

# 高圧下結晶構造解析による 深海微生物由来 3-イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素の圧力適応機構の解明 High-pressure protein crystallography reveals a pressure-adaptation mechanism of 3-isopropylmalate dehydrogenase from deep-sea bacteria

永江峰幸<sup>1</sup>, 渡邊信久<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>名古屋大学ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー,

<sup>2</sup>名古屋大学シンクロトロン光研究センター, <sup>3</sup>名古屋大学 大学院工学研究科,  
〒463-8603 名古屋市千種区不老町

Takayuki Nagae<sup>1</sup>, and Nobuhisa Watanabe<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Venture Business Laboratory, <sup>2</sup>Synchrotron radiation Research center,

<sup>3</sup>Graduate School of Engineering, Nagoya University, Nagoya, Aichi 464-8603, Japan

## 1 はじめに

深海に棲息する好圧生物の蛋白質は、高圧環境下でも活性を失うことなく機能することが知られている。しかしながら、好圧生物が持つ蛋白質のどのような構造的特徴が耐圧性や好圧性に寄与しているのか、その仕組みは未だ十分に理解されていない。我々は、放射光の短波長 X 線とダイヤモンド・アンビルセル (DAC) を組み合わせた高圧下蛋白質結晶構造解析を推進しており、高圧下では常圧菌由来の 3-イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素 (IPMDH) の分子表面に溝が形成され、水分子が侵入することを発見している (Nagae, *et al.*, 2012)。マリアナ海溝水深 10,898 m で採取された絶対好圧菌由来の IPMDH では、溝内部のアミノ酸残基が変異している。絶対好圧菌 IPMDH は、これらのアミノ酸変異によって高圧下における水分子の侵入を防いでいると推測される。絶対好圧菌 IPMDH を模した変異を常圧菌 IPMDH に導入し、高圧構造を解析した。

## 2 実験

DAC の設定圧力には再現性が無いため、野生型と S266A 変異型の常圧菌 IPMDH 結晶を直径 0.7 mm, 高さ 0.25 mm の DAC 試料室内に同時に 2 から 3 個ずつサンプリングした (図 1)。ダイヤモンドによる X 線の吸収を軽減するため、および DAC の開口制限下で高分解能データを収集するため、0.71 から 0.75 Å の短波長の X 線を使用した。

## 3 結果および考察

580MPa 下の結晶構造解析の結果、野生型常圧菌 IPMDH では、分子表面の Pro108 と Leu305 の側鎖間に溝が形成され、3 つの水分子が侵入している (図 2a)。また溝の形成によって Ser266 側鎖が露出し、侵入水との間に水素結合が形成されている。一方で S266A 変異体においては、Pro108 と Leu305 の側鎖間に侵入水の電子密度は観測されない (図 2b)。従って、高圧下における分子表面への水分子の侵入に

は、侵入水と Ser266 側鎖との水素結合の形成による安定化が寄与している。絶対好圧菌 IPMDH は S266A のアミノ酸変異によって、高圧下における水分子の侵入を防ぐことで圧力に適応していることが示唆される。

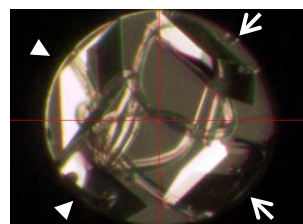


図 1: DAC 試料室にサンプリングした野生型常圧菌 IPMDH 結晶 (△) と S266A 変異体結晶 (→)。

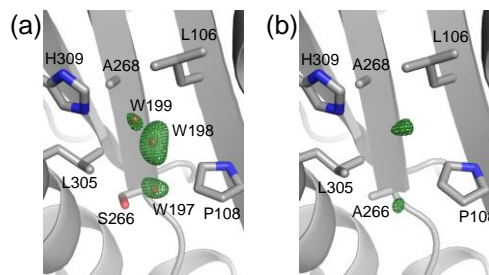


図 2: (a) 野生型常圧菌 IPMDH と (b) S266A 変異体の 580 MPa 条件下における分子表面の溝の拡大図。メッシュは差電子密度図 (3σ) 赤色の球は水分子。

## 4 まとめ

本研究では常圧菌 IPMDH と絶対好圧菌を模した変異体の水和構造を含めた高圧構造を比較することによって、深海生物の蛋白質の耐圧性の仕組みを初めて明らかにした。

## 参考文献

[1] T. Nagae *et al.*, *Acta. Cryst. D68* (2012) 300.

\* nobuhisa@nagoya-u.jp