

Title	混み合った系におけるタンパク質の挙動
Author(s)	今村, 誠
Citation	
Issue Date	2005-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/3168
Rights	
Description	Supervisor:高木 昌宏, 材料科学研究科, 修士

【目的】

これまで、タンパク質の挙動の解析は、生体内とはかけ離れた希薄な系で行われてきた。しかし、タンパク質が実際に機能している生体内は、タンパク質や糖、脂質などの生体高分子が高度に混み合った環境である。従って、混み合った環境でタンパク質の挙動を解析することは、生体内でのタンパク質本来の挙動を理解するだけでなく、これまでの希薄な環境における実験での挙動と生体内での挙動の違いを理解することにも役立つと考えられる。そこで本研究では、熱力学的解析が可能なリボヌクレアーゼ A をモデルタンパク質として、混み合った環境がタンパク質の熱安定性に与える影響を分光学的に解析することを目的とした。

【実験】

混み合った環境を作る分子(crowder)として、静電的相互作用が少なく、異なる分子量のものが市販されているデキストラン(MW ; 10,000, 43,000, 144,000)を使用した。モデルタンパク質としてリボヌクレアーゼ A を用いて、各デキストラン分子量における、デキストラン濃度(0-300 mg/mL)に対してリボヌクレアーゼ A の熱変性曲線を作成した。得られた熱変性曲線によって、変性温度(T_m)とエンタルピー変化(ΔH)を算出し

【結果と考察】

遠紫外 CD スペクトルから、デキストランがリボヌクレ

T_m を示したグラフである。変性温度は、crowder 濃度の増加に伴って高くなったが、エンタルピー変化は crowder 濃度に依存しなかった。二状態転移に従うタンパク質の熱安定性は、ネイティブ状態と変性状態の自由エネルギーの差に依存する。従って、ネイティブ状態を安定化するか、変性状態を不安定化すれば、自由エネルギーの差が大きくなり、タンパク質の熱安定性が上昇する。本実験において、crowder によって熱安定性が上昇しているが、エンタルピー変化には依存していないことから、混み合った環境が変性状態の自由度を制限し、エントロピーを減少させることによって、タンパク質の熱安定性が上昇したと考えられる。また、分子量の小さい crowder の方が、変性温度の上昇が大きかった。これは、crowder 分子間の立体障害による混み合い方の違いによるものと考えられた。

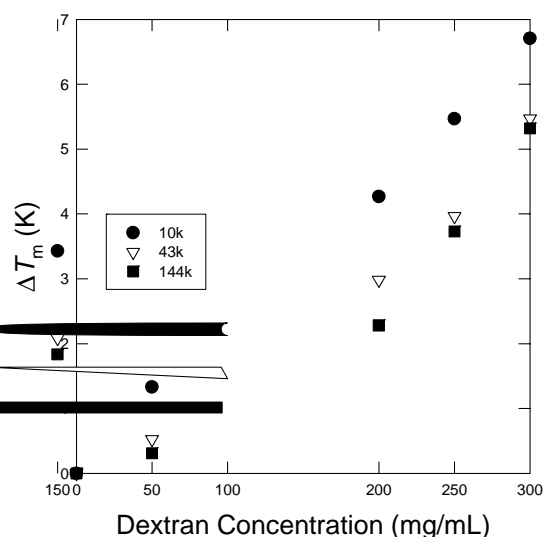


図 1 デキストラン濃度がリボヌクレアーゼ A の熱安定性に与える影響