

免疫グロブリン G-水系の低温熱容量測定からみる 免疫グロブリン G のダイナミクス II

蛋白質は生体内で水やイオン等とともに多成分系を成し、その機能を発現しています。蛋白質の機能は、生体の構造形成、酵素反応、物質の輸送・貯蔵、免疫など多岐に及んでおり、生物が生きる上で非常に重要です。蛋白質がこれらの機能を発現するためには様々な要素が必要となりますが、特に水は機能発現に必要不可欠で、蛋白質の構造決定や生体反応の場とも関わりがあるので、水と蛋白質をセットで研究することは当然のことでしょう。蛋白質が水和する水、水和水の存在下でその柔軟性を増すことは、過去の研究紹介で述べた通りです。水和水による蛋白質の可塑化はすなわち蛋白質の運動を誘起することに繋がります。誘電緩和などの分光的研究によって蛋白質の特定のダイナミクスは検知できるのですが、熱測定で検知することは、ほぼすべての運動を検知してしまう熱測定の性質上、大変困難であるとされてきました。しかしわたしたちは、免疫グロブリン G (以下 IgG, Fig. 1) のちょうつがい運動を物理的に制限することで、熱測定でも検知できるのではないかと考えました。本研究で扱う Fab-Fc は、IgG のちょうつがい部をパパインと呼ばれる蛋白質分解酵素によって選択的に加水分解した 2 つの Fab 部と 1 つの Fc 部の混合物です。本研究でわたしたちは、ちょうつがい部が加水分解され、ちょうつがい運動が物理的に行えない Fab-Fc と、No. 33 の研究紹介 5 で発表した IgG との熱容量とを比較し、ちょうつがい運動が熱容量に与える寄与を調べました。

Fab-Fc は No. 33 の研究紹介 5 で用いた IgG をパパインで分解したものを使用しました。Fab-Fc-水系の濃度は溶質%で 5, 10, 20, 50, 90, 95 %と調製し、研究室既設の断熱型ミクロカロリーメーターで熱容量を測定しました。

測定から得られた熱容量から、純水と乾燥試料の熱容量を差し引いた過剰熱容量 C_p^E を計算し、IgG の過剰熱容量から差し引いた過剰熱容量差 ΔC_p^E ($= C_p^{E^\circ} \text{IgG} - C_p^{E^\circ} \text{Fab-Fc}$) を求めました (Fig. 2)。90, 95 %の高濃度では、水和水が飽和していないため、濃度による過剰熱容量差に違いが出ています。一方 20, 50 %の水和水が飽和している濃度では、濃度による過剰熱容量差に違いが見られません。また、20, 50 %と 90, 95 %を比較すると、150 K から 200 K にかけて IgG には余分な熱容量の寄与があることが観測されました。また、IgG と Fab-Fc の濃度毎の水和水量を比較すると、低濃度では Fab-Fc の水和水量が少ないことが分かります (Fig. 3)。しかし、両者のガラス転移温度 T_g はほぼ同じになっています。一方、高濃度側は水和水量がほぼ等価であるにもかかわらず、 T_g は Fab-Fc の方が低くなっています。

以上の結果から、わたしたちは IgG のダイナミクス・水和状態について次のように解釈できます。十分な量の自由水が存在する低濃度領域では、IgG のちょうつがい部分に余分な水和水が存在するので、150 – 270 K の温度領域では IgG は Fab-Fc よりも大きな過剰熱容量を示します。ところが、Fab-Fc ではちょうつがい部分のペプチド鎖が切断されたことにより、このペプチド鎖が IgG のちょうつがい部分のペプチド鎖よりも運動しやすくなるため、結果としてちょうつがい運動が実際に観測される室温付近では IgG の過剰熱容量は Fab-Fc のよりむしろ小さくなります。一方、自由水の存在しない高濃度領域では、室温付近で IgG のちょうつがい運動はできなくなりますが、Fab-Fc の切断されたちょうつがい部分のペプチド鎖は比較的運動できるので、Fab-Fc の過剰熱容量の方が IgG のよりかはるかに大きくなります。

(東 信晃, 宮崎裕司)

発表

東 信晃, 宮崎裕司, 稲葉 章, 第 49 回熱測定討論会 (習志野), 3A1440 (2013).

東 信晃, 宮崎裕司, 稲葉 章, 第 94 回春季年会 (名古屋), 1G5-12 (2014).

N. Azuma, Y. Miyazaki, and A. Inaba, the International Conference on Chemical Thermodynamics and the South African Institution of Chemical Engineers National Conference (ICCT/SAIChE 2014) (Durban, South Africa), oral (2014).

