

ソフトマターを対象とした液体論的マルチスケール解析手法の開発とその応用

豊橋技術科学大学・助教 墨 智成

本研究課題では、無限希釈高分子溶液に対する液体の密度汎関数理論(DFT)に基づくマルチスケールシミュレーションの、蛋白質変性に関する分子論的メカニズムの解析および、本手法の有限希釈および濃厚高分子系への拡張とブロック共重合体等のメゾスケール構造形成に関する分子論的解析への適用などが主な研究テーマである。本年度は、前者について集中的に研究を行った。特に、水の水素結合ネットワークによる寄与(4°C密度極大や液-液転移等)を考慮出来る様にするために、溶媒として水の分子モデルを扱える様に拡張した。具体的な研究テーマとしては、(1)温度および圧力による蛋白質の変性機構の解析、(2)オスモライト(浸透圧調節物質)系変性剤による蛋白質の変性機構の解析の二つについて研究を行った。

1. 温度・圧力による蛋白質の変性機構

温度-圧力面上での蛋白質の変性における熱力学的変化は、Hawley が提案した楕円型相図モデル(図 1)によって、定性的に理解する事が出来る[1]。しかしながら、これらの熱力学的変化を説明する分子論的機構に関する理解は十分とは言えない。本研究の目的は、温度および圧力変化に伴う蛋白質の変性における水和自由エネルギー面の変化を解析する事により、コンパクトな天然構造の安定化およびグロビュール-コイル(G-C)転移によって出現する変性構造の安定化における水の本質的役割を明らかにする事である。

その第一歩として、凝集性液体の普遍的な性質(表面張力や気-液相転移等)に着目した Lennard-Jones(LJ)溶媒を水の粗視化分子モデルとして採用した。また、蛋白質の水和自由エネルギー面の定性的変化を調べるためのプローブ分子として疎水性高分子モデルを導入し、DFT に基づくマルチスケールシミュレーション解析を行った。その結果、高温・低圧領域(相図右下)での蛋白質の変性は、蒸気圧曲線に近づく際に、蛋白質の表面によって誘起される水の dewetting に起因した G-C 転移として説明出来る事が示された(変性に伴う $\Delta V > 0$ は dewetting に起因する)。これらの結果から、楕円型相図が提案されて以来[1]、ほとんど議論される事のなかった低圧領域での変性の相図は、蒸気圧曲線近傍において、変性領域が存在する形へと修正される可能性が示唆される。現在、室温を含む広い温度領域での大気圧から蒸気圧への減圧過程において、dewetting に起因した変性状態が出現する可能性を、愛知教育大学の実験グル

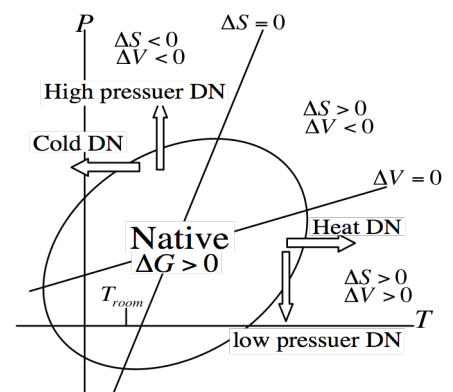


図 1 蛋白質変性に関する楕円型相図

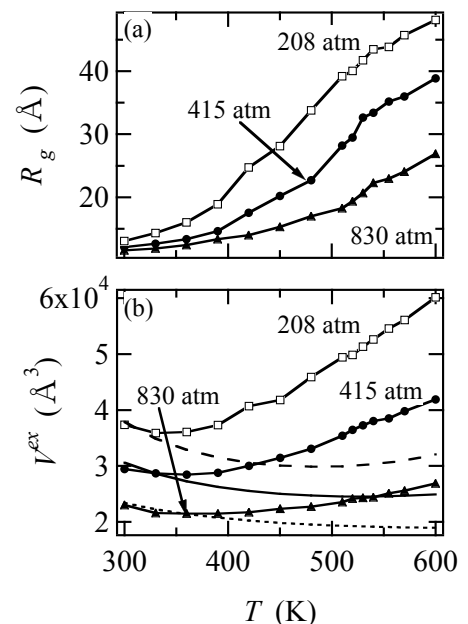


図 2 等圧線に沿った(a)慣性半径の温度依存性、(b)過剰部分モル体積 V^{ex} の温度依存性。破線、実線、点線はそれぞれの圧力下において、高分子鎖がコンパクトなグロビュール構造を保った場合の V^{ex} 。G-C 転移による体積変化は正 ($\Delta V > 0$) である。

