

蛋白質結晶のガラス転移(1) —— 正方晶系リゾチーム結晶の低温熱容量 ——

私たち人間を含め、全ての生物において蛋白質は極めて重要な働きをしています。蛋白質はこれまでに非常に多くの人々によって研究されているにもかかわらず、いまだ謎に満ちた世界を私たちに提供し続けています。蛋白質の低温における熱的挙動もその中の1つと言えるでしょう。蛋白質溶液の研究はかなり行われていて、低温でガラス転移を生じることが明らかになっています。しかし、蛋白質結晶についてはそれほど多くは研究されていません。ところが最近になって、ミオグロビン結晶のメスbauer分光測定において、200 K以上でミオグロビン分子の平均二乗変位が急激に増加し、ガラス転移的挙動を示すことが報告されました (G. U. Nienhaus, *et al.*, *Nature* **338**, 665 (1989))。そこで私たちはガラス転移の研究に非常に有用な断熱型熱量計を用いて、蛋白質結晶の低温における熱的挙動を調べました。今回は正方晶系リゾチーム結晶の低温熱容量の研究について報告します。

試料は卵白リゾチームを NaCl を用いて結晶化させたものを使用しました。蛋白質と水との関わりを見るために含水量を変えた測定も行いました。測定した試料の含水量はそれぞれ、45.7%, 41.0%, 36.4%, 31.6%, 24.0%, 13.6%, 7.4%, 0% (乾燥) です。何れの試料も本研究

室既設の微量試料用断熱型熱量計を用いて、8 ~ 300 K の温度範囲で行いました。

図1に含水量45.7%, 13.6%, および乾燥試料の熱容量曲線を代表的に示します。45.7%, 41.0%, 36.4%, 31.6%, 24.0% 含水試料については220~270 K に水と NaCl による共融点や水の融解が観測されました。そして150 K 以上でガラス転移と思われる急激な熱容量の増加が見られました。さらに190~230 K の温度範囲で水の結晶化による発熱が観測されました。これらの試料について発熱の最も大きい 215 K (24.0% 試料は200 K) で発熱がなくなるまで約1日アニールし、140 K まで冷却して再び熱容量を測定したところ、熱容量自身は若干小さくなったものの、やはり150 K 以上で熱容量の増加が見られました。13.6%, 7.4% 試料については水と NaCl の共融点や水の融解・結晶化は観測されませんでしたが、それぞれ170 K, 200 K にガラス転移と思われる熱異常が見い出されました。しかし、乾燥試料については共融点や水の融解は勿論、含水試料のようなガラス転移的な熱異常は見られませんでした。

含水試料で観測された熱異常を明瞭にするため、図2に45.7%, 13.6%, 乾燥試料の熱容量の温度微分係数を示しました。急冷試料では150 K 以上で急激に温度微分係数が増大してい

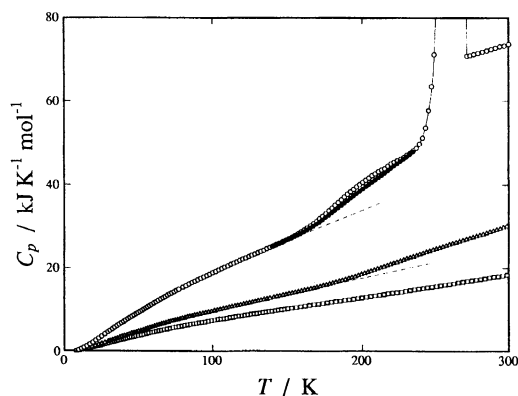


Fig.1 Heat capacities of tetragonal lysozyme crystals. ○: Sample of 45.7% water content, quenched. ●: The same, annealed at 235K for about 1 day. △: Sample of 13.6% water content. □: Dried sample.

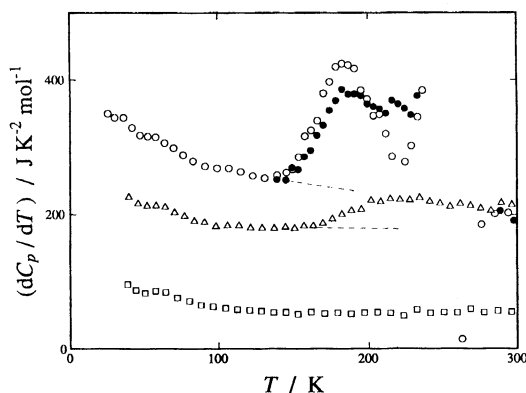


Fig.2 Differential coefficients of heat capacities of tetragonal lysozyme crystals with respect to temperature. ○: Sample of 45.7% water content, quenched. ●: The same, annealed at 235K for about 1 day. △: Sample of 13.6% water content. □: Dried sample. For the sake of clarity, data points for 45.7% and 13.6% water contents are shifted upwards by 100 JK⁻²mol⁻¹.

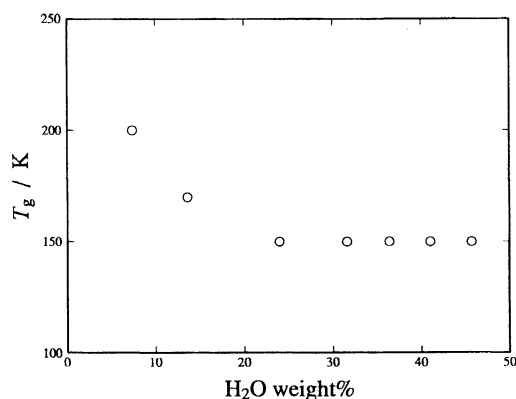


Fig.3 Water content dependence of the glass transition temperature in tetragonal lysozyme crystals.

るのがわかります。アニール試料でも急冷試料よりは小さいですが、やはり150K以上で温度微分係数が増大しています。乾燥試料では何の異常も見られません。

興味深いことに、ガラス転移温度が、ある含水量以下で高くなるという現象が見られました。このことは図3に示されています。含水量が24.0%以上ではガラス転移温度が約150 Kとほぼ一定ですが、それ以下では含水量が減少するにつれて、ガラス転移温度が高くなっていくことがわかります。

以上のことから次のようなことがわかりました。リゾチーム結晶には結晶化する水(自由水)と結晶化しない(結合水)の、少なくとも二種類の水が存在すると考えられます。急冷試料のアニールで150K以上の熱容量が小さくなったのは、速度論的理由から過冷却された自由水の

一部が結晶化したことによります。全ての水が結晶化しないのは、おそらくリゾチーム分子表面の残基とそのような水との間に水素結合のような強い相互作用を生じているためでしょう。また含水量が小さくなるにつれてガラス転移温度が高くなることから、蛋白質分子のコンホメーションの運動と結合水との間に何らかの強い相関があることがわかります。

このように、今回の研究によって蛋白質結晶の低温熱物性の一側面を垣間見ることができました。他の結晶についての研究を行うことにより、蛋白質結晶の低温での熱的挙動についてさらに詳しい知見が得られるでしょう。

参考文献

宮崎裕司, 松尾隆祐, 菅 宏, 第27回熱測定討論会(京都), 3103A (1991).