

蛋白質と有機溶媒との相互作用 I

— 架橋リパーゼ結晶—ベンゼン系の低温熱容量 —

蛋白質は核酸・脂質・糖と共に生物の生命活動を維持するのに重要な役割を担う生体高分子です。蛋白質は20種類ものアミノ酸の組み合わせから成り、その特異なアミノ酸配列や立体構造は蛋白質の機能発現に深く関わっています。蛋白質はそれだけではなく、非常に多くのわずかな構造の違いに対応するエネルギーランドスケープの間を熱的に揺らぐことによって、機能を有効に発現しています。これらの蛋白質の立体構造や熱的揺らぎ（分子運動）は周りに水が存在して初めて実現するので、水は蛋白質にとって必要不可欠なものとなっています。

一般に、蛋白質を高温や有機溶媒下に存在させると、変性して機能を発現しなくなりますが、蛋白質に化学的に架橋修飾を施すと、安定性が向上し、高温や有機溶媒存在下でも機能を発現できるようになります。昨年の本レポート No. 22 の架橋リパーゼ結晶—水系および非架橋リパーゼ—水系の低温熱容量についての研究記事では、架橋していないリパーゼ—水系で見出されたガラス転移や水和状態、過剰熱容量が、リパーゼを架橋してもほとんど影響しないことを紹介しました。私たちは蛋白質の機能発現に深く関わっている分子運動や疎水性相互作用と周りの溶媒との関係を調べるために、架橋リパーゼ結晶—有機溶媒系の低温熱容量測定を行いました。

今回は有機溶媒として非極性溶媒のベンゼンを選びました。熱容量測定は59.3%、22.7%、12.6%の3種類の含ベンゼン試料について研究室既設の微量試料用断熱型熱量計を用いて行いました。

Fig. 1 に59.3%、22.7%、12.6% 含ベンゼン試料の熱容量測定結果を示します。全ての試料でベンゼンの融解による熱容量ピークが観測されました。融解ピーク温度は59.3% 試料ではバルクのベンゼンと同じ278.7 Kでしたが、22.7% および12.6% 試料ではそれぞれ278.8 K、279.4 K とベンゼン濃度が減少するにつれて高くなり、通常の凝固点降下とは逆の傾向を示し

ました。しかしながら、含水試料で観測されたガラス転移や過冷却溶媒の結晶化による発熱などは見られませんでした。

観測されたベンゼンの融解エンタルピーから、各試料について結晶化したベンゼン（自由ベンゼン）および結晶化しなかったベンゼン（束縛ベンゼン）の量を求めました（Table 1）。その結果、束縛ベンゼン量は架橋リパーゼ結晶1 g 当たり (0.014 ± 0.001) g となりました。このことは溶媒であるベンゼン分子がリパーゼ分子にほとんど溶媒和していない、すなわちリパーゼ分子とほとんど相互作用していないことを意味します。

Fig. 2 は59.3%、22.7%、12.6% 含ベンゼン試料の過剰熱容量です。何れの試料でも過剰熱容量の値はほとんど0 ですが、温度が高くなる

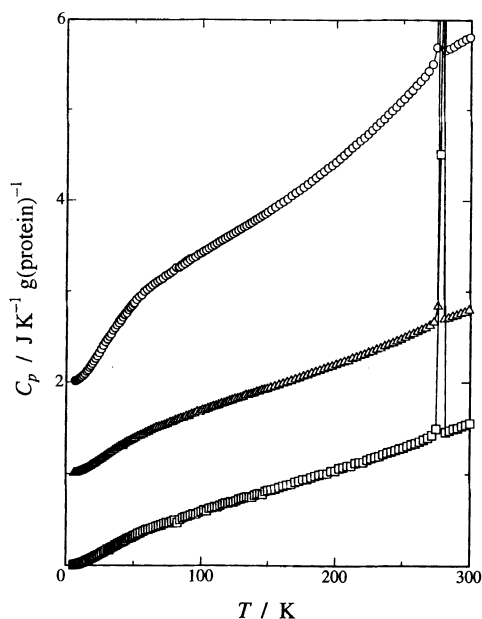


Fig. 1. Heat capacities per gram of cross-linked lipase crystal of cross-linked lipase crystals containing 59.3% (○), 22.7% (△), and 12.6% (□) of benzene. Heat capacities of 59.3 and 22.7% samples are shifted upward by 1 and 2 J K⁻¹ g⁻¹(protein), respectively. Heat capacity peaks at 278.7, 278.8, and 279.4 K are due to fusion of benzene in 59.3, 22.7, and 12.6% samples, respectively.

