

# タンパク質の折りたたみを工学にする

Protein-Folding Engineering

関西学院大学 理工学部 物理学科

教授 瀬川 新一

# バイオ工学とは

産総研が調査したライフサイエンス分野の市場の将来性

抗体医薬生産、遺伝子組み換え医薬品生産、組換え植物

分離・精製技術、品質管理技術

タンパク質高機能化技術、生分解性材料開発、機能性食品開発

医療機器開発の促進、医療機器の評価基盤

研究支援の試料: 遺伝子の合成、ペプチド合成、ラベルしたタンパク質のセルフリー合成など

研究支援の機器の開発: 質量分析計、NMR分光器. . . . . HPLCカラムなど

生物情報データベースにもとづくコンピュータ支援ツール

ナノテクノロジーを融合した先端的計測・解析システムの開発

チップテクノロジー: RNA, DNA、タンパク質の高密度集積チップ

分析技術のマイクロチップ化

関学の場合

オープン・リサーチ・センター

「生体分子システムの物理科学研究センター」

生体分子試料: ペプチド、タンパク質化学の専門家、脂質分子集合体の研究者

物理計測の専門家(レーザー物理計測、X線回折、電子線回折、NMR分光)

情報科学: 生物情報データベースに基づいたタンパク質の構造予測

研究テーマ: タンパク質の折りたたみ、脂質膜の構造と物性、生分解性高分子

## 私の場合

# Protein-Folding Engineering とは

Protein Engineeringの当初の目標はアミノ酸置換による機能改変であった。現在はタンパク質の折りたたみ過程を制御することも重要なengineeringである。

タンパク質の折りたたみ過程を1つの物理現象として研究してきたが、その成果は新技術としていろいろな分野で活用可能である。

発現したタンパク質はランダムコイル →

凝集体形成などを回避して正しく折りたたむ、良質の結晶を作る、天然型S-S結合の選択的形成、**溶媒、溶媒添加物など実験条件を探る。**

アミノ酸置換によるタンパク質のデザイン → アミロイド化をさける、溶解度を上げる

計算機支援タンパク科学と実験の共同作業 → ゲノム情報からタンパク質の構造予測

# 基礎研究を支援する計測器

基礎研究分野からの要望に応える → 画期的測定技術の進歩を促した

タンパク質の物理化学的性質を検出する測定器の新技术開発（百花繚乱の状況）

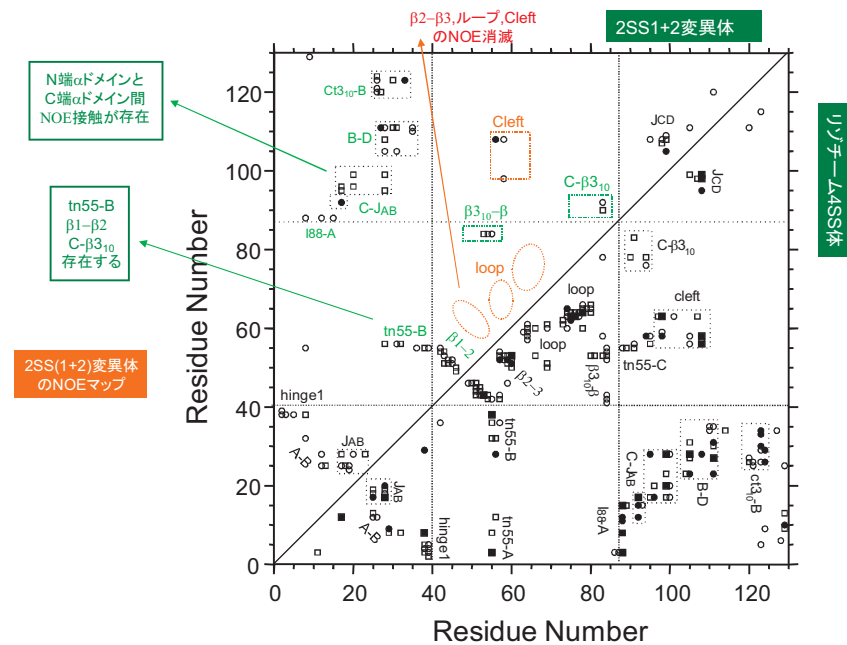
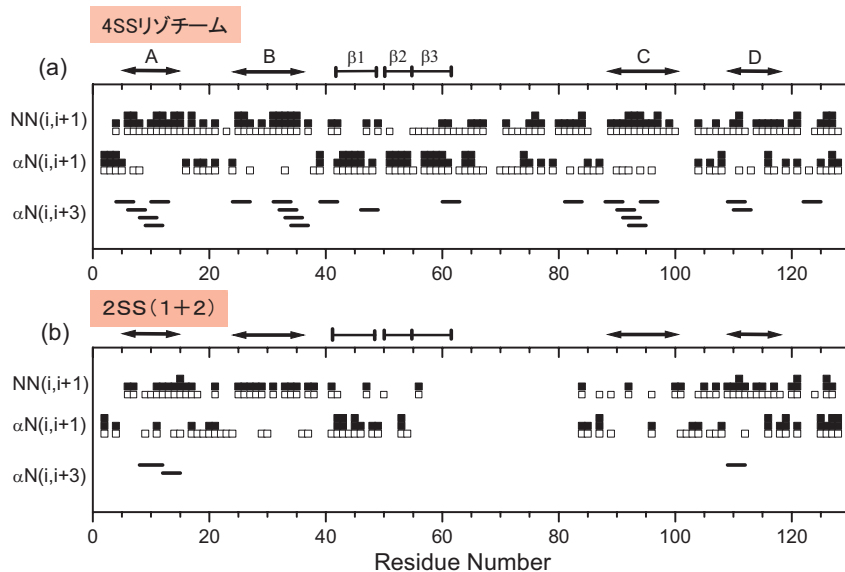
1970年代後半から大きな発展があった。  
さらに今後も大きな進展が期待される。

