

リパーゼ-水系の低温熱容量とガラス転移

生体高分子である蛋白質は生命や生体活動に必要不可欠な物質です。生体作用の鍵をにぎるのは、生体反応の触媒となる酵素であり、これは代表的な球状蛋白質です。本研究で用いたエステラーゼの一種であるリパーゼは、動物の胃液・脾液・腸液・血清などに見出される酵素で、動物の体内において中性脂肪（グリセロールエステル）を加水分解して、脂肪酸とグリセロールに分解する反応を可逆的に触媒する機能を持ちます (Fig. 1)。

生物の体の大部分は水と蛋白質から成り立っています。リパーゼなどの蛋白質分子は巨大な分子であり、生体中での形状は水などの水素結合溶媒に対するアミノ酸残基の親和性・疎水性の大小や置換基の立体効果、さらにまわりのアミノ酸残基の複雑な相互作用によって各々特異な立体構造をもっています。この特異な立体構造や蛋白質分子自身の振幅の大きいゆっくりとした分子運動は、蛋白質分子が生体中でその機能を発現するための重要な役割を果たしています。また、この特異な立体構造を形成し、維持するために必要不可欠な生体中の溶媒である水分子との相互作用を理解することは蛋白質の機能発現の機構、さらには生命活動の本質を理解する上でとても重要であると考えられます。

前のレポートでグルタルアルデヒド架橋リパーゼ結晶-水系の低温挙動について紹介しました。今回私たちは架橋されていないリパーゼと水系の低温熱容量測定を行い、その低温挙動の含水量依存性を調べました。また架橋リパーゼ結晶-水系の測定結果と比較し、架橋の低温挙動への影響について調べました。ここではその結

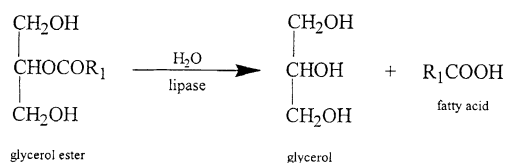


Fig. 1. Hydrolysis reaction of glycerol ester with lipase catalyst.

果について述べます。

リパーゼ乾燥試料（含水量 0%）及び含水量が重量パーセントで 58.2%, 35.4%, 15.5%, 8.7%, 5.8% の試料について熱容量測定を行いました。含水量は重量法を用いて決定し、測定は本研究室既設の微量試料用断熱型熱量計を用いて、5.8% 含水試料は 7~320 K の温度範囲で、その他の試料は 7~300 K の温度範囲で行いました。

Fig. 2 に含水量 58.2, 35.4% 試料の熱容量曲線を、Fig. 3 に乾燥試料、含水量 15.5, 8.7 及び 5.8% 試料の熱容量曲線を、Fig. 4 に 58.2, 35.4, 15.5, 8.7, 5.7% 含水及び乾燥試料の熱容量の温度微分係数を示します。含水量 58.2, 35.4% の試料については 150 K 付近にガラス転移が観測され、さらに急冷試料では 200 K 以上のところで過冷却した水の結晶化によると思われる発熱が観測されました。また 270 K 付近に氷の融解によるピークが観測されました。アニール試料でもガラス転移が観測されました。含水量 5.8, 8.7, 15.5% の試料ではガラス転移が低濃度になるにつれ高温側にシフトする現象が観測されました。このような傾向を可塑効果と呼びますが、ガラス転移がリパーゼ分子と束縛水分子との協同的運動の凍結現象であること

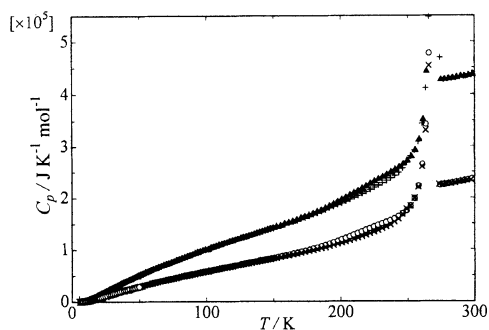


Fig. 2. Molar heat capacities of lipase-water systems. \blacktriangle and $+$, samples with 58.2 % water content quenched and annealed at 240 K for 1 day, respectively; \circ and \times , samples with 35.4 % water content quenched and annealed, respectively.

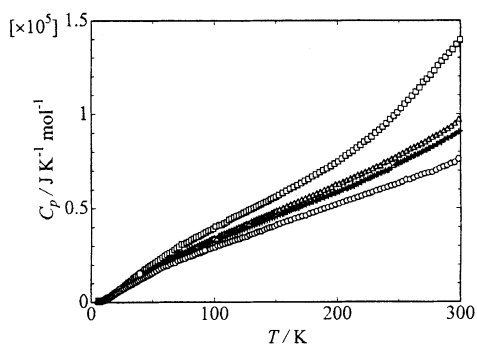


Fig. 3. Molar heat capacities of lipase-water systems. \square , \triangle , $+$ and \circ , samples with 15.5, 8.7, 5.8 and 0 % water content, respectively.

を示唆していると考えられます。氷の融解は見られませんでした。乾燥試料については何ら熱異常は見られませんでした。含水量 58.2%と 35.4%の氷の融解エンタルピーからリパーゼの束縛水量をリパーゼ 1 g 当り 0.29~0.30 g と求めました。この値は球状蛋白質 1 g 当りの束縛水量 0.3~0.5 g とよく一致しました。また今回の値と架橋リパーゼ結晶の束縛水量 0.27 g を比較すると、架橋されていないリパーゼのほうが若干束縛水量が多く、この差は水分子が水素結合できるリパーゼ分子の親水性基に架橋剤の

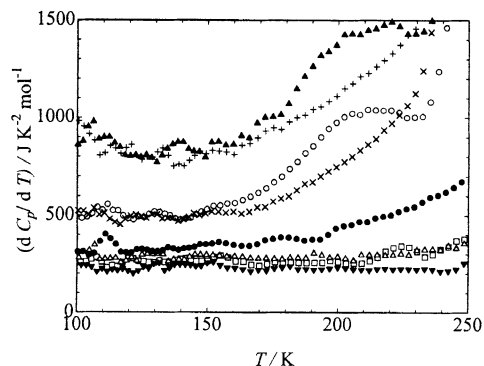


Fig. 4. Derivative coefficients of molar heat capacities of lipase-water systems with respect to temperature. \blacktriangle and $+$, samples with 58.2 % water content quenched and annealed at 240 K for 1 day, respectively; \circ and \times , samples with 35.4 % water content quenched and annealed, respectively; \bullet , \triangle , \square and \blacktriangledown , samples with 15.5, 8.7, 5.8 and 0 % water content, respectively.

グルタルアルデヒドが結合することによって束縛水量が減少したためと考えられます。

(菊池響, 宮崎裕司)

発表

菊池響, 清水由隆, 宮崎裕司, 徂徠道夫 第 36 回熱測定討論会 (東大阪), P19 (2000)

Low-Temperature Heat Capacities and Glass Transitions of Lipase-Water Systems

The heat capacities of lipase-water systems with water content of 58.2, 34.5, 15.5, 8.7, 5.8 and 0 % were measured. The samples contained 58.2 and 35.4 % of water showed a broad glass transition around 150 K and melting of ice around 270 K, while the samples containing 15.5, 8.7, and 5.8 % of water showed only a broad glass transition. The fully dried lipase did not show any thermal anomalies. From the enthalpy of melting of ice, the amount of the bound water was determined to be 0.29~0.30 g water / g protein.

(by K. Kikuchi & Y. Miyazaki)