

## 論文内容の要旨

博士論文題目 Neutron incoherent scattering studies on protein dynamics  
(タンパク質動力学の中性子非干渉性散乱による研究)

氏名 中川 洋

(論文内容の要旨)

タンパク質の動力学的特性を明らかにすることは、タンパク質の機能発現機構を理解するために、必須である。本論文では、スタフィロコッカル・ヌクレアーゼを用いて、中性子非干渉性弾性散乱実験を行ない、タンパク質の動力学特性の一つである動力学転移の研究を行った。得られた結果は以下のとおりである。

1. 中性子非干渉性弾性散乱の低  $Q$  領域は、ガウス近似が成り立ち、平均自乗変位を評価することができる。しかし、高  $Q$  領域においては、ガウス近似からのずれ (非ガウス性) が顕著になる。動力学の不均一性を考慮し、非ガウス性の解析を行なった。その結果、非ガウス性は、動力学の不均一性で無理なく説明することができた。動的不均一性を、平均自乗変位の分布として評価した。ガウス分布、二値分布及び指数関数分布による解析を行なったところ、どの分布でも散乱関数は説明できた。結晶学的温度因子との比較などから、二値分布が単純ではあるが、タンパク質の特徴を最もよく表現するモデルであると結論した。
2. 機能発現のために固有の立体構造が必須であり、動力学が機能発現に重要であるなら、折畳まれることにより獲得される動的特性が、機能発現に本質的であろう。そのような考察から、生理的条件下で非天然構造を取る変異体と天然構造を取っている野生型について、動力学転移を観測した。その結果、脱水と試料では、150K 近傍に動力学転移が観測され、転移点以上の温度では変異体の揺らぎの方が大きくなることが示された。二値分布による解析から、変異体の方が大きい揺らぎの成分が多くなっていることを明らかにした。一方、水和試料では新たに 230K 近傍に動力学転移が生じたが、構造状態による差は見られなくなった。この事実から、タンパク質の動力学は、表面の水分子の動きに強く依存していることが示唆された。
3. 動力学転移をエネルギー分解能の異なる 4 種の分光器により測定した。用いた分光器のエネルギー分解能は、 $1\mu\text{eV}$ 、 $10\mu\text{eV}$ 、 $100\mu\text{eV}$ 、 $1\text{meV}$  であり、それぞれ 4nsec、400psec、40psec、4psec の時間スケールに対応する。150K 近傍の転移には、40psec より遅い運動が関与することを示した。また、40psec と 400psec の時間スケールの運動のエネルギー曲面の差が、天然構造のほうが非天然構造よりも小さいことを明らかにした。これらから、タンパク質は折畳まれることで動力学構造が変化し、時間スケールにおける階層性が高次構造と密接に関係することを示唆した。

(論文審査結果の要旨)

タンパク質の機能発現機構を理解するにあたり、その動的特性（動力学）の理解が必須であると認識されてきている。中性子非干渉性散乱は、タンパク質動力学を研究するために有効な手法であることが知られているが、実験のためには、原子炉または加速器が必要であるという特殊性から限られた応用しかなされていない。本論文では、スタフィロコッカル・ヌクレアーゼ (SNase) の動力学転移を中性子非干渉性弾性散乱により詳細に測定し、構造状態及び水和状態の動力学転移に対する効果、エネルギー分解能依存性について調べるとともに、散乱プロファイルの解析法の開発を行なっている。主要な成果は以下のとおりである。

1. 中性子非干渉性弾性散乱関数の波数依存性におけるガウス近似からのずれ（非ガウス性）の起源の一つが、タンパク質動力学の不均一性であることを明らかにした。平均自乗変位の分布としてガウス分布、二値分布及び指数関数分布を考え、散乱関数の解析を行なった。その結果、結晶学的温度因子との比較などから、二値分布が単純ではあるが、タンパク質の特徴を最もよく表現するモデルであると結論した。
2. 生理的条件下で非天然構造を取る SNase 変異体と天然構造を取っている SNase 野生型について、水和及び脱水と試料に対して、動力学転移を観測した。その結果、構造状態による動的特性は、脱水と試料では明瞭に差が見られるが、水和試料では差が亡くなることを明らかにした。また、230K 近傍に水和依存的な動力学転移のあることを示した。これらから、タンパク質動力学は、表面の水分子の動力学に依存していることを示唆した。また、脱水と試料について、二値分布による解析から、変異体では、大きい揺らぎの成分の割合が上昇していることを明らかにした。
3. エネルギー分解能の異なる 4 種の分光器を用い、SNase 野生型と変異体について動力学転移を観測した。その結果、40 ピコ秒より遅い運動が 150K 転移に関係していることを示した。また、遅い運動ほどエネルギー曲面の曲率が大きいこと、40 ピコ秒と 400 ピコ秒のエネルギー曲面の違いは、天然構造のほうが非天然構造よりも小さいことなどを明らかにした。これらから、タンパク質は折り畳まれることで動力学構造が変化し、動力学の階層性が高次構造と密接に関係していることを示唆した。

以上のように、本論文では、中性子非干渉性非弾性散乱の定量的解析からタンパク質動力学の特徴の一端を明らかにしている。これらの結果は、タンパク質動力学に対する中性子非干渉性散乱実験の有効性を如実に示しており、タンパク質物理化学の分野に本質的貢献をなすものとして、学術上の価値が高い。また、中性子散乱実験は時間的に制約されているにもかかわらず、定量的解析を可能にする精度の高いデータを系統的に得ることに成功したことは、技術的意義も大きい。よって、審査員一同は、本論文が博士（理学）の学位論文として価値あるものと認めた。