

変性状態のタンパク質に対する界面活性剤の添加効果

(岡山理大工) ○森山佳子・近藤尚章・竹田邦雄

1. 緒言

界面活性剤とタンパク質の相互作用は、半世紀以上も前から広範囲に研究されてきた。その中で、界面活性剤の結合によるタンパク質の構造変化も研究されてきたし、また、タンパク質の構造変化をプローブとして界面活性剤の溶液物性も研究されてきた。しかし、これまでの多くの研究は、天然のタンパク質と界面活性剤の2成分の系で行われ、界面活性剤以外の、他の影響下にあるタンパク質（非天然タンパク質）と界面活性剤の系ではあまり研究されていない。この非天然タンパク質に対して、界面活性剤は、天然タンパク質に対してとは全く違った影響を与えることがある。ここでは、主に、尿素または熱の影響下にあるウシ血清アルブミン（BSA）とヒト血清アルブミン（HSA）の構造変化に対する SDS の添加効果を報告する。

2. 結果

SDS 溶液中で、BSA と HSA のヘリックス構造は一部崩壊し、その割合（66%）は約 50%になる。一方、尿素溶液中で、BSA と HSA のヘリックスは、尿素 4 M で減少し始め、9 M で約 10%になる。種々の濃度の尿素で変性した BSA と HSA に SDS を添加したとき、これらのヘリックス含量の変化の様子は、尿素濃度範囲によって異なった。尿素 3 M 以下では SDS 変性のみが起こるが、尿素 4 M 以上では、尿素によって壊れた BSA と HSA のヘリックスは、SDS の添加によって回復した。特に、4 M～8 M の場合、この構造の回復は、数 10 μ M オーダーの微量の SDS によって引き起こされた。また、SDS は、ヘリックスを回復させるだけでなく、尿素変性に先立って添加すると、尿素変性からヘリックス構造を保護した。

130 $^{\circ}$ C までの熱変性で、BSA と HSA のヘリックスは、40 $^{\circ}$ C 付近から壊れ始め、50 $^{\circ}$ C から 100 $^{\circ}$ C 付近にかけて急激に壊れ、さらに 130 $^{\circ}$ C まで壊れ続ける。130 $^{\circ}$ C でも、BSA と HSA のヘリックスは完全には崩壊せずに残った。50 $^{\circ}$ C までの温度で変性した後 25 $^{\circ}$ C に冷却すると、ヘリックス含量は完全に回復し、加熱・冷却にともなう可逆性が見られた。しかし、50 $^{\circ}$ C 以上で変性した場合、この可逆性は失われ、変性温度が高いほど、回復するヘリックス含量は低くなる傾向を示した。SDS を添加して、構造変化が可逆性を示す温度で熱変性させると、ヘリックスはさらに減少した。一方、構造変化が可逆性を失う温度で変性させると、低濃度の SDS の添加によって、ヘリックス構造の崩壊は抑制された。

非天然状態の BSA と HAS の構造の、SDS による保護効果は、会合体を形成できないくらい低い界面活性剤濃度で現れる。したがって、SDS は、ミセルやポリペプチド鎖上でミセル状の会合体を形成してではなく、モノマーの状態で機能していると思われる。

Effects of Surfactants on the Structures of Denatured Proteins

Y. MORIYAMA, N. KONDO, K. TAKEDA (Okayama Univ. of Science, moriyama@dac.ous.ac.jp)

The effects of SDS on the structures of bovine and human serum albumins (BSA and HSA) in the urea and thermal denaturations were examined by means of CD measurements. Upon the additions of SDS of extremely low concentrations, the helical structures of BSA and HSA were almost protected against the urea and thermal denaturations. The concentrations of the surfactants, where the protective effect was observed, were too low to form their micelle-like aggregates. Then the protein structures might be stabilized by cross-linking of the surfactant monomers bound to specific sites in the proteins.