

# 魚類由来 III 型不凍タンパク質水溶液における圧力効果 Influence of a type III Antifreeze Protein on Ice under Pressure

坂下真実<sup>1,\*</sup>, 西宮佳志<sup>1</sup>, 近藤英昌<sup>1</sup>, 津田 栄<sup>1</sup>,  
山脇 浩<sup>2</sup>, 藤久 裕司<sup>2</sup>, 後藤 義人<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(独)産業技術総合研究所 生物プロセス, 〒062-8517 札幌市豊平区月寒東 2-17-2-1

<sup>2</sup>(独)産業技術総合研究所 計測フロンティア, 〒305-8565 つくば市東 1-1-1

## 1 はじめに

不凍タンパク質(antifreeze protein: AFP)は、氷結晶表面に特異的に結合する機能をもったタンパク質である。1969年に南極魚の血清成分として発見されて以来[1]、昆虫、植物、菌類、バクテリアなどさまざまな低温適応生物に存在することがわかってきた[2]。AFPはこれらの生物が低温で生き残るのを助けている。これまで常圧低温で生成する氷 Ih に対して AFP の結晶成長抑制機能が調べられてきたが、AFP と氷の相互作用の本質についてはまだ十分には解明されていない。本研究では、AFP 水溶液に圧力をかけた際の変化を顕微鏡で観察するとともに、AFP 存在下における水および氷の高圧構造変化を粉末 X 線回折測定によって詳細に調べた。また、加圧によって AFP の機能が影響を受けるかどうかを調べた。

## 2 実験

試料には魚類(ナガガジ)由来 III 型不凍タンパク質(Notched-fin eelpout AFP: nfeAFP) のアイソフォーム 6 番、nfeAFP6 を用いた。大腸菌 BL21(DE3)に nfeAFP6 を発現させ、菌体破碎した後、陽イオン交換クロマトグラフィーによって精製した[3]。緩衝液成分の影響を除くため、最後に高純度精製水で透析した。試料の加圧にはダイヤモンド・アンビル・セルを用いた。試料水溶液を封入したセルを KEK-PF, BL-18C に持ち込み、室温高圧下における粉末 X 線回折測定を行った。また、ピストン・シリンダーで 1.3 GPa まで加圧した試料を回収し、氷結晶の成長速度を測定した。

## 3 結果および考察

透明な AFP 水溶液に圧力をかけていくと、約 1 GPa で試料部が濁り始めた。この圧力でしばらく待ってもグレインの成長等の変化は見られなかった。圧力を少し下げると細かい粒の数が減少し、再び圧力を上げると粒の数が増加した。氷のグレインの成長が見られないことから、通常の水から氷 VI への変化とは異なる状態にあることが考えられる。さらに圧力をかけると、約 1.8 GPa で固化が始まった。一部が固化した後、液体と固体が共存する圧力は 1.5 GPa であった。試料が液体から固体へ変わる過程の粉末 X 線回折パターンの変化を図 1 に示す。液

体状態 (0.3 GPa) で回折角  $2\theta = 12^\circ$  付近に観測されるブロードなピークは、加圧により連続的に広角側へシフトした。試料部が濁り始めた 1 GPa 前後では、回折パターンの大きな変化は見られなかった。固化が始まった 1.8 GPa では結晶性のピークが複数現れた。これらのピークは氷 VI の回折線に対応する。試料部の濁りの原因はわからないが、通常より高い圧力で氷 VI が現れることがわかった。

1.3 GPa までの加圧後に回収した試料において、常圧低温での氷の結晶成長速度は加圧前の水溶液とほとんど同じ値を示した。AFP の氷 Ih に対する結晶成長阻害効果は加圧前後で変わらないと考えられる。

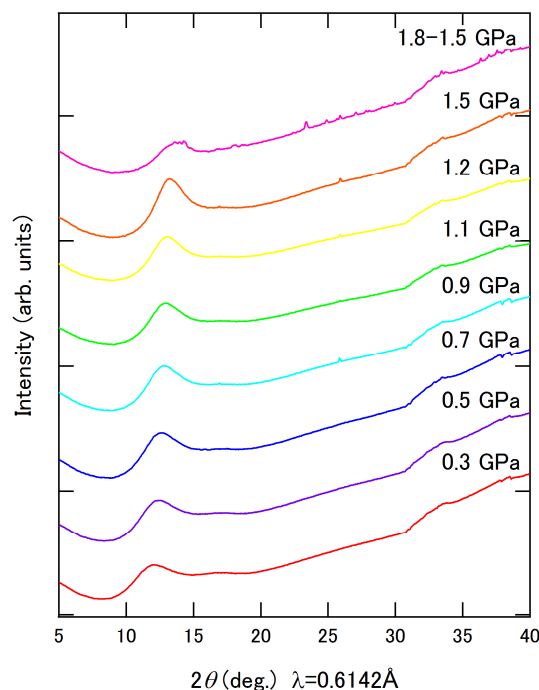


図 1 : 高圧力下で固化した nfeAFP6 水溶液の粉末 X 線回折パターン。

## 参考文献

- [1] A.L. Devries and D.E. Wohlschlag, *Science* **163**, 1073 (1969).
- [2] Z. Zongchao and P.L. Davies, *Trends Biochem. Sci.* **27**, 101 (2002).
- [3] Y. Nishimiya, et al., *FEBS J.* **272**, 482 (2005).

\* m.sakashita@aist.go.jp