ープと連携して検証を進めている。

一方で、低温・高圧領域(相図左上)における高圧および低温変性に対応した G-C 転移は、この LJ 溶媒モデルでは再現出来なかった。この結果から、低温・高圧領域での蛋白質の変性には、LJ 溶媒モデルでは考慮されていない水の水素結合ネットワークに起因した疎水性相互作用の重要性が示唆される。しかしながら、全原子型モデルによる分子シミュレーションによってさえも、その

再現に成功したとの報告はまだなく、高圧および低温変性メカニズムは未解明のままである。我々は、水分子間の水素結合ネットワークによる寄与を考慮するために、水の分子モデル TIP4P/2005 を溶媒として採用した疎水性高分子鎖のマルチスケールシミュレーション解析を行った。計算に必要な水の構造因子 $S(k)$ は、分子動力学法および積分方程式を組み合わせで正確に決定した。シミュレーションにより得られた室温(300K)での疎水性高分子鎖の R_g の圧力依存性を図 3 に示す。3000atm 以上の加圧において R_g は増加しはじめ、G-C 転移が観測される。G-C 転移に伴う体積減少 $\Delta V < 0$ は、タンパク質内部の空孔へ水が浸透する従来の局所的描像とは異なる新たな物理描像“タンパク質表面による水素結合ネットワークの切断によって誘起される高密度界面水和層の形成”に起因する事を見いだした。

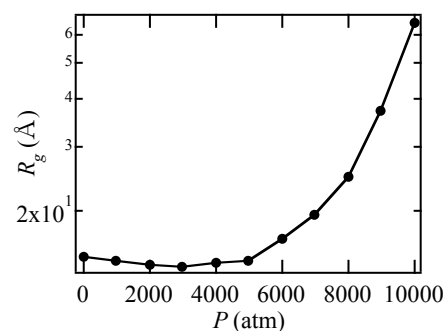


図 3 慣性半径 R_g の圧力依存性(300K)

2. オスモライト系変性剤による蛋白質の変性機構

これらの研究から、温度-圧力面上での蛋白質変性に関する分子機構については、次第に明らかになってきたわけだが、ここで再認識しなければ成らないのは、蛋白質のコンパクトな天然構造を維持するために必要不可欠な水の基本的性質は、凝集性液体としての普遍的性質に起因しており、蛋白質-水界面における界面自由エネルギーが、溶媒和自由エネルギー面を特徴付けていると言う点である。この描像を出発点にすれば、これまで様々な観点から議論されてきたオスモライトによる変性効果(尿素等)や安定効果(糖類等)を、オスモライトの添加による界面自由エネルギーの変化およびオスモライトの蛋白質への過剰吸着(選択的溶媒和)との関係、すなわちギブスの吸着等温式に注目して、総合的に解釈し直す事が出来る。蛋白質への添加物の吸着量に影響を及ぼす主要要素としては、蛋白質と添加物との直接的相互作用の強さと添加物の水への親和性(親水性)が考えられる。これらを定性的に記述するために、本研究では二成分 LJ 溶液をオスモライト水溶液のモデルとして採用した。そして、添加物による蛋白質の溶媒和自由エネルギー面の変化を調べるためのプローブ分子として疎水性高分子モデルを導入し、DFT に基づくマルチスケールシミュレーション解析を行った。図 4 に室温での R_g のオスモライト濃度依存性を示す。■, △, ●の順で、親水性の強いオスモライトに対応する。Berne 等[2]が主張する様に、高分子とオスモライトとの直接相互作用を強くすると、G-C 転移が促進されるのは事実であるが、その場合も含め、添加物の高分子への過剰吸着による寄与というよりむしろ脱水和、すなわち蛋白質周りに水が存在しなくなる事による寄与が、溶媒和自由エネルギー変化において本質的な役割を果たしている事が示された。

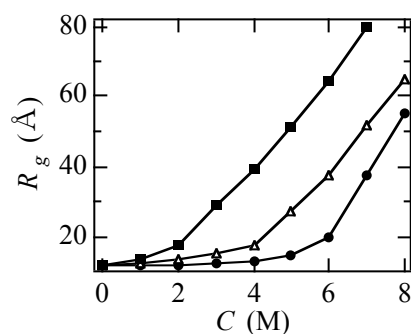


図 4 R_g のオスモライト濃度依存性

[1] S. A. Hawley, Biochemistry, **10**, 2436 (1970). [2] L. Hua, R. Zhou, D. Thirumalai, B. J. Berne, PNAS, **105**, 16928 (2008).