものとして、むしろ生物学的機能との関係を調べてみるという立場を我々はとる。抽象化して言うと、ある複雑系があったとして、それを人間の作ってきた下の階層の言葉に落とし込むのではなく、むしろ上の階層との関係を類推したいのである。

タンパク質物理ではD (denatured: 活性がない) 状態とN (native: 活性がある) 状態を取り扱う。この二つは実験的に常温で同じ環境に存在しうる。よって、少なくともこの二つの状態間にはポテンシャル局面の凹凸がある。しかしながら、N状態は通常は一つの状態と考えられている。つまり、N状態の中でもポテンシャル局面はデコボコしているであろうが、常温では熱ゆらぎによって簡単に乗り越えられるために、熱力学的に一つの状態として取り扱われている。こうなると、ポテンシャル局面の凹凸は、タンパク質の機能に関係がなくなる。我々は、実験的にN状態の中にも、常温で越えられない凹凸が存在して、さらにそれが機能に関係していることを示した。以下簡単に実験を紹介する。

使用したタンパク質はカタラーゼという酵素で、それは H_2O_2 を分解する触媒活性をその機能としてもつ。この酵素を完全精製して、その酵素分子当りの触媒活性 (H_2O_2 の分解速度) を $30^\circ C$ で測定すると 1400 sec^{-1} であった。これを、 $70^\circ C$ 20分で熱処理して、再び、同じ条件つまり $30^\circ C$ で活性を測定すると 3900 sec^{-1} となった。つまり、熱を加えることによって、 $30^\circ C$ での活性が約2.8倍になったことになる。酵素の活性はそのコンホメーションによるので、N状態の中に高活性型と低活性型の二つの状態があることになる。このことを確かめるために、熱処理後のサンプル（高活性型）を有機溶媒で変性して、巻戻し、活性測定すると、低活性型の活性となっていた。さらに、熱処理をすると、再び高活性型の活性が得られた。この実験より、熱処理による活性の変化は、サンプル中の微量な熱感受性物質の変化や、タンパク質の脱修飾の変化などでなく、二つの異なるコンホメーション間の転移によると考えられる。この低活性型から高活性型への転移反応の活性化自由エネルギー ($\Delta G^\ddagger$) * を求めると、 95.4 KJ/mol となった。これは、通常のタンパク質の失活の ($\Delta G^\ddagger$) * と同じオーダーである。つまり、N状態の中にも、常温でとらえられる凹凸があり、その意味でタンパク質のN状態はガラスである。

タンパク質の巻戻し実験が行われて以来、一つのアミノ酸配列（修飾も含めて）→一つのN状態コンホメーション→一つの活性の図が信じられてきた。しかし、今回紹介した実験により、一つ目の矢印が破れて、結果として、一つのアミノ酸配列→複数のN状態コンホメーション→複数の活性があることがわかった。とすれば、微妙なタンパク質のfolding passを制御することによって、生物は、その活性を制御していないだろうか。事実、別の実験系ではあるが、我々は、細菌の中では、一つの遺伝子から、いろいろな活性の酵素が作られていることを示している。これは、タンパク質の持つ複雑性を生物が使うことを示す例である。もちろん、“使う”ことを示しただけで、制御などのポジティブな意味で“使っている”かはまだ不明である。分子レベルでの複雑性が、なんらかの方法で発生や分化などの高次の事象に関係あればなあと私は祈っている。