

# ■ タンパク質、DNAの水和構造



中性子構造生物学研究グループ ■ 新村 信 雄 ■

## 1. はじめに

タンパク質やDNA等の生体物質の立体構造解析により生命現象を解明すること、これは構造生物学と呼ばれ21世紀の重要な学問のひとつとして注目されている。タンパク質の種類は非常に多く、例えばヒトゲノムに含まれているタンパク質の種類は10万種に及ぶと言われている。そのため、米国ブルックヘブン国立研究所のProtein Data Bank (PDB)に登録された生体物質立体構造の数は、毎年ウナギ登りに増えて行き、5,000近くに達している。益々、この傾向に拍車がかかけられ、決定される構造の数は増えるばかりである。新しいタンパク質の構造決定により重要な生命現象が解明されてきたことは事実であり、今後もこれは変わらないであろう。これだけ多くのタンパク質3次元立体構造が判ってきたので、今まで解かれた3次元立体構造とアミノ酸の1次配列の関係を分類することで3次元立体構造を予測する試みがあり、いくつか成功例はあるが少ない。一方、アミノ酸の1次配列から原子間に働く力を計算により求め、そこで得られる一番安定な構造として3次元立体構造を予測する試みもあるが、これに至ってはこれだけで正解にたどり着いた例はない。現状がこの様になっている最大の理由はタンパク質立体構造構築原理が判っていないからである。これの最大の原因の一つが水素原子及び水和構造の情報不足ではないだろうか。

DNAの構造はワトソン、クリックの二重らせん構造が基本 (B型) で、それ以外にA型、Z型更に3本鎖等見い出されてはいるが、タンパク質に較べれば構

造の多様性は少ない。しかし、水和構造まで含めれば構造の多様性は際限なく広がり興味は尽きない。また、DNA・DNA結合タンパク質複合体形成にも水分子は欠かせない存在であるが、その詳細な意義等も殆ど判っていない。

ここではこれらを解明することの意義について述べてみたい。

## 2. タンパク質の水和

タンパク質は20種類のアミノ酸の重合体で、20種類のアミノ酸はそれぞれ、電荷をもつアミノ酸、親水性のアミノ酸、疎水性のアミノ酸に分類される。すでに述べたが、タンパク質は3次元立体構造を構築して始めて生理機能を発揮するが、その際これらアミノ酸の特徴を見事に利用して3次元立体構造を構築していることが判る。例えば水溶性タンパク質は疎水性のアミノ酸が水分子に接しないように内側にきてコアを作り、電荷をもつアミノ酸や親水性のアミノ酸が外側にきて周囲の水と接するように立体構造を構築する。そして、周囲の水のいくつかは水和水としてタンパク質を取り囲み、いわゆるバルクの水とは異なる振る舞いをする。水和水の存在は古くから言われており、X線結晶構造解析の結果からもその存在は確認されている。但し、X線では酸素位置のみが観測されるので、アミノ酸残基と水和水との結合の様子は判らない。電荷をもつアミノ酸や親水性のアミノ酸と水分子との相互作用から考えられる水分子の配位の様子は3次元的に多様であり、直接アミノ酸残基に水和水した水分子に更に

配位する水分子もあると言うわけでそのヴァリエーションは数え切れない位になる。水和構造の結合様式の大部分は水素結合と考えられるが、水素結合ではアミノ酸残基は水素原子のドナーになっているのか、アクセプターになっているのかも重要な因子であり、これらは皆、タンパク質の立体構造構築に深く関わっているが、X線構造解析からは何の情報も得られない。中性子回折法ではこれらをユニークに決定出来る。1例を挙げよう。

最近我々はニワトリ卵白リゾチームの中性子構造解析に成功したが、53番目のチロシン残基と近くの水分子の様子を図1に示す<sup>1)</sup>。決定されたチロシン残基のOH基の水素原子は水分子の方を向いていない。つまり、この水分子とは水素結合していない。一方、結合距離から判断すると、この水分子のひとつの水素原子はチロシン残基のOH基の酸素(YO)と水素結合し、他方の水素原子はさらに反対側の主鎖の酸素原子(QO)と水素結合している。但し、この水分子の2つの水素原子は殆ど対称的であるので実際は、図1に示すように実線と点線の結合様式の組み合わせが実現していると考えられる。もし、水素原子位置が決定されていなかったらこのような水素結合ネットワークを予想することは困難であったろう。

### 3. DNAの水和

生命体の全ての情報はDNAに書き込まれている。また、同一個体の細胞は同じDNAを有する。従って同一個体の細胞は全て同じ生命情報を持っていることになるが、それにもかかわらず細胞の形態は、組織毎にすべて異なる。それは、DNAが各細胞に必要な情報部分しか発現しないからである。その制御機構に関しては多くの研究が成されているが、原子・分子レベルでの理解は緒についたばかりである。組織に必要なタンパク質合成メニューの書かれたDNAの箇所に、メニュー読取り機能を有するタンパク質が結合する。そのDNA情報がmRNA、tRNAを経て、リボソームでタンパク質合成される。このプロセスの中で重要なのがタンパク質とDNAの結合構造解明である。タンパク質がDNAに結合する様子はいくつかの例がX線結晶構造解析で解かれている。しかし、これでDNA結合タンパク質の様子が判ったわけではなく大きな疑問

