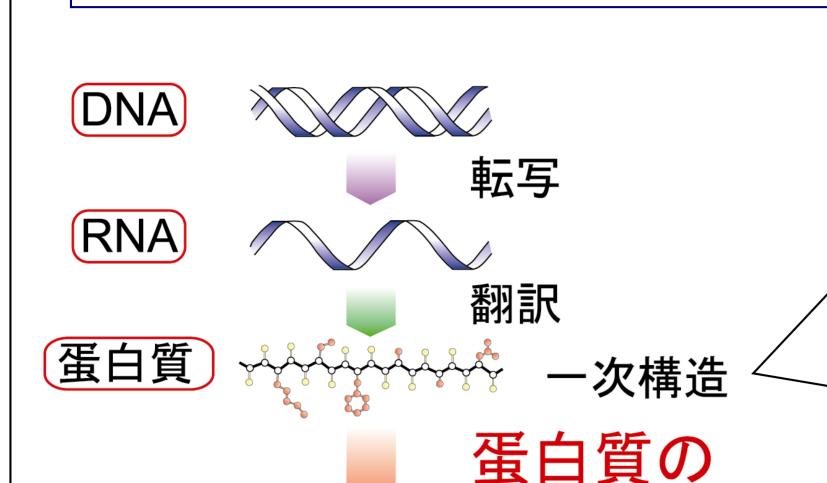
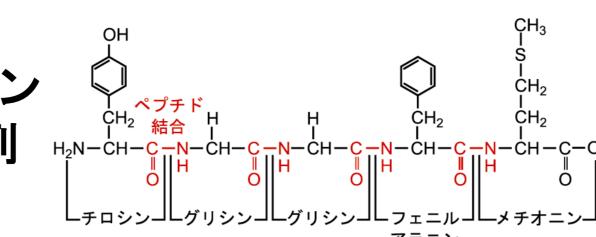
# 蛋白質のフォールディング機構

## 蛋白質と蛋白質のフォールディング



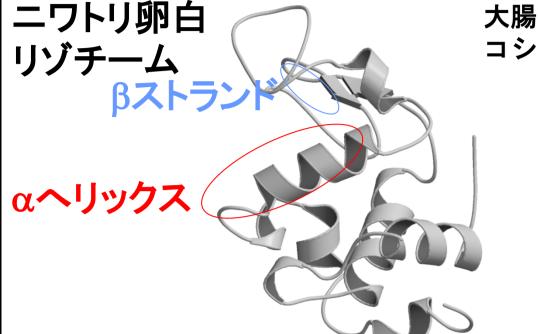
化学的構造:L型 $\alpha$ アミノ酸がペプチド結合に よって鎖状に繋がったもの

メチオニン・エンケファリン (鎮痛剤)のアミノ酸配列



## フォールディング

### 機能発現:特異的な立体構造 = 天然構造 大腸菌シャペロニンGroEL



コシャペロニンGroES複合体 分子量 GroES

**GroES** 

 $10 \text{ kDa} \times 7$ GroEL 57 kDa × 14

分子量14 kDa

## 生体内における蛋白質:

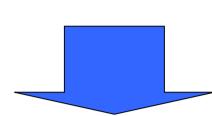
- ・生体の主要な構成要素
- 生命現象の殆どあらゆる局面に 関わる様々な機能



## 蛋白質のフォールディング

特異的な構造を持たないポリペプチド 鎖が天然の立体構造を形成する過程

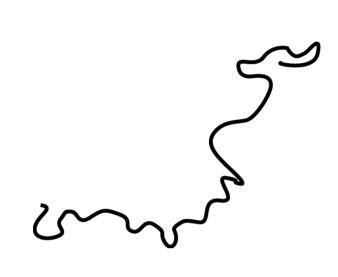
•DNAから生物機能に到る遺伝暗号発現の最終段階 生命現象に見られる自己組織化の最も基本的なもの



蛋白質のフォールディングは、 生命現象を理解する上で本質的

## 蛋白質の立体構造はどうきまる?

リボヌクレアーゼAの 自発的巻き戻り



ほどけた状態(U)

尿素•還元剤



を除去

天然状態(N)

ほどけたポリペプチド鎖は、適切な生理的条 件下で自発的にフォールディングする

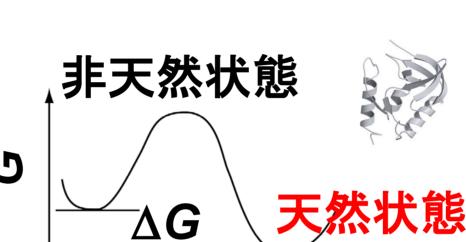
#### ・一次構造情報が天然立体 構造を決める

ほどけた状態において残っている 蛋白質分子の特徴→一次構造



・天然状態は水をも含めた系の自由エネル ギー極小の状態に対応

フォールディング反応の 可逆性



・ 莫大な状態数のほどけた状態にあるポリペプチド 鎖は、いかにして天然状態を見つけるのか?