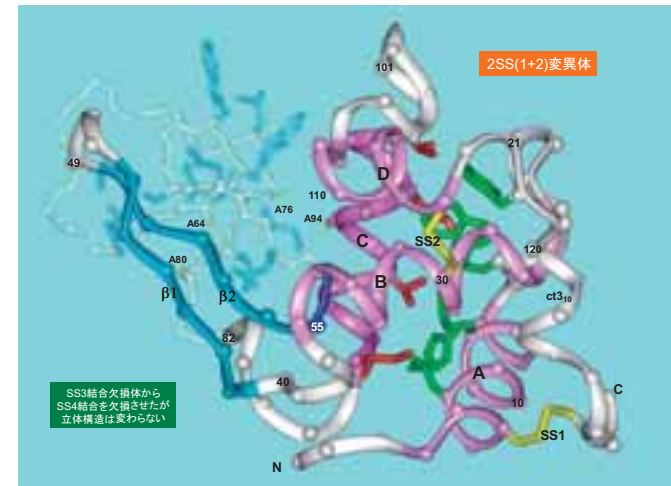
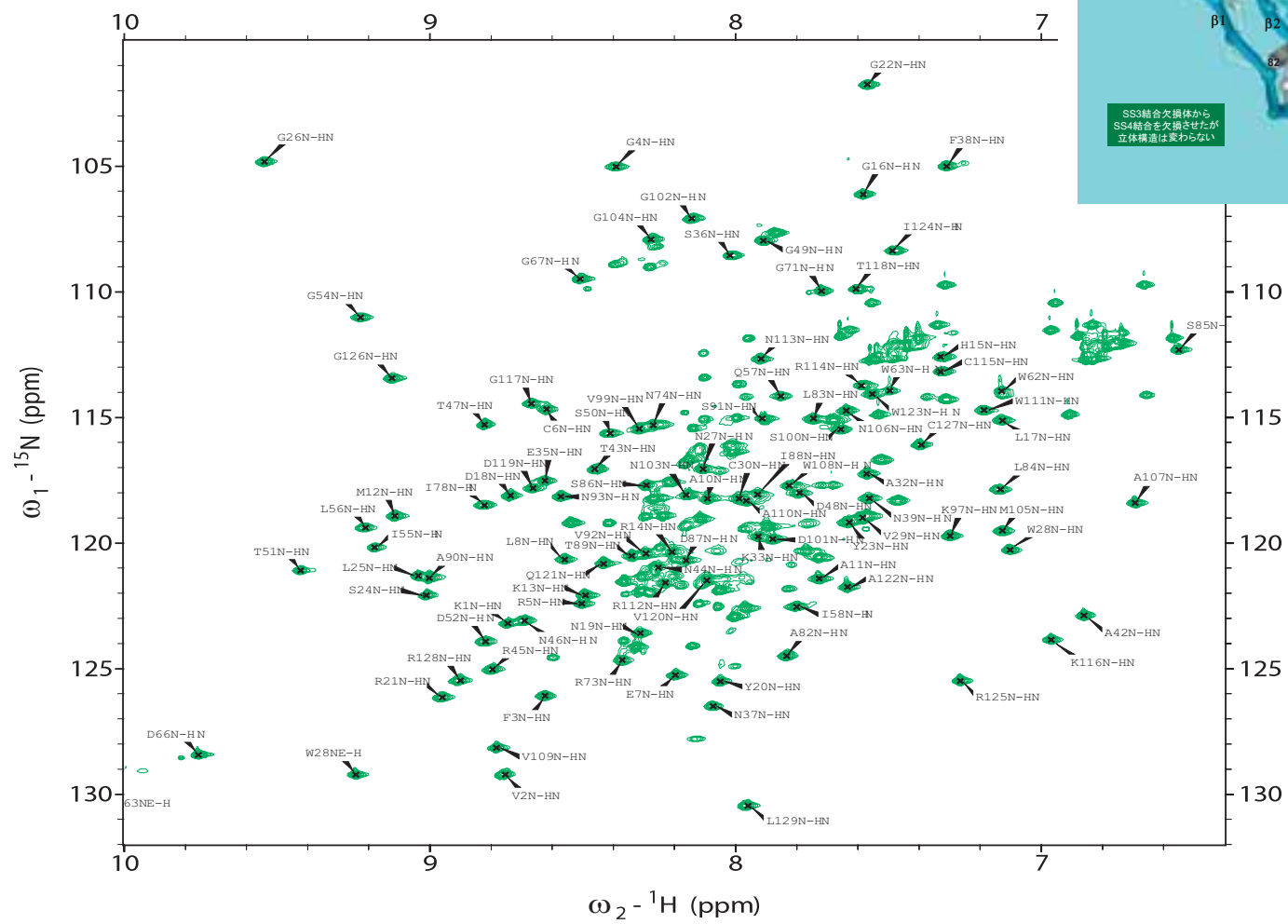
各種の分光器、電気泳動、HPLC、質量分析、熱測定、分析超遠心、  
動的光散乱、NMR、分析超遠心、1分子観測技術（蛍光、AFM, 電顕）など  
計算機科学、生物情報科学の分野  
CG、分子動力学計算、データベース解析プログラムなど

