

アミノ酸誘導体の 1,6-ヘキサンジオール による溶解と液-液相分離

SATテクノロジー・ショーケース2025

■ はじめに

タンパク質は20種類のアミノ酸がペプチド結合でつながった生体高分子であり、様々な生理活性をもつ。近年、液-液相分離 (LLPS) によるタンパク質の液滴形成が、シグナル伝達、遺伝子発現、ストレス応答など多くの細胞内プロセスに関わることが明らかとなり、タンパク質液滴形成の研究分野は急速に発展している。さらに、LLPSは神経変性疾患にも関与しており、LLPSの詳細な理解が求められている。脂肪族アルコールである1,6-ヘキサンジオール (1,6-HD) はタンパク質液滴を溶解する効果を持つ。この効果を利用して、1,6-HDは液滴識別剤 (液滴と凝集体を識別するための試薬) として広く用いられている。しかしながら、1,6-HDによる液滴溶解メカニズムの詳細は明らかではない。本研究では、タンパク質の構成要素であるアミノ酸側鎖の溶解度を水中と1,6-HD中で比較することで、1,6-HDのタンパク質液滴溶解メカニズムの解明を目指す。

■ 活動内容

1. アミノ酸誘導体の溶解度測定

1,6-HDとアミノ酸側鎖の相互作用を調査するために、1,6-HD水溶液中でのアミノ酸誘導体 (アセチル化およびアミド化されたアミノ酸 (Ac-X-NH₂)) (図1) の溶解度を測定した。1,6-HDの比較対象には、1,6-HDよりも液滴溶解効果が低い2,5-ヘキサンジオール (2,5-HD) を用いた。溶解度測定の結果、疎水性アミノ酸 (X = Phe, Tyr, Trp, Val, Ile) の溶解度は1,6-HDの添加によって増加した。2,5-HDの可溶性効果は、1,6-HDに比べて小さかった。

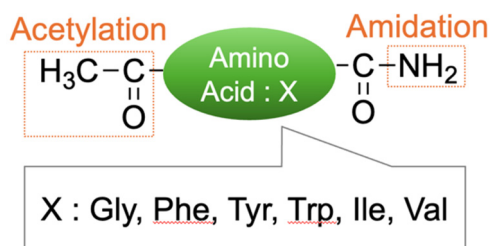


図1. アミノ酸誘導体Ac-X-NH₂
(アセチル化およびアミド化されたアミノ酸)

2. 移相自由エネルギー (ΔG_{tr})

水中とヘキサンジオール (1,6-HDおよび2,5-HD) 中での溶解度データの比較から各アミノ酸誘導体の移相自由エネルギー (ΔG_{tr}) を算出した (図2)。 ΔG_{tr} が負に大きな値をとるほど、アミノ酸誘導体とヘキサンジオールの親和性が高い (相互作用が熱力学的に安定である) ことを意味する。脂肪族アミノ酸誘導体 (Val, Ile) に比べ、芳香族アミノ酸誘導体 (Phe, Tyr, Trp) は負に大きい ΔG_{tr} を示した。これは、1,6-HDによるタンパク質液滴の溶解が、1,6-HDとアミノ酸側鎖の芳香環の相互作用に起因することを示唆している。なお、2,5-HDにおいて、Gly誘導体は正の ΔG_{tr} を示した。この結果は、2,5-HDとアミノ酸骨格の相互作用が熱力学的に不安定であることを意味する。

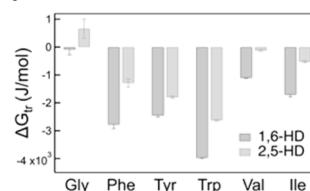


図2. 水からヘキサンジオールへのアミノ酸誘導体の移相自由エネルギー (ΔG_{tr})

3. アミノ酸誘導体の液-液相分離

上記と異なる Trp 誘導体 (Ac-Trp-OEt: アミド化の代わりにエチルエステル化された誘導体) は、水中で LLPS を起こす (図3)。下層 (褐色) が Trp 誘導体を多く含む濃縮相、上層 (透明) が水を多く含む希薄相である。この系は、LLPS における Trp 側鎖とヘキサンジオールの相互作用の影響を検証する上で有用である。実際、ヘキサンジオールの添加によって濃縮相が溶解し、2,5-HD に比べて 1,6-HD が高い液滴溶解効果をもつことが明らかになった。以上より、1,6-HD と Trp 側鎖の間の安定な相互作用が液滴溶解に寄与することが示された。このような相互作用が 1,6-HD によるタンパク質液滴の溶解メカニズムの根幹を担っていると考えられる。

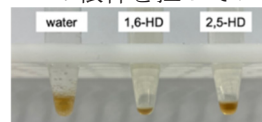


図3. Trp誘導体 (Ac-Trp-OEt) の液滴に対するヘキサンジオールの溶解効果

代表発表者 小田 春菜 (おだ はるな)
 所属 筑波大学 大学院 理工情報生命学術院
 数理工学科学研究群 博士前期課程 1 年
 産業技術総合研究所 ナノ材料研究部門
 CNT 機能制御グループ
 問合せ先 〒 305-8571 茨城県つくば市天王台 1-1-1
 TEL: 029-853-5621 FAX: 029-853-6305
 E-mail: harunaoda3@gmail.com

■ キーワード: (1) アミノ酸
 (2) LLPS
 (3) タンパク質液滴
 ■ 共同研究者: 白木賢太郎¹, 和田百代²,
 平野篤²
 1) 筑波大学・数理工学
 2) 産総研・ナノ材料