少数の状態数

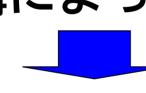
Levinthalのパラドックス

ほどけた状態(U)のポリペプチド鎖が、 ランダムにコンフォメーションを探索 して、天然状態(N)にたどり着くには、 天文学的な時間が必要→実際は秒~分

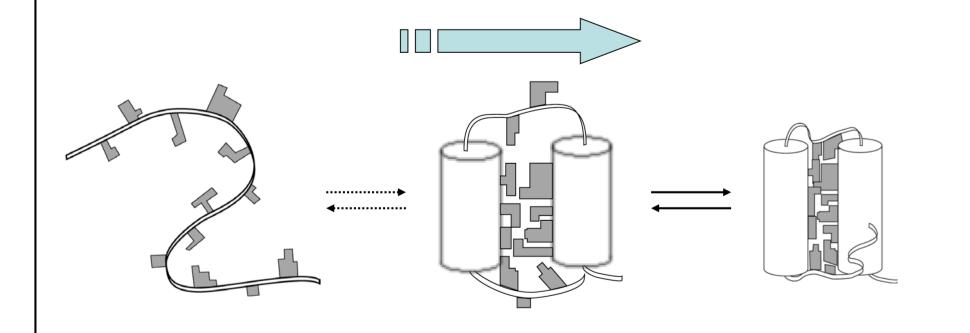
ランダム・サーチではない!

## フォールディング機構の探索

蛋白質のフォールディングはど の様な機構によって起こるのか



フォールディング経路の存在 U⇔中間体₁⇔中間体₂⇔···⇔中間体n⇔N 段階的に構造形成



ほどけた状態

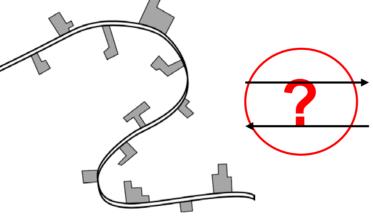
中間体

天然状態

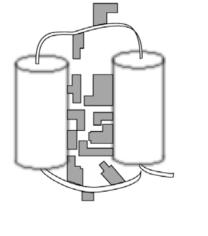
フォールディング中間体を特徴 づけることにより、フォールディ ング機構を探索

#### フォールディング中間体

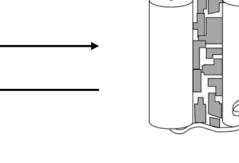
約100アミノ酸残基以上からなる球状蛋白質の多くは、フォールディング反応の律速段階以前、 反応開始後**ミリ秒以内**に以下の特徴を持つ中間体を蓄積する

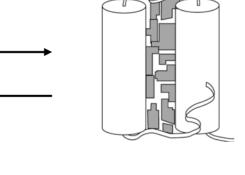






中間体





天然状態

コンパクトな分子サイズ

天然状態に匹敵する二次構造

溶媒に露出した疎水コアや疎水表面

部分的にしかパッキングしていない側鎖

## ドラスティックな秩序形成

### 中間体構造形成を含めてフォールディング過程を 直接観測する必要がある

フォールディング反応開始後の経過時間(秒)