Table 1. Enthalpies of fusion per gram of cross-linked lipase crystal of benzene, amounts of frozen and unfrozen benzene for cross-linked lipase crystals containing 59.3, 22.7, and 12.6% of benzene.

benzene content	$\Delta_{\text{fus}} H$	$m_{\text{C}_6\text{H}_6}$ (frozen)	$m_{\text{C}_6\text{H}_6}$ (unfrozen)	$m_{\text{C}_6\text{H}_6}$ (total)
	J g(protein) ⁻¹	g	g	g
59.3 %	182.0	1.441	0.015	1.456
22.7 %	35.39	0.280	0.013	0.293
12.6 %	16.56	0.131	0.013	0.144

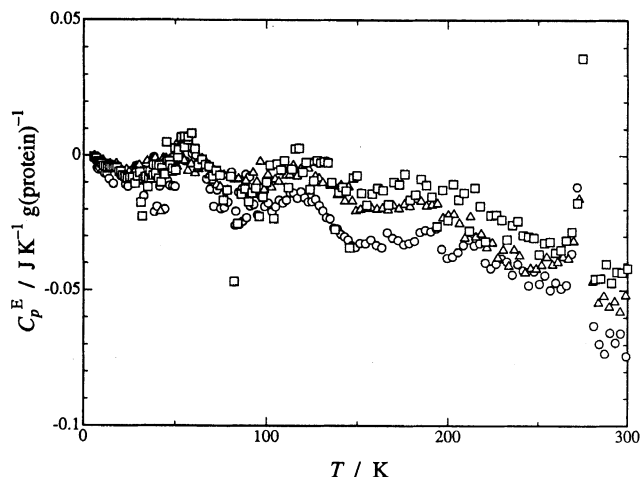


Fig. 2. Excess heat capacities per gram of cross-linked lipase crystal of cross-linked lipase crystals containing 59.3%(○), 22.7%(△), and 12.6%(□) of benzene.

につれて、ごくわずかながら過剰熱容量の値が減少しています。この結果もベンゼン分子がリパーゼ分子とほとんど相互作用していないことを示唆しています。

これらの結果については次のように解釈できます。リパーゼは球状蛋白質なので、分子の外側にはアミノ酸残基の多くの親水性（極性）部分が露出しています。ベンゼンは非極性分子ですから、リパーゼ分子とはほとんど相互作用し

ないという訳です。今後は極性溶媒であるジメチルスルホキシド（DMSO）との共存系について熱容量測定する予定です。

（菊池 響，宮崎裕司）

発表

宮崎裕司，日本化学会第 82 秋季年会（豊中），1B1-02 (2002).

Interaction between Protein and Organic Solvent I

—Low-Temperature Heat Capacity of

Cross-Linked Lipase Crystal- Benzene System —

Heat capacities of cross-linked lipase crystal - benzene systems were measured by adiabatic calorimetry. Heat capacity peaks were observed at 278.7, 278.8, and 279.4 K in the cross-linked lipase crystals containing 59.3, 22.7, and 12.6 % of benzene, which are due to fusion of benzene. No glass transition and no exothermic effect due to the crystallization of the supercooled solvent were found. The amount of the bound benzene was estimated to be (0.014 ± 0.001) g of benzene per gram of cross-linked lipase crystal. No bound benzene and no excess heat capacity in the cross-linked lipase crystal - benzene systems suggest that the interaction between the lipase and the benzene molecules is very weak.

(by K. Kikuchi & Y. Miyazaki)