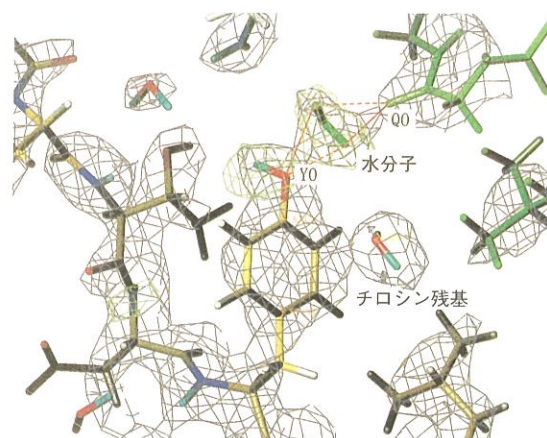


図1 中性子構造解析で決められたニワトリ卵白リゾチームの53番目のチロシン残基の近くの水分子

が残っている。DNAの長さはヒトで約2mあり、DNA結合タンパク質がDNA中の必要な結合箇所をいかにして見出すのか全くの謎である。これに対して、DNAに名札が掛かっており、タンパク質はその名札を認識してその場所を見出している、という一つの仮説をたててみたい。名札はDNAの周囲を取り巻く水である<sup>2)</sup>。

最近、この仮説を支持すると考えられる12塩基対DNAの高分解能X線構造解析の結果が報告された<sup>3)</sup>。それによるとDNAの副溝に沿って第一水和水が峰状に連なり、さらにその上にもう一層第二水和水が連なりDNA螺旋構造の表面にとび出している構造が提案されており、第一水和水は塩基対と水素結合し、第二水和水は第一水和水と水素結合していることから、第二水和水には塩基対の情報が入っているという論法である。しかし、X線では水素原子は見えないので水和水は酸素原子をもって代表される。酸素のつながりだけでは全く情報不足で、例えばDNA塩基対の情報が水和水に反映されていたとしても明確な結論は得られない。一方、中性子では水素を含めて水和水の構造が決められるので、多くのヴァリエーションに富んだ水和水ネットワークの詳細な情報が得られ、上記仮説の確認が出来る。

#### 4. DNA・DNA結合タンパク質複合体形成に欠かせない水分子

前項でも述べたが、DNA塩基対の遺伝情報はDNA結合タンパク質がDNAに結合することで読み取られる。結合した状態のDNA・DNA結合タンパク質複合体の結合様式の解明が遺伝情報発現のもう一つの鍵である。DNA結合タンパク質には大きく分けて3種類ある。まず、DNA塩基対に依らず結合（非特異的結合）し、DNAの折り畳み等DNA高次構造形成に関与するもの、次に、特定のDNA塩基対配列を認識し結合（特異的結合）するものがあり、後者は更にDNAの一定箇所に固定して結合しDNAの情報発現等を制御するもの（例えば、DNA制御タンパク質等）とDNAの一定範囲を移動しDNA情報を読み取るもの（各種ポリメラーゼ）に分類される。このうち、DNA制御タンパク質については、DNA・DNA結合タンパク質複合体の構造についてX線結晶構造解析及びNMRで原子レベルで構造が決定された例が多く有り、結合の一般的なパターンは見い出されてきている。その中でもDNA結合に参画するタンパク質の Helix-turn helix, Zinc fingers, Leucine zippers モチーフは有名で結合の詳細が調べられている。そこでは、専らモチーフのどのアミノ酸残基がどのDNA塩基に結合するから特異的であると言う論法に終始している。本質的にはこれで正しいと考えるが、それにしては不思議なことがある。アミノ酸残基とDNA塩基が直接結合するものはよいとして、水分子を介してアミノ酸残基とDNA塩基が結合している箇所が必ずあるのである<sup>4)</sup>。この水分子の役割は何なのだろう。本来はアミノ酸残基とDNA塩基との直接結合が望ましいが例えば立体障害等で止むを得ず水分子を介して結合しているのか、あるいはもっと積極的な意味があって水分子を介して結合しているのだろうか。各種ポリメラーゼのDNA結合に至っては原子レベルでの構造解析の例も少なく、構造の詳細は殆ど判っていない。ただし、ポリメラーゼの機能を考えれば少な

くともDNA塩基対の情報を読み取るのであるから特異的なアミノ酸残基とDNA塩基対の直接結合を考えたいが、同時に、ポリメラーゼは塩基対毎に場所を変え4種類の塩基配列を自在に読み取っていく機能も合い携えている必要があると考えるともっとフレキシブルな結合を考えたい。前述のDNA制御タンパク質とDNAとの結合に見られたアミノ酸残基とDNA塩基の直接結合よりは弱い結合、つまりアミノ酸残基とDNA塩基を関係付けるのに水分子のオブラートをかぶせて結合しているとすれば納得はいく。そして、DNA制御タンパク質で水分子を介してアミノ酸残基とDNA塩基対が結合しているのはこれの名残であると見られないだろうか。

#### 5. おわりに

生体物質の水和水については想像逞しくすれば切りがない。しかも、こんな想像はばかげていると断定出来る実験データを持ち合わせている人は現時点で誰もいない。むしろ、水分子の役割の重要性を示す状況証拠は次々とあがってきている。中性子はこれらに関する決定的実験証拠を提供できるプローブである。そして、我々の研究テーマは中性子を使って『機能性生体物質の水和構造』を直接視界に捕えることである。

#### 参考文献

- 1) N. Niimura, Y. Minezaki, T. Nonaka, J.-C. Castagna, F. Cipriani, P. Hfgfhj, M. S. Lehmann & C. Wilkinson, *Nature Struct. Biol.* 4(1997)909-914
- 2) 新村信雄; 基礎科学ノート 1 [1](1994)11
- 3) X. Shui, L. McFail-Isom, G.C. Hu, L.D. Williams; *Biochemistry* 37(1998)8341
- 4) 例えば J.-A. Feng, R. C. Johnson, R. E. Dickerson; *Science* 263(1994)348