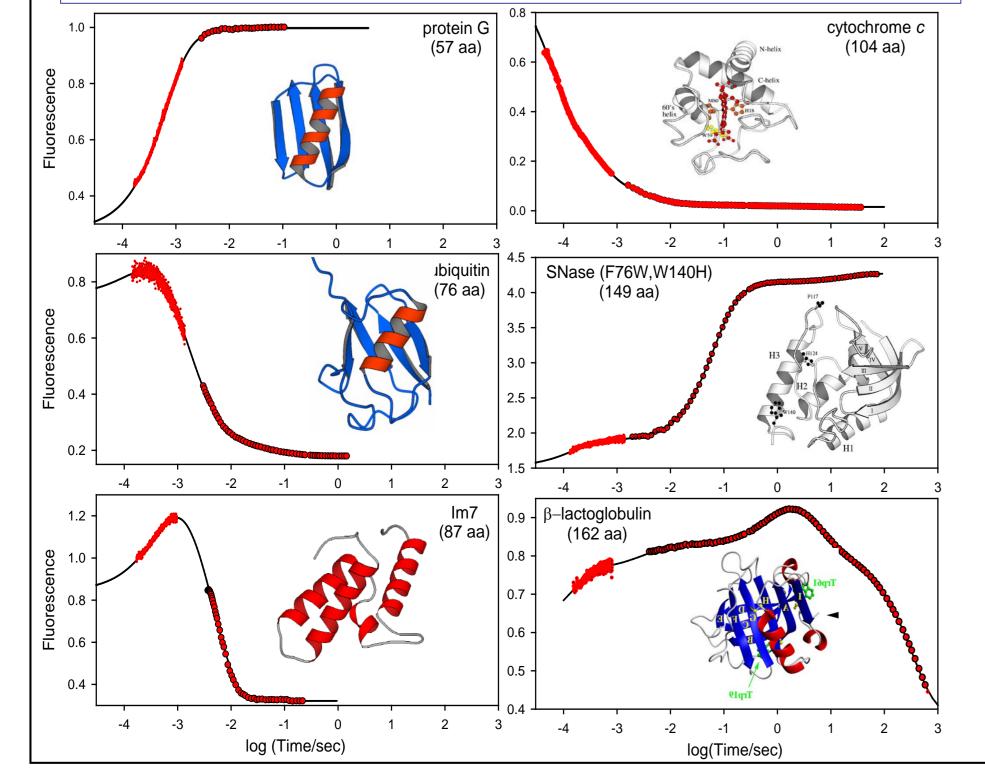
しかし、従来フォールディング研究で用いられているストップトフロー法では、不 感時間(>ミリ秒)が長く、中間体構造形成を直接観測することが出来ない

連続フロー法: 不感時間~50 μs

連続フロー法+ストップトフロー法によって フォールディング速度論を約6桁にわたる 時間スケールについて観測

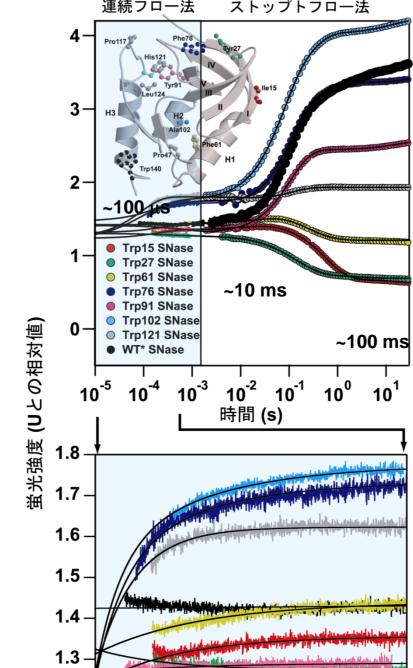
ストップトフロ一法 連続フロー法

## これまでに連続フロー法によって 研究された蛋白質の例



チトクロム c、 ユビキチン、 ヒトプリオン 蛋白質、ACBP については、 これらの蛋白 質のフォール ディングに中 間体の蓄積が あることを初 めて明らかに した

## single-Trp変異体を用いたSNase のフォールディング機構の研究



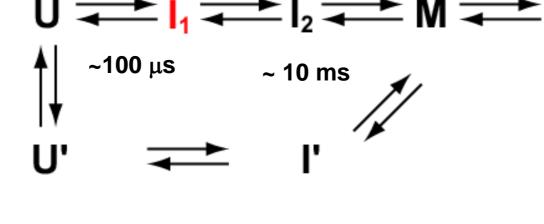
100 200 300 400 500 600 700 800

連続フロー法とSingle-Trp変異体を組み合わせて 用いることにより、 分子全体にわたって、部位特異的に SNaseのフォールディングを反応開始後約100 μs

の時間領域から観測した。 . SNaseのフォールディング開始後100 μsの時間領域で、これ

までに知られていなかった中間体しが蓄積する。SNaseの

フォールディング・スキームは以下のようになる。  $U \longrightarrow I_1 \longrightarrow I_2 \longrightarrow M \longrightarrow N$ ~100 µs



2. 中間体 においては、C末端付近を除く分子全体で凝縮が既に 起こっている。中間体12,1'においては、さらに構造形成が進み、 律速段階で特異的な側鎖のパッキングが起こる。