



Title	Evaluation of Various Factors that Contribute to Conformational Stability of a Protein
Author(s)	船橋, 順
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42505">https://hdl.handle.net/11094/42505</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	ふな 橋 順 博士
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 15995 号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科高分子科学専攻
学位論文名	Evaluation of Various Factors that Contribute to Conformational Stability of a Protein (蛋白質立体構造の安定化に寄与する種々の因子の定量化)
論文審査委員	(主査) 教授 後藤 祐児  (副査) 教授 月原 富武    助教授 油谷 克英    助教授 佐藤 尚弘

### 論文内容の要旨

生命現象を担っている種々の蛋白質の機能は、その蛋白質に特有な立体構造に依存しており、その立体構造を形成する情報はアミノ酸配列上にある。蛋白質の立体構造がアミノ酸配列によってどのように決定されるか(蛋白質立体構造の構築原理)を明らかにする研究はポストゲノムの時代の重要な課題である。そのためには蛋白質立体構造を維持している疎水性相互作用、水素結合など種々の安定化因子の役割を定量的に理解する必要がある。しかしこれらの因子をアミノ酸置換によって天然の蛋白質に導入したり削除した場合、必ずしも期待通りの安定性の変化を示さない場合が多い。これは置換による影響が置換部位の構造上の特性や周りの環境によって微妙に変化するためであり、系統的なアミノ酸置換蛋白質を用いて置換による構造変化と安定性変化を熱力学的に調べ、それらの間の相関を詳細に検討することが必要である。

本研究ではまず、ヒトリゾチームの同じ分子内部であるが異なった環境上に位置する2カ所のIle残基を一連のアミノ酸に置換した変異型16種を作製し、それらの変性の熱力学的パラメーターを熱測定によって、変異型の構造変化をX線結晶構造解析によって調べた。その結果、水素結合の変化など様々な安定化因子の変化が観察できた。そこで、これまで報告されているヒトリゾチーム分子内部変異型のデータを加え、立体構造から抽出される構造的特徴(溶媒露出面積や水素結合距離など)で表される個々の安定化因子の寄与と、安定性変化を最小自乗法でフィットさせることにより、疎水性相互作用(埋もれた疎水性表面が1Å<sup>2</sup>増加すると約0.2kJ/molの安定化)、水素結合(1本あたり約4~6kJ/molの安定化)、分子内水分子(1分子が分子内部に導入されると約7kJ/molの不安定化)の寄与を定量化できた。

次に分子表面の置換の影響を調べるため、ヒトリゾチームの同じ分子表面であるが異なった環境上にある3カ所のVal残基(それぞれα-helix、β-sheet、loop上に位置する)を一連のアミノ酸に置換した変異型29種を作製し、同様に安定性と構造変化を調べた。その結果、疎水性相互作用は分子表面変異型でも同様の寄与をしていることや、置換したアミノ酸の二次構造傾向性も安定化に寄与している(例えばValからAlaの置換でα-helixでは2.9kJ/molの安定化、β-sheetでは1.7kJ/molの不安定化)ことがわかった。さらに分子表面をとりまく水和構造の寄与(水素結合の形成は1本あたり約0.4~1.5kJ/molの安定化、水1分子の導入により約1.2kJ/molの不安定化)を定量化することができ、それらの寄与は分子内部の寄与に比べ小さかった。

最後にこれらヒトリゾチーム変異型から得られた安定化因子の寄与が、他の蛋白質でも適応できるかどうかを調べ

た。変異型の安定性と構造のデータが豊富であるT4リゾチーム変異型56種の報告データを用いた結果、T4リゾチームにも同様に適応できることを確認した。

本研究では、蛋白質の分子内部、分子表面と様々な環境上に位置する部位で置換した系統の変異型を用いることによって、種々の安定化因子の寄与を定量的に求めることができた。この様な解析は蛋白質の安定性の原理を理解するのに有用であり、蛋白質立体構造の構築原理の解明に貢献するものである。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文は、ヒトリゾチームの系統の変異型を用いて、蛋白質の立体構造を保持している様々な因子について統一的に定量化し、それらが他の蛋白質にも適用できることを明らかにした。更に本論文は、水和構造が蛋白質の安定性に寄与することを実験的に示した最初の研究である。本論文は、蛋白質立体構造の構築原理の解明に大きく貢献するものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。