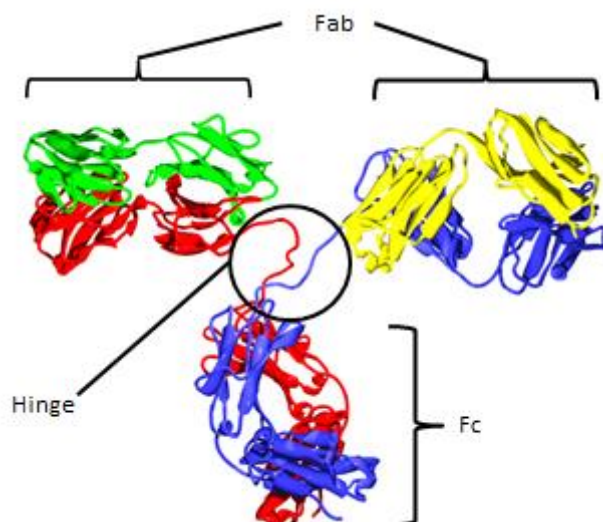


Fig. 1. Molecular structure of IgG and its components, two Fab's and Fc.

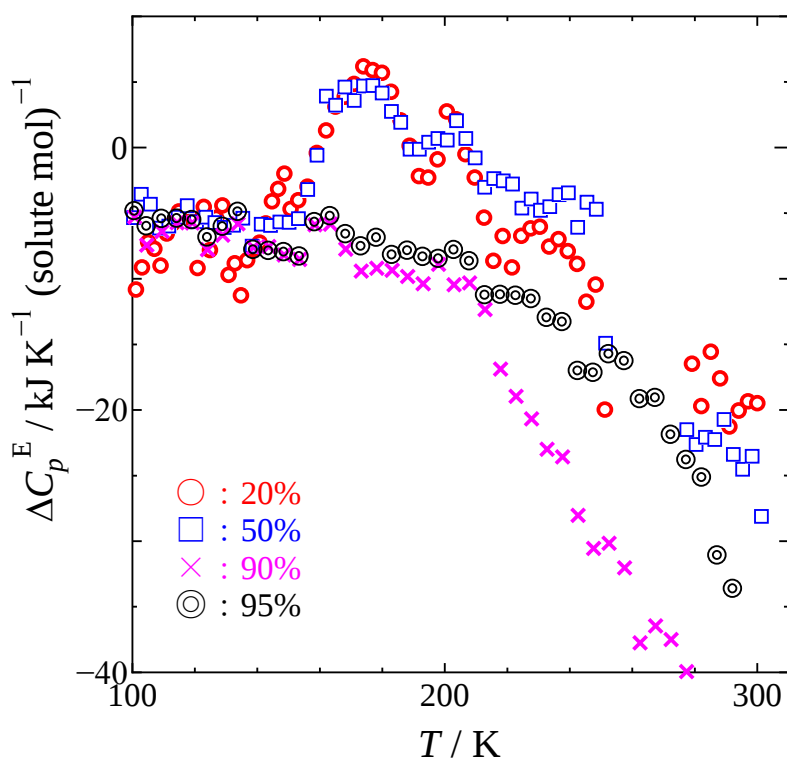


Fig. 2. Difference of excess heat capacity between hydrated IgG and Fab-Fc ($\Delta C_p^E = C_p^{E^\circ} \text{IgG} - C_p^{E^\circ} \text{Fab-Fc}$) at concentrations of 20 % (○), 50 % (□), 90 % (×), and 95 % (⊙).

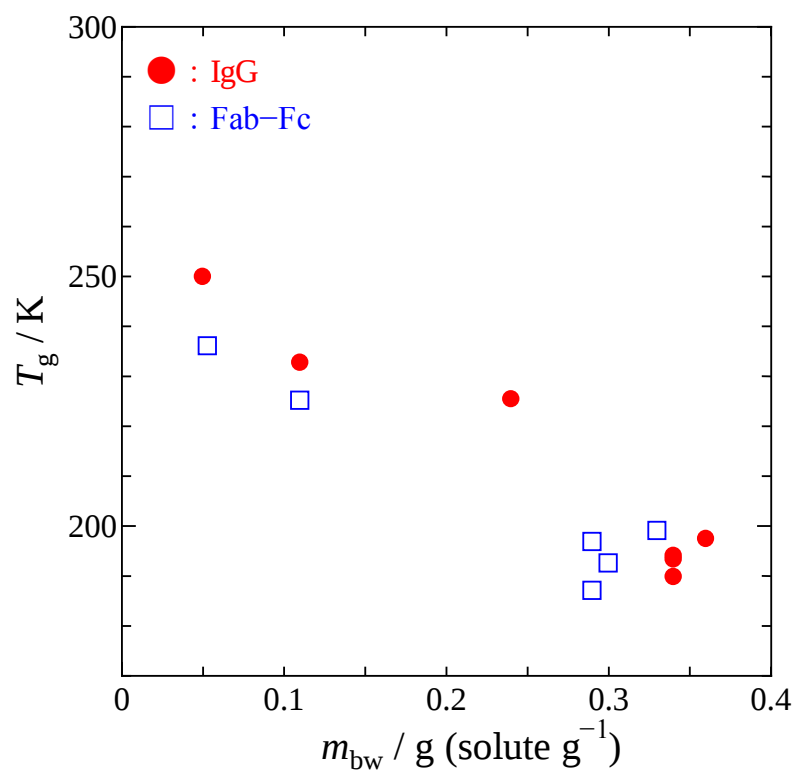


Fig. 3. Glass transition temperature of IgG (●) and Fab-Fc (□) with respect to the amount of hydrated water.