

高圧蛋白質結晶構造解析

Structural analysis of protein crystals under high pressure

永江峰幸¹, 河村高志¹, Leonard Chavas⁴, 丹羽健¹,
長谷川正¹, 加藤千明³, 渡邊信久^{1,2}

¹名古屋大学 大学院工学研究科, ²名古屋大学 シンクロトロン光研究センター, ³海洋研究開発機構 極限環境生物圏研究センター, ⁴ KEK PF

高圧蛋白質結晶構造解析は、ダイヤモンドアンビルセル (DAC) を用いて蛋白質結晶に 100 MPa から 1 GPa 程度の高圧力をかけた状態で X 線結晶構造解析を行う手法である。我々は、それを用いて好圧生物の酵素の耐圧性や、蛋白質の圧力変性の分子メカニズムを解明することを目的としている。

マリアナ海溝等の深海に生息する好圧生物はその現場の圧力に適応した生命維持システムを備えている。 *Shewanella* 属細菌には、常圧菌である *S. oneidensis* MR-1 や、マリアナ海溝に生息する絶対好圧菌 *S. benthica* DB21MT-2 などが知られている。これらの常圧菌と好圧菌由来の酵素 3-イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素(IPMDH)については既に高圧下における酵素活性測定がなされており、細菌の至的生育圧力と酵素の耐圧性には正の相関関係があることが報告されている¹⁾。

圧力が溶液中の反応に及ぼす影響は、反応の進行に伴う体積変化と圧力の関係で説明される。従って好圧生物の酵素の耐圧性を分子レベルで説明するには、酵素反応

進行の各状態の高圧構造が必要である。我々は常圧菌と好圧菌由来 IPMDH の基質複合体について、2 Å 前後の分解能での高圧構造解析に成功した。現在アポ状態の高圧構造解析に着手している。

蛋白質の圧力変性は、加圧による蛋白質内部への水分子の侵入が引き金であるとされている。これを支持する計算機シミュレーションの結果も報告されている²⁾。しかしながら実際に水分子の侵入を実験的に観察した例は未だ無い。水分子の構造情報を原子分解能で直接観測可能な高圧蛋白質結晶構造解析が期待される。

高圧蛋白質結晶構造解析の実験上の困難として、圧力による溶解度の変化に伴う結晶の溶解、圧力媒体が液体であることによる結晶の易動性、DAC の限られた開口角でのデータ収集等が挙げられる。当日はこれらの問題点への対処方法についても発表する。

- 1) Kasahara, R., et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 2541-2543 (2009).
- 2) Imai, T., et al., *Protein Sci.* **16**, 1927-1933 (2007)