

共溶媒溶液の小角散乱データを用いたタンパク質構造への共溶媒効果の解析

墨 智成

岡山大学異分野基礎科学研究所

尿素はタンパク質の分離・抽出において用いられ、アルコールはタンパク質のヘリックス構造の誘導や安定性の評価、液-液相分離の制御等に利用されている。水に加えることで効果を発揮するこれらの添加物は共溶媒と呼ばれ、幅広く活用されてきた。両者とも、水よりタンパク質との相互作用を好むため、タンパク質への選択的結合(溶媒和)を示す。一方、両者の顕著な違いとして、尿素はヘリックス構造を壊して乱れたコイル構造を導くのに対し、2,2,2-トリフルオロエタノール(TFE)などフッ素系アルコールは逆に、ヘリックス構造の安定化を導くことが、古くより知られていた。しかしながら、これら相反する共溶媒効果のメカニズムについては、包括的理解に至っていない。本講演では、小角 X 線散乱(SAXS)測定による共溶媒溶液の構造データ(Kirkwood-Buff 積分(KBI))を用いた選択的溶媒和に関する熱力学恒等式¹を、尿素および TFE によるタンパク質変性の解析に適用した結果について紹介する。

私共の研究グループによる SAXS 測定において、TFE 水溶液はモル分率 0.12 辺りで、濃度ゆらぎの顕著な極大を示すことが見出された²。先行研究では、熱力学データを利用した計算から共溶媒溶液の KBI が評価されていたが、TFE の様な濃度ゆらぎが大きい系では、SAXS によるアプローチに利点がある³。TFE を含むフッ素系アルコールによる高いヘリックス誘導能は、その大きな濃度ゆらぎに起因したアルコール分子によるタンパク質への選択的溶媒和に帰着すると考えられてきた⁴。しかしながら、SAXS による正確な濃度ゆらぎの算出から、濃度ゆらぎが増大するより低濃度域において、TFE は十分大きなヘリックス誘導能を有していることが明らかとなった²。

ところで、前述の選択的溶媒和に関する熱力学的恒等式によれば、共溶媒の添加によってヘリックスの安定化を導く場合は、コイルよりヘリックスに対してより強い選択的結合(以降、過剰選択的溶媒和と呼ぶ)を示し、逆にコイルの安定化を導く場合は、コイルに対して過剰選択的溶媒和を示す。このことから、TFE において低濃度域から観測される顕著なヘリックス誘導能は、TFE 水溶液が示す大きな濃度ゆらぎによる効果以外に、ヘリックスに対して過剰選択的溶媒和を示す何らかの分子機序が存在するはずである²。

私共は、濃度ゆらぎは小さいが十分な共溶媒効果を示す低濃度域に着目し、TFE および尿素がタンパク質に対して示す選択的溶媒和のメカニズムを明らかにすべく、分子シミュレーション法を用いた解析を行なった⁵。その結果、TFE のヘリックスに対する過剰選択的溶媒和は、TFE とヘリックスの側鎖との静電相互作用が、コイル状態より強いことに起因しており、その結果、ヘリックスの安定化を誘導することが明らかとなった。また、これまで疎水基をヘリックスへ向けたミセル様溶媒和がタンパク質周りに形成されると考えられてきたが、実際にはヒドロキシ基をヘリックスの側鎖へ配向し静電相互作用を稼ぐ、逆ミセル様溶媒和を形成していることが見出された。

一方、尿素のコイルに対する過剰選択的溶媒和は、尿素とコイルの主鎖との相互作用が、ヘリックス状態より強いことに起因しており、その結果、コイルの安定化を導くことが明らかとなった。これらに加え、共溶媒効果における水の役割は、これまでほとんど言及されてこなかったが、本研究で提案する解析により、水による寄与は常にコイルの安定化に貢献することが示された。

- [1] V. Pierce *et al.*, *Cell Bio Biophys*, 2008, **50**, 1–22. [2] H. Ohgi *et al.*, *PCCP*, 2021, **23**, 5760–5772.
[3] R. Chitra and P. E. Smith, *J Phys Chem B*, 2002, **106**, 1491–1500. [4] D. P. Hong *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 8427–8433. [5] N. Nakata *et al.*, *Protein Sci.*, 2023, **32**, e4763.