

氏名(本籍地)	青木 克仁
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	博甲第 7241 号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	数理解物質科学研究科
学位論文題目	テラヘルツ時間領域分光法によるタンパク質の水和に対する塩効果の研究

主査	筑波大学教授	理学博士	服部利明
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	加納英明
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	白木賢太郎
副査	筑波大学准教授	博士(工学)	長谷宗明
副査	筑波大学教授	博士(理学)	石橋孝章
副査	理化学研究所研究員	博士(理学)	保科宏道

論 文 の 要 旨

タンパク質水溶液に塩を加えると、タンパク質の溶解度や安定性が変化する。このことは 1888 年に F. Hofmeister [Arch. Exp. Phthol. Pharmakol. **24**, 247 (1888)]により報告されて以来、よく知られている。塩が溶解度に及ぼす影響の増減と大きさは、塩の種類によりほぼ決まっており、その順序は Hofmeister 系列として知られている。特に効果の大きい陰イオンでは、沈殿のさせやすさの順番で、 $\text{SO}_4^{2-} > \text{H}_2\text{PO}_4^- > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^- > \text{SCN}^-$ となる。ただしタンパク質水溶液の pH がタンパク質の等電点 (pI)より小さいときにはこの順番は逆転し、逆 Hofmeister 系列と呼ばれる。また、タンパク質の安定性は、pHとpIの関係にかかわらず逆転しない。溶解度・安定性だけではなく水溶液の粘性、表面張力なども同じ系列に従うことが知られているが、この系列は、イオンがバルク水の水素結合ネットワークに与える影響とも関連すると考えられており、タンパク質を沈殿させるイオン(SO_4^{2-} など)は構造形成塩またはコスモトロープ、溶解させるイオン(SCN^- など)は構造破壊塩またはカオトロープと呼ばれる。

これらの現象を生じさせる微視的・分子論的な機構についての研究は、最近の 10 年程度で、さまざまな新しい研究手法を用いることにより急激に発展してきた。表面和周波発生などの測定手法により、溶解度に対するイオンの影響は、水溶液中のタンパク質同士の静電相互作用に対するイオンによる遮蔽によって理解できることが分かってきた。それに対して、タンパク質の安定性に関しては、水素結合ネットワークの強さとの関係が指摘されているが、定量的・実験的な研究はおこなわれていなかった。

青木氏は、精密テラヘルツ分光の手法でこの問題に取り組み、構造形成塩がタンパク質近傍の水のピコ秒ダイナミクスに与える影響を丁寧に調べた。テラヘルツ領域を含む誘電分光測定で得られるスペクトルは、分極の自己相関関数のフーリエ変換に比例する。従って、タンパク質近傍の水和水がバルク水に比べてどの程度動きにくくなっているかを、テラヘルツスペクトルの変化や、吸収係数の変化により観測す

ることができる。しかし、水溶液中にわずかに存在する水和水の効果を検出するためには、非常に高精度な測定が欠かせない。青木氏は、既存のテラヘルツ分光装置にさまざまな改良を施すことにより大幅な高精度化を達成し、それを用いて、イオン濃度による水和水の変化を精度よく捉えることに成功した。その結果によると、上記の 5 種類のイオンのアンモニウム塩をタンパク質水溶液に加えた実験の結果、 NO_3^- を除き構造形成塩はタンパク質近傍の水分子の運動性を増加させ(すなわち水和水の量を減少させ)、構造破壊塩は運動性を減少させ(水和水を増加させ)ることが明らかとなった。この結果は、タンパク質の安定性と水の水素結合ネットワークの強さについての K. D. Collins [Methods, **34**, 300 (2004)]の議論と一致している。すなわち、構造形成塩はイオンによって水分子を強く束縛することによりタンパク質から水和水を奪い、一方、構造破壊塩は水の水素結合ネットワークを破壊して水分子をより自由にするためタンパク質の水和水を増やすのだと理解できる。

本論文は、これらの実験結果と考察により、Hofmeister 系列の分子機構としては、静電相互作用と水和とが異なる仕方で働くこと、したがって、タンパク質の溶解度と安定性とは、別々に議論しなければならないことを、実験によってはじめて明瞭に示した。

また、一連の実験結果からは、タンパク質近傍の水和水に関して、今後の研究の発展に寄与するさまざまな情報が得られた。すなわち、水和水がおよそ一分子層程度の量であること、テラヘルツ吸収のタンパク質濃度依存性が特異なピークを持つこと、水和水のテラヘルツスペクトルがこれまで提案されているものとは異なることなどが示唆された。これらはどれも貴重な情報であり、他の手法では得られないものである。

〔批評〕

青木氏は、分光装置の地道な改良と丁寧な測定により、非常に高精度のテラヘルツ分光測定を実現し、その手法を用いて、タンパク質工学、生体分子科学・溶液化学の最先端の課題である、Hofmeister 系列の分子機構の問題に取り組み、これまでどの研究グループもなしえなかった新しい成果を達成したことは、大変に評価される。特に、さまざまな研究手法によるこれまでの研究成果と自身の結果を統一的に理解する洞察力は非凡であり、多くの研究者に注目される成果を挙げた。青木氏の一連の研究成果は、生体分子の水溶液における水和水の働きや水和の微視的な理解を格段に進めるものであり、今後の関連分野の発展に大いに寄与するものであることは疑い得ない。

さらに、青木氏の研究は、テラヘルツ分光の新しい方向性を指し示したものである。すなわち、高精度・精密な測定を丁寧におこなうことにより、他の測定手法では得られない、テラヘルツ分光ならではの情報が得られることを、はっきり示し、テラヘルツ分光が幅広い分野において有力な手法となりえることをはっきりと指し示した。

〔最終試験結果〕

平成 27 年 2 月 17 日、数理物質科学研究科学学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

〔結論〕

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。