

蛋白質結晶のガラス転移(4)

—二次元結晶膜蛋白質バクテリオロドプシンの低温熱容量—

生物の体の大部分は水と蛋白質から成っており、生体内での機能の大部分は蛋白質が担っています。そして、その蛋白質の機能の発現に水が重要な役割を果たしていることは疑いようがありません。蛋白質は、その1次元的なつながりをもつ構造であるにも拘らず、天然状態ではある特異な立体構造をとり、それがその機能の発現に重要な役割を果たしています。しかし、蛋白質の機能の発現にはその蛋白質分子のもつ特異な立体構造ばかりではなく、振幅の大きいゆっくりとした分子運動も重要な役割を果たしていることがこれまでの研究で指摘されています。このことから蛋白質分子の運動状態を研究することは蛋白質の機能発現の機構、ひいては生命活動の本質を理解する上で非常に重要なことになるのではないのでしょうか。それに蛋白質の結晶状態での熱的研究は、X線や中性子などの構造的な研究と直接比較できる点でも有効だと言えます。バクテリオロドプシンは好塩性細菌の紫膜と呼ばれる細胞膜内に含まれる膜蛋白質で、膜内で規則的に並んで、二次元結晶を形成しています。そして光化学サイクルを行っています。この膜蛋白質に関して、最近の非弾性中性子散乱実験で球状蛋白質で観測されたのと同様、200 K 付近にガラス転移の挙動が見出されました。今回、私たちは球状蛋白質とはかなり立体構造の異なる膜蛋白質バクテリオロドプシンの低温熱容量測定を行い、その構造の違いがガラス転移などの熱的挙動にどのように反映されるか調べました。ここではその結果について述べたいと思います。

バクテリオロドプシンの熱容量測定は含水量がそれぞれ61.8%, 44.6%, 21.4%, 7.9%, 3.4%及び0%(乾燥)試料の結晶について行いました。各含水試料での含水量の決定には重量法を用いました。全ての試料は研究室既設の微量試料用断熱型熱量計を用いて含水量3.4%の試料では6~320 Kの温度範囲で、含水量3.4%以外の試料では6~300 Kの温度範囲で熱容量測定を行いました。

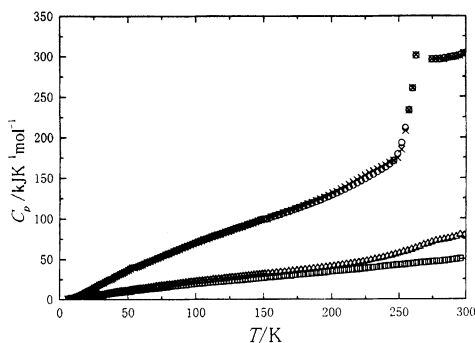


Fig.1 Molar heat capacities of bacteriorhodopsin. $\circ$ and $\times$, samples with 61.8 % water content annealed at 240 K for 2 days and quenched, respectively; $\triangle$, sample with 7.9 % water content; $\square$, dried sample.

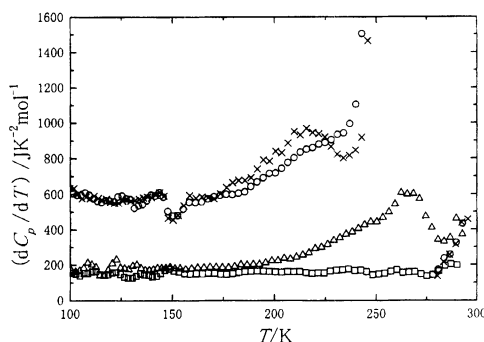


Fig.2 Differential of molar heat capacities of bacteriorhodopsin with respect to temperature. $\circ$ and $\times$, samples with 61.8 % water content annealed at 240 K for 2 days and quenched, respectively; $\triangle$, sample of 7.9 % of water; $\square$, dried sample.

Fig. 1 に含水量61.8%, 7.9%及び乾燥試料のバクテリオロドプシン 1 mol当りの熱容量曲線を、Fig. 2 にその温度微分係数を示します。

含水量が21.4%以上の急冷試料では、170 K付近になだらかなガラス転移が観測され、215 K以上では過冷却した水の結晶化によるものと思われる発熱が生じました。また、図には示していませんが、含水量61.8%の試料では272.8 Kで氷の融解が観測されました。含水量44.6%および21.4%の試料でも同様にそれぞれ272.0 Kおよび264.5 Kで氷の融解が観測されました。これらの試料を240 Kで発熱がなくなるまでのアニールしてから再び冷却すると、熱容量のジャンプは小さくなったものの、急冷試料とほぼ同じ170 K付近でガラス転移が観測されました。含水量7.9%および3.4%の試料では氷の融解は観測されず、それぞれ210 Kおよび290 K付近でガラス転移が観測されました。乾燥試料では熱異常は何ら観測されませんでした。

含水量21.4%以上の試料で求められた氷の融解エンタルピーから束縛水の量を見積もりますと、バクテリオロドプシン 1 g 当り約0.16 g となりました。これは球状蛋白質 1 g 当りの束縛水量0.3~0.5 g に比べてかなり小さな値となっています。このことはバクテリオロドプシンの球状蛋白質と異なる水和構造を反映しているように思われます。結晶水の融解エンタルピーの値と過冷却した結晶水の結晶化による発熱が生じたことから、バクテリオロドプシン結晶にも以前に測定した球状蛋白質と同じく、すぐに結晶化する水とゆっくり結晶化する水(自由水)、および結晶化しない水(結合水)の少なくとも3種類の水が存在することが分かります。

含水試料で見られたガラス転移が乾燥試料では起こらなかったことから、含水試料のガラス転移がバクテリオロドプシン分子だけの運動の凍結現象ではないことが示唆されます。ここで各含水量でのガラス転移温度を Fig. 3 に示します。ガラス転移温度の束縛水量依存性が可

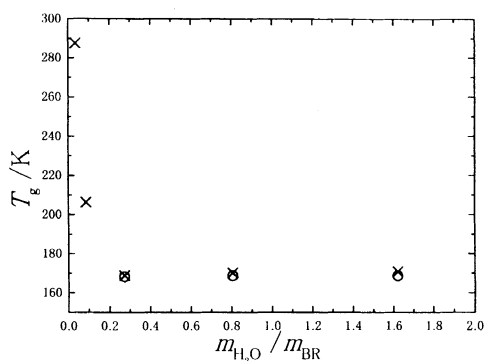


Fig.3 Water content dependence of the glass transition temperature in bacteriorhodopsin. ○ and ×, samples annealed at 240 K for 2 days and quenched, respectively.

塑効果を示していることから、バクテリオロドプシンのガラス転移はバクテリオロドプシン分子と束縛水分子との協同的な運動の凍結現象であることが結論されます。

今回の研究結果は、これまで球状蛋白質間で見られなかった熱的挙動の立体構造による違いを如実に反映しています。蛋白質の立体構造と分子運動との関係について、さらに理解が深まるものと期待されます。

(清水由隆)

参考文献

- 清水由隆, 宮崎裕司, 上久保裕生, 片岡幹男, 徂徠道夫, 第36回日本生物物理学会(福岡), 2C1300(1998)
 清水由隆, 宮崎裕司, 上久保裕生, 片岡幹男, 徂徠道夫, 第34回熱測定討論会(横浜), 2A1120(1998)