

氏 名	木 村 哲 就
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2531 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	工 学 研 究 科 分 子 工 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	CONTRIBUTIONS OF SPECIFIC INTRAPROTEIN AND PROTEIN-WATER INTERACTIONS TO THE PROTEIN FOLDING MECHANISM (蛋白質の折り畳み機構に対する蛋白質内相互作用と蛋白質-水分子間相互作用の寄与)
論文調査委員	(主 査) 教 授 田 中 一 義 教 授 白 川 昌 宏 教 授 川 崎 昌 博

論 文 内 容 の 要 旨

第1章は本申請論文の序論であり、蛋白質の立体構造形成(折り畳み)反応について現在までに行われてきた研究を総括的に紹介し、本論文の目的を記述している。蛋白質は、その立体構造として取りうる無数のコンフォメーションの中から、多くの「蛋白質内相互作用」や「蛋白質-水分子間相互作用」を駆動力として、最も自由エネルギーの低いコンパクトな折り畳み構造を形成する。しかし、従来の蛋白質の折り畳み機構に関する研究では、折り畳んだ構造において働く蛋白質内相互作用のみを折り畳み反応の駆動力として単純化したものが多く、折り畳み過程で形成される過渡的な蛋白質内相互作用や、構造形成に伴って変化する水分子と蛋白質との相互作用については十分な検討がなされてきていない。そこで、本論文では構造変化の過程を種々の分光学的手法によって追跡することで、折り畳み反応の駆動力となる相互作用の同定を試みた。

第2章では、蛋白質内相互作用のうち、蛋白質がコンパクトになるために必須な側鎖の相互作用を、短いペプチドをモデルとして用いて検討している。第1節では、側鎖間あるいは側鎖-主鎖間の水素結合を形成し得るポリグルタミン酸をモデルとして用い、そのヘリックス形成過程を追跡したところ、側鎖の非特異的な水素結合によって安定化される中間体を形成した後、最安定の一本の長いヘリックスが形成されることを明らかにした。つまり、蛋白質の折り畳み初期段階では、非特異的な側鎖間の相互作用が働くことが示唆された。

第3章では、蛋白質の折り畳みの初期段階で起こる構造変化が、第2章で示された非特異的な側鎖の相互作用による引き起こされる可能性について検討した。第2節において、リボヌクレアーゼ A の折り畳み過程を追跡したところ、初期段階において、コンパクトな構造を持つ中間体が形成し、その中間体は疎水性残基が特異的に集合して形成される疎水性クラスターを有していることが示された。したがって、折り畳み初期段階において起こる構造変化に対して、非特異的な側鎖の相互作用のみならず、特異的な疎水性相互作用も重要な寄与をすることが明らかとなった。

第4章では、第2・第3章で検討した側鎖の相互作用に加えて、蛋白質の二次構造を決定する主鎖間水素結合に注目し、蛋白質の代表的な二次構造であるヘリックスから構成される蛋白質と β シートを有する蛋白質の折り畳み機構に対して、蛋白質内相互作用の寄与についての比較を試みた。第3節ではこれまで明らかにされていなかった β シートを含む蛋白質である一本鎖モネリン(SMN)の折り畳み機構を追跡した結果、SMNは収縮した中間体を形成し、その後に水素結合ネットワークの形成が起こることを明らかにした。第4節では中間体の主鎖構造を検討しており、初期収縮は β ターンの形成と非特異的な疎水性相互作用によって引き起こされると推定できた。この研究によって、ヘリックスから構成される蛋白質と β シートを有する蛋白質の折り畳み機構を比較することが可能となり、その結果、蛋白質内相互作用のうち、配列上で比較的近い位置に存在するアミノ酸残基間に働く特異的な水素結合と疎水性相互作用、および非特異的な側鎖間相互作用によって、蛋白質は初期収縮を起こすことが示された。この収縮はペプチド鎖が取りうるコンフォメーションの数を限定する効果を有し、収縮に続いて最安定な構造を形成する蛋白質内相互作用を探索することで、水素結合ネットワークを形成す

るという「収縮—探索ダイナミクス」を提唱した。

第5章では、蛋白質—水分子間相互作用の折り畳み機構への影響を検討するため、水和構造を反映する部分モル体積に着目し、折り畳みに伴う体積変化から水分子と蛋白質の相互作用の変化を追跡した。シトクロム c の折り畳み速度の圧力依存性から、活性化体積を求めたところ負の値が算出され、これはシトクロム c の折り畳み過程において、疎水性残基から水分子が排出されることを示している。このような水分子の排出は、溶媒のエントロピーを増大すると考えられることから、折り畳み反応における疎水性残基からの脱水和により、折り畳みに伴う蛋白質分子のエントロピー損失は相殺され、蛋白質の折り畳みに伴う収縮がエネルギー的に有利に進行すると考えられた。したがって、疎水性残基における蛋白質—水分子間相互作用の消失は、折り畳み反応のエネルギー障壁を低くすることで、折り畳み反応を促進していると結論づけられる。

第6章は結論であり、本論文で得られた成果について要約している。

論文審査の結果の要旨

本論文は、「蛋白質内相互作用」と「蛋白質—水分子間相互作用」が蛋白質の立体構造形成機構（折り畳み機構）において果たす役割を明らかにすることを目的に行った研究の成果をまとめたものであり、6章6節から構成されている。第1章は申請論文の研究の背景をまとめたものであり、第2～4章は蛋白質内相互作用、第5章では蛋白質分子と水分子との相互作用を検討している。このうち第2、第3章においては蛋白質がコンパクトな形を取るために必須な側鎖の相互作用について調べており、折り畳み初期段階に非特異的な側鎖の水素結合が形成すること（第2章）と初期に働く特異的な疎水性相互作用が折り畳みに必須であること（第3章）を明らかにしている。さらに、第4章では、蛋白質の二次構造を決定する主鎖間水素結合について、異なる折り畳み構造をもつ蛋白質の折り畳みダイナミクスを追跡することによって検討している。以上の結果から、蛋白質内相互作用のうち、配列上で比較的近い位置に存在するアミノ酸残基間の特異的な水素結合と疎水性相互作用、および非特異的な側鎖間相互作用によって、蛋白質は初期収縮を起こすことを示しており、さらにこの収縮に続いて、最安定な構造を形成する相互作用を探索し、水素結合ネットワークを形成するという折り畳み機構を実験的に提唱している。第5章では蛋白質分子と水分子との相互作用について、蛋白質の折り畳みに伴う脱水和は溶媒のエントロピーを増加させ、立体構造形成に伴う蛋白質分子のエントロピー損失を補償していることを明らかにしている。つまり、蛋白質—水分子間相互作用は、エネルギー的に折り畳み反応を起こしやすくしていると結論付けている。最後に第6章では、本論文で明らかとなった折り畳み過程で働く相互作用に関する知見をまとめている。本論文は、蛋白質化学としての学術上のみならず、蛋白質の構造予測やプリオン病などの蛋白質の構造異常による疾病の原因解明など実際上にも寄与するところが少なく、博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成17年2月17日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。