

学位申請論文公開講演会

日時：2025 年 2 月 7 日(金) 15:30~

申請者：森 祐二郎 (K 研)

場所：理学館 506

題目：リガンド結合による球状蛋白質の構造形成機構

主論文の要旨

多くの蛋白質は、特異的な天然立体構造を獲得することによって生物学的機能を発揮する。蛋白質は、生理的条件下においてほどけた状態から構造形成を経て天然構造へと至る。そのため、蛋白質が天然構造に至るしくみ、すなわち蛋白質構造形成機構の解明は生物物理学の重要な課題の一つである。

蛋白質の構造形成は単一のポリペプチド鎖内で起こるだけでなく、他の因子（リガンド）との複合体形成を伴ってはじめて起こることもある。このような「リガンド結合による構造形成」は、ポリペプチド鎖内の分子内相互作用とリガンドとの分子間相互作用が複雑に絡み合う現象であり、その物理化学的機構は十分には理解されていない。

本研究は二種類の蛋白質について、リガンド結合による構造形成機構を研究した。

一つ目の研究は、球状蛋白質スタフィロコッカス・ヌクレアーゼ（SNase）が対象である。SNase は生理的条件下で自発的に構造形成（フォールディング）するが、穏和な変性条件下ではリガンド結合によるフォールディングが観測される。SNase のリガンド結合によるフォールディングは、配座選択（構造形成ののちにリガンド結合）と誘導適合（リガンド結合ののちに構造形成）の 2 つの機構に基づく。本研究では、蛍光分光法および核磁気共鳴（NMR）法を用いて平衡および速度論測定を実施し、リガンド濃度と変性剤（尿素）濃度に依存する配座選択から誘導適合への切り替わりが変性状態の構造特性に依存することが明らかになった。また、自発的フォールディングとリガンド結合によるフォールディングをダイナミクスの観点から比較し、両者の速度論的挙動を統一的に説明した。

二つ目の研究は、シトクロム *c* が対象である。シトクロム *c* はヘムと共有結合することで、天然構造を獲得する球状蛋白質であり、このヘム付着反応は、ホロシトクロム *c* 合成酵素（HCCS）によって触媒される。本研究では、HCCS によるシトクロム *c* に対するヘム結合と付随する構造形成機構について調べた。HCCS は表在性膜蛋白質であり、その精製困難性が定量的測定を制約していたが、AlphaFold による構造予測を基に、水溶性 HCCS 変異体をデザインし、発現、精製を行なった。精製したサンプルを用いて、ヘム付着反応を紫外可視分光法によって追跡したところ、生体内環境（温度やイオン強度）に近い条件で活性が上昇することが示された。

これらの研究は、ポリペプチド鎖単体での構造形成と統一的な視点で議論できる可能性を示唆するとともに、リガンド結合が蛋白質構造形成に与える影響の多様性を示している。