異常に高い熱安定性を持つ CutA1 タンパク質の変性の熱力学的パラメータ Thermodynamic Parameters of Unfolding for CutA1 Proteins with Unusually High Stability

山本等¹、澤野雅英¹、竹平美代子¹、小笠原京子²、城所俊一³、 加藤悦子⁴、横山茂之^{1,5,6}、油谷克英¹

Hitoshi Yamamoto¹, Masahide Sawano¹, MichiyoTakehira¹, Kyoko Ogasahara², Shun-ichi Kidokoro³, Etsuko Kato⁴, ShigeyukiYokoyama^{1,5,6} & KatsuhideYutani¹ (¹理研播磨研, ²阪大蛋白研, ³長岡技大, ⁴農業生物資源研, ⁵理研 GSC, ⁶東大院理)

(¹RIKEN SPring-8 Center, ²Osaka Univ., ³Nagaoka Univ. Tech., ⁴Nat. Inst. Agrobio. Sci., ⁵RIKEN GSC, ⁶Univ. Tokyo) e-mail: yamahito@spring8.or.jp

一般に、タンパク質立体構造の安定性(かたちの壊れ難さ)は、多くの安定化因子と不安定化因子が互いに相殺して、結果的には僅かのエネルギーバランスで保たれていると言われている。常温生物由来のタンパク質の場合、その安定化のエネルギー(変性のギブスエネルギー変化、ΔG)は高々50kJ/mol である。これは、水素結合の 2-3 本分に相当する僅かのエネルギーである。好熱菌並びに超好熱菌由来のタンパク質も常温生物由来のタンパク質と基本的には同じ機構によって熱安定化されていると思われている。しかし、100°C 近くに変性温度を持つ超好熱菌由来のタンパク質は、生育条件(pH7)付近での熱変性は会合体を生じ、可逆的な熱変性条件が得られていないために熱力学的解析が困難であった。そのため、超好熱菌タンパク質の熱安定化の熱力学的機構は未だに解明されていない。

私達は、最近、超好熱菌、 $Pyrococcus\ horikoshii$ (至適生育温度 98°C) 由来の CutA1(PhCutA1)の熱変性温度が 150°C 近くにあることを発見した $^{(1)}$ (この変性温度はこれまでに実測された値を 30°C 近く上まわる史上最高のものである)。PhCutA1 の熱安定化機構を明らかにするために、至適生育温度が異なる $Thermus\ thermophilus$ (75°C) と $Oryza\ sativa\ (28°C)$ 由来の CutA1(ここではそれぞれ TtCutA1、OsCutA1 と呼ぶ) と PhCutA1 の 3 種の熱変性と変性剤変性を調べた。pH7 で TtCutA1 と OsCutA1 の変性温度も極めて高く 114°C と 99.2°C であった(DSC 測定)。幸いなことに、中性付近での高い変性温度にもかかわらず高い熱変性の可逆性を示した。その結果、ある仮定の下に、図に示すように 3 種の CutA1 の変性の ΔG の温度関数を描くことができた。この図に示

すように PhCutA1 は全ての温度範囲で、他の CutA1より高い安定性を示した。 ΔG の最大値は 59.4°C で 237kJ/mol であった。また、TtCutA1 と OsCutA1も他の一般的なタンパク質に比べて高い ΔG を示した。PhCutA1の高い熱安定性は他の 2種の CutA1に比べエントロピーの寄与によることが分かった。最後に、PhCutA1の 150°Cまでの高い熱安定性は分子表面のイオン結合によることも確認できた。

[1] Tanaka, T., et al., FEBS Lett. **580**, 4224-4230 (2006)

