

# 糖・ポリオールによる蛋白質の溶媒和および構造安定性に対する効果

味戸聡志, 平井光博  
群馬大学大学院理工学府

溶液散乱法は、多彩な溶媒条件で溶質粒子の構造を直接観測することが可能である。従って、タンパク質のフォールディング問題や、分子混雑環境が与える影響を解明する上で強力な手法となる。分子混雑 (molecular crowding) 環境は、細胞内の生体高分子濃度が 300~400 mg/mL に達することからその影響が注目され、*in vivo* と *in vitro* の間で分子の挙動が異なる要因の一つであると考えられている。また、昆虫類や両生類等では環境ストレスの暴露に対して高濃度の糖やポリオールを含蓄することで耐性を獲得することが知られている。糖・ポリオールによってタンパク質の変性や凝集が抑制されることは古くから認知されており、近年はタンパク質製剤の保存液として開発が行われている。しかし、濃厚溶液中におけるタンパク質構造の観測は困難で、その作用機構は未だ不明瞭である。そこで我々は、広角 X 線散乱と小角中性子散乱を用いて糖・ポリオールによるタンパク質安定化メカニズムの検討を行っている。広角 X 線散乱法をタンパク質溶液に適応すると、四次・三次構造から二次構造までの全階層構造領域の情報を得ることができたため、タンパク質の外形だけでなく分子内構造の変化を検討することが可能となる。また、小角領域にはタンパク質水和構造の情報が含まれており、タンパク質水和殻の構造を検討できる。我々は上記の手法を用いてミオグロビンに対する二糖と単糖およびグリセロールによる保護作用を検討し、糖分子およびグリセロール分子がタンパク質水和殻から排除され、水分子からなる水和殻が濃厚溶液中でも保持されることを明らかとした[1,2]。化学変性や熱変性に対する糖による安定化作用を調べると、化学変性に対して二次構造領域に特に高い安定化作用が見られ、熱変性によって生じるアミロイド様凝集の形成を強く抑制することが明らかとなった[3]。さらに、pH 3.5 の緩やかな酸変性条件で形成したアミロイド様凝集にトレハロース (二糖) を添加すると、凝集体の解離が生じ、ミオグロビンの天然構造が回復されることが判明した (Fig.1) [4]。図中の矢印は左から凝集体、分子間スタッキング、cross- $\beta$ 構造に由来するピークである。この回復作用は pH 3.0 では見られず、トレハロースによる回復作用はアミロイド様凝集の前駆体に対してのみ効果があるものと考えられる。現在は糖分子の溶液構造の解析を行っており、今後も PF と広角 X 線散乱を活用して研究を展開する予定である。

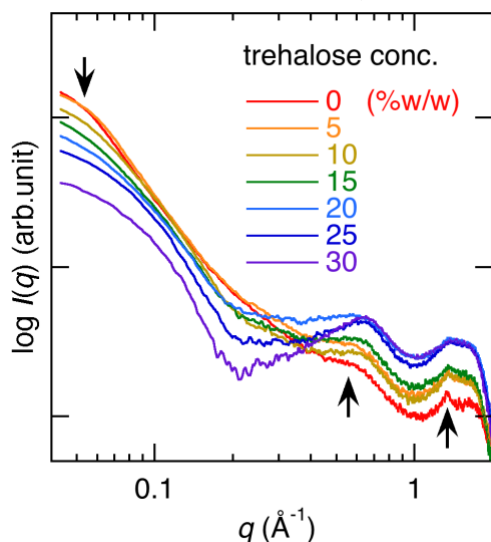


Fig.1. pH 3.5 におけるミオグロビン WAXS 曲線のトレハロース濃度依存性

- [1] S. Ajito, M. Hirai *et al.*, *Physica B* (2018), doi:10.1016/j.physb.2018.03.040.
- [2] M. Hirai, S. Ajito *et al.*, *Biophys. J.* **115**, 313 (2018).
- [3] S. Ajito, M. Hirai *et al.*, *J. Phys. Chem. B.* **122**, 8685 (2018).
- [4] M. Hirai, S. Ajito *et al.*, *J. Phys. Chem. B.* (2018), doi:10.1021/acs.jpcc.8b09379.