# NMR分光法でタンパク質の折りたたみ過程を観測する

すでに確立された方法： タンパク質の立体構造を決定する

- 1) NMRスペクトル(HSQC)のピークを各アミノ酸残基に帰属する
- 2) アミノ酸残基間の距離情報を集める(NOESY)
- 3) タンパク質の2次構造( $\alpha$ ヘリックス、 $\beta$ ストランド)の部分を決める
- 4) ポリペプチド鎖を折りたたんで、距離が近い残基対を近接させる





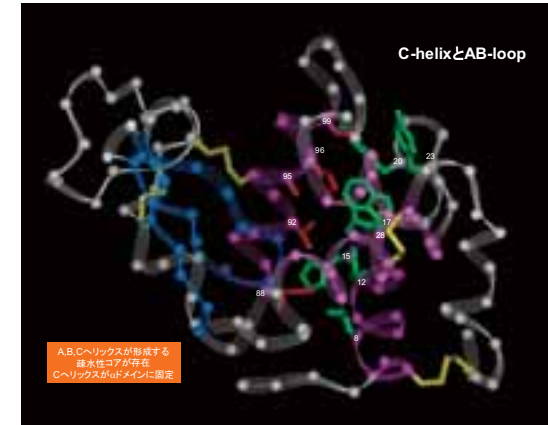
# 立体構造を失ったタンパク質の構造情報を集める

1) かりうじて立体構造を保持している

S-S結合欠損リゾチーム変異体:

