

蛋白質の天然立体構造が形成される仕組みを解き明かす



桑島 邦博（教授）

1971年北海道大学理学部高分子学科卒業、理学博士（北海道大学）北海道大学理学部教務職員、スタンフォード大学博士研究員（NIH奨励研究員）北海道大学理学部助手、東京大学理学部物理学教室（1993年より東京大学・大学院理学系研究科物理学専攻）助教授、同教授を経て2007年1月より現職
TEL: 0564-59-5230 FAX: 0564-59-5234
電子メール: kuwajima@ims.ac.jp
ホームページ: <http://gagliano.ims.ac.jp/Welcome.html>

専門領域

機能分子科学専攻

蛋白質の天然立体構造はその特異的なアミノ酸配列によりもたらされる。生命現象を担う蛋白質のこのような特性は、生物の40億年の進化の歴史を通して作り上げられた。しかし、同時に、蛋白質の立体構造形成（フォールディング）は、熱力学原理に基づく物理化学的過程でもある。蛋白質のフォールディング機構の解明は、生命現象と物理化学現象の接点を担う、生物物理化学の最も基本的な課題の一つである。このような立場から、われわれは、試験管内での蛋白質巻き戻り機構の解析、蛋白質のフォールディングに関わる分子シャペロンの作用機構の解析を行っている。これらの研究を達成するため、NMRを始めとする各種分光学的測定法、熱的測定法などの物理的測定手段とともに、遺伝子操作実験などの分子生物学的手法も用いている。

試験管内での蛋白質巻き戻り機構の解析

蛋白質の可逆的構造転移を解析することにより、天然構造や、構造転移に伴う中間構造状態の熱力学的安定性を評価することができる。巻き戻り反応の速度過程を、光吸収、蛍光、円二色性、X線溶液散乱などのさまざまな構造プローブを用いて追跡することにより、構造形成を直接観測することができる。プロトン 500 MHz の高分解能 NMR 装置を用いて、蛋白質巻き戻り中間体の原子レベルにおける立体構造解析を行っている。リゾチーム、ラクトアルブミン、ヌクレアーゼ、緑色蛍光蛋白質などの代表的な球状蛋白質をモデルとして用いている。上の実験的な研究と同時に、コンピュータを用いて水溶液中での蛋白質のアンフォールディング（構造破壊）過程

の分子動力学シミュレーションを行っている。実験的な結果と照らし合わせることにより、フォールディングの分子機構を原子レベルの詳細で曖昧性なしに議論することが可能となりつつある。

分子シャペロンの作用機構

細胞内には蛋白質の絡み合いを防ぎ構造形成を助ける蛋白質（分子シャペロン）が存在する。分子シャペロンの作用機構は、蛋白質のフォールディングと細胞生物学的な現象を結びつける重要な問題である。大腸菌の分子シャペロンであるシャペロニン GroEL/ES の作用機構を明らかとするため、試験管内での蛋白質巻き戻りの速度過程に及ぼすシャペロニンの影響を物理化学的立場から研究している。シャペロニンの機能発現に必須な ATP などのヌクレオチドの結合反応、ヌクレオチド結合に伴う GroEL のアロステリック転移、シャペロニンの標的蛋白質との結合反応の熱力学的解析と速度論的解析を行っている。これらは、細胞生物学と生物物理化学との接点を担う新しい研究として注目されている。

参考文献

- 1) T. Inobe, K. Takahashi, K. Maki, S. Enoki, K. Kamagata, A. Kadooka, M. Arai and K. Kuwajima, "Asymmetry of the GroEL-GroES complex under physiological conditions as revealed by small-angle X-ray scattering," *Biophys. J.* **94**, 1392–1402 (2008).
- 2) T. Oroguchi, M. Ikeguchi, M. Ota, K. Kuwajima and A. Kidera, "Unfolding pathways of goat α -lactalbumin as revealed in multiple alignment of molecular dynamics trajectories," *J. Mol. Biol.* **371**, 1354–1364 (2007).
- 3) H. Nakatani, K. Maki, K. Saeki, T. Aizawa, M. Demura, K. Kawano, S. Tomoda and K. Kuwajima, "Equilibrium and kinetic of the folding and unfolding of canine milk lysozyme," *Biochemistry* **46**, 5238–5251 (2007).
- 4) S. Enoki, K. Maki, T. Inobe, K. Takahashi, K. Kamagata, T. Oroguchi, H. Nakatani, K. Tomoyori and K. Kuwajima, "The Equilibrium Unfolding Intermediate Observed at pH 4 and its Relationship with the Kinetic Folding Intermediates in Green Fluorescent Protein," *J. Mol. Biol.* **361**, 969–982 (2006).

