

高圧力下における魚類由来不凍タンパク質と氷の相互作用 Interaction between AFP and Ice under Pressure

坂下真実^{1,*}, 西宮 佳志¹, 近藤 英昌¹, 津田 栄¹, 山脇 浩², 藤久 裕司², 後藤 義人²

¹産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門, 〒062-8517 札幌市豊平区月寒東 2-17-2-1

²産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門, 〒305-8565 つくば市東 1-1-1, 中央第 5

Mami Sakashita^{1,*} Yoshiyuki Nishimiya¹, Hidemasa Kondo¹, Sakae Tsuda¹

Hiroshi Yamawaki², Hiroshi Fujihisa² and Yoshito Gotoh²

¹BPRI, AIST, 2-17-2-1 Tsukisamu-higashi, Toyohira-ku, Sapporo, 062-8517, Japan

²RIIF, AIST, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, 305-8565, Japan

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し、低温での氷の結晶成長を抑制する機能をもったタンパク質である。魚類、昆虫、植物、菌類、藻類、バクテリアなど、さまざまな低温適応生物に存在し、これらの生物が低温環境で生息するのを助けている[1]。これまで、常圧低温で生成する氷 Ih に対する AFP の結晶成長抑制機能が主に調べられてきたが、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 存在下における水および氷の高圧構造変化を調べ、卵白リゾチーム存在下における構造変化と比較した。

2 実験

試料には、北海道東部に生息する魚類(ナガガジ Notched-fin eelpout: NFE)由来 III 型不凍タンパク質のアイソフォーム 6 番, nfeAFP6 を用いた。大腸菌 BL21(DE3)を宿主として 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[2]。対照実験の試料として、リゾチーム(卵白由来, 生化学工業(株))を用いた。試料水溶液を高圧セル(ダイヤモンド・アンビル・セル)に封入した後 KEK-PF (BL-18C) に持ち込み、20 keV の X 線を用いて室温高圧下における粉末 X 線回折測定を行った。試料部の圧力はルビー蛍光法により求めた。

3 結果および考察

試料 nfeAFP6 水溶液に圧力をかけていくと、約 1.9 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約 1.5 GPa であった。加圧下における粉末 X 線回折パターンの変化を Fig.1 に示す。液体状態(0.7 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高角側へシフトした。約 1.9 GPa で回折パターンが大きく変化し、結晶性のピークが複数現れた。

これらのピーク位置は氷 VI の回折線によく対応する。さらに圧力をかけると、約 2.2 GPa で氷 VII に由来するピークが現れた。

卵白リゾチーム水溶液に圧力をかけた場合にも氷 VI の回折パターンが現れたが、AFP 水溶液の場合とはピークの強度比に違いが見られた。卵白リゾチーム水溶液における液体と固体の共存圧力は約 1.5 GPa で、AFP 水溶液の場合とほとんど変わらなかった。ピーク強度比の違いについて検討中である。

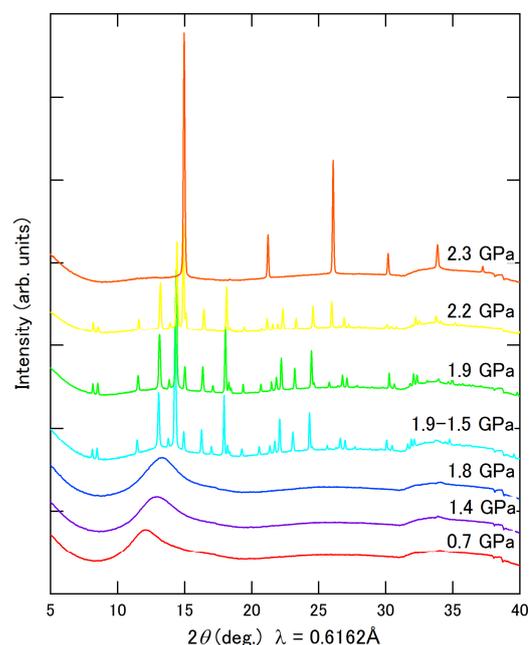


図 1 : H₂O + AFP の粉末 X 線回折パターン

参考文献

- [1] Z. Zongchao and P.L. Davies, Trends Biochem. Sci., 27, 101-106 (2002).
[2] Y. Nishimiya, et al., FEBS J, 272, 482-492 (2005)

* m.sakashita@aist.go.jp