天然構造: 4SS体、 3SS変異体、 2SS(1+2)変異体

NOESYスペクトルの距離情報が観測できる。



2) ほぼランダムコイル状の高分子鎖: 2SS(2+3), 2SS(1+3), 1SS変異体

水溶液中ではピーク帰属が困難、NOESY距離情報がえられない。

完全なランダムコイルにすればスペクトルの帰属は可能だが、  
折りたたみ初期構造の情報は失われる。

解決策: 重水素(H/D)交換反応速度を指標として構造情報を集める

重水素ラベルされた主鎖NHのNMRスペクトルをDMSO中で測定

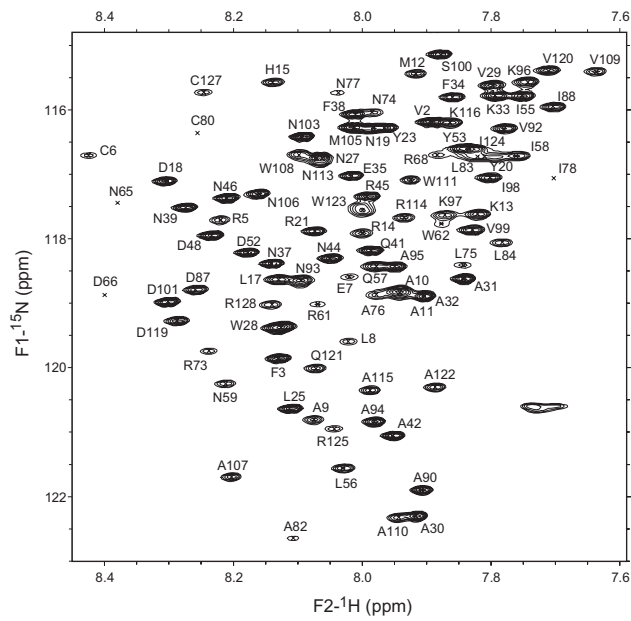


# ランダムコイル鎖内の側鎖間疎水性相互作用を強化する グリセロール添加の効果: 非特異的相互作用

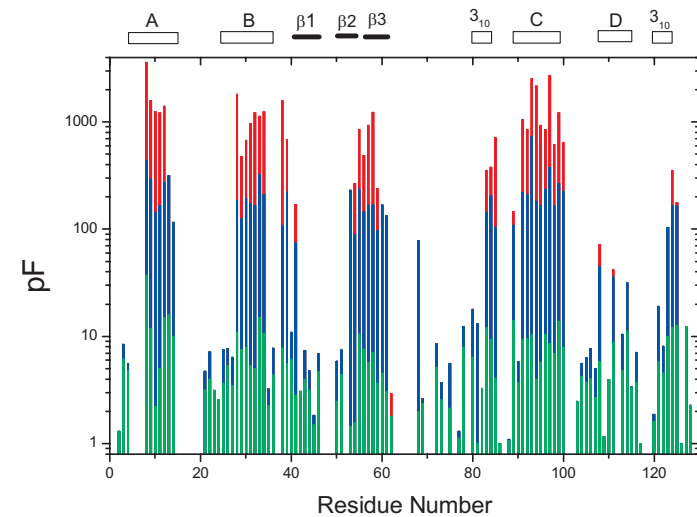
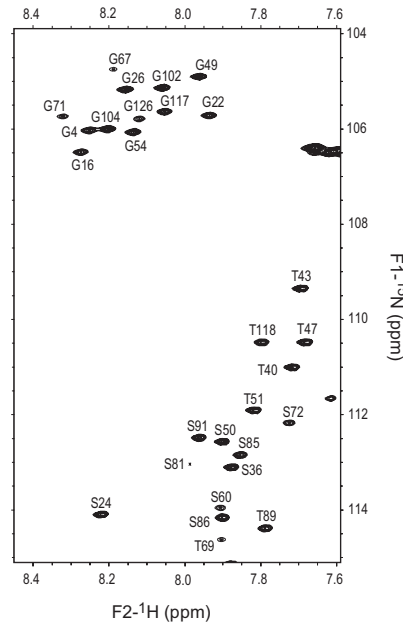
特定部位の構造形成が始まる: その最初の部位は?

H/D交換NMR分光法で構造解析する

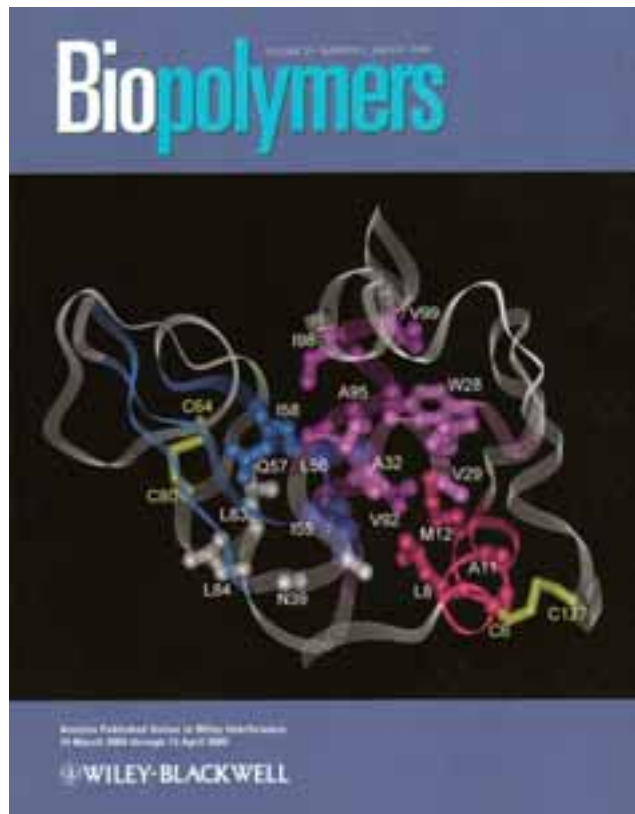
DMSO中で測定されたHSQCスペクトル



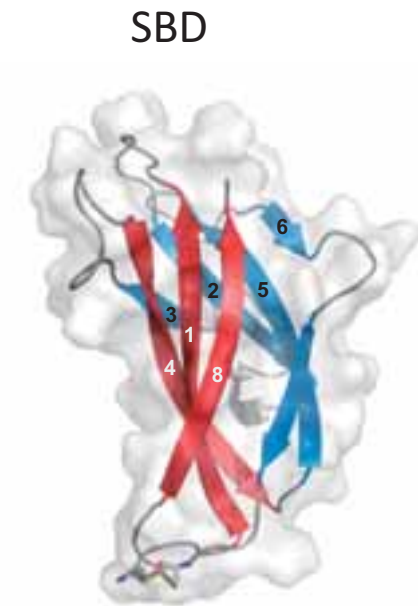
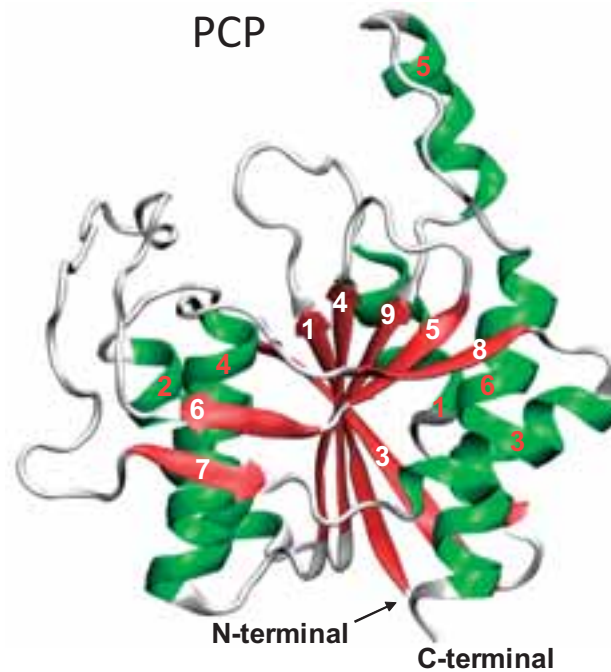
H/D交換反応のグリセロール濃度依存



リゾチームの折りたたみは $\alpha$ 、 $\beta$ ドメイン間の境界領域で開始する



その他のタンパク質の折りたたみ反応経路



連絡先:

- 瀬川 新一
- 〒669-1337 三田市学園2-1
- 関西学院大学・理工学部・物理学科
- [Tel: 079-565-8482](tel:079-565-8482)
- E-mail: shsegawa@kwansei.ac.jp