

*Thermus thermophilus* のタンパク質はなぜ茹でられないのか  
**Mechanisms Why Proteins Produced by *Thermus thermophilus* are not Boiled.**

大島 泰郎

Tairo Oshima

(共和化工(株)環境微生物学研究所)

e-mail: [tairo.oshima@kyowa-kako.co.jp](mailto:tairo.oshima@kyowa-kako.co.jp)

はじめに

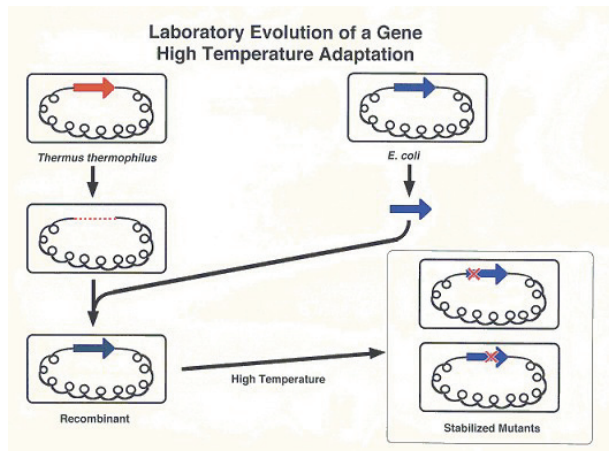
*T. thermophilus* HB8 に限らず、好熱菌のタンパク質は熱安定である。好熱菌の生化学・分子生物学に興味があるにせよ、その工学的応用に興味があるにせよ、ほとんどの好熱菌の研究はタンパク質など生体分子の耐熱性に関連している。ところが好熱菌のタンパク質がなぜ熱安定なのかについて一口では説明できない。要するに、好熱菌のどのタンパク質にも当てはまる一般則が知られていない。

一般原則

とはいえ、いくつかの共通な原則が見いだされている。第一は、構造上の僅かな変化が重要らしいことである。それは、基本的に常温の酵素と性質が違わないことやアミノ酸配列は高い相同性を示すことから推測できる。たとえば、同じ酵素であると、しばしば大腸菌酵素と好熱菌酵素はイオン交換カラムクロマトグラフィーの挙動が同じである。文献があれば大腸菌の酵素を精製したときをまねて同じ条件、同じ操作で *T. thermophilus* HB8 の酵素も精製できることが多い。第二の原則は、多くの場合、好熱菌の酵素は熱力学的にも速度論的にも安定化されている<sup>1)</sup>。要するに、変性反応に伴う  $\Delta G$  も  $\Delta G^\ddagger$  も常温菌の対応するタンパク質に比べ大きくなっている。特に、 $\Delta G$  は温度に対する変化率を下げて、ということは温度が上がっても  $\Delta G$  はあまり減少しないという機構によって安定化されている。問題は、そのような物理化学的な性質の変化がどのような構造上の変化によりもたらされるかが分かっていないことである。

進化実験

われわれは、実験室内で遺伝子一つだけを高温に進化させる系を開発した<sup>2)</sup>。すなわち、耐熱性の上がったタンパク質を自然に設計させることにした。系は図に示すように好熱菌の染色体から特定の遺伝子を抜いて、そこへ大腸菌や酵母の相当する遺伝子をはめ込む。こうして出来た形質転換株は、一つの遺伝子だけが耐熱性でないタンパク質をコードしているので、その遺伝子産物が働かないと増殖できない培養条件の下では、強い進化の淘汰圧がかかり、熱安定性が上がるような変異がおこった株だけが増殖してくる。こうして得られた安定性の上がったタンパク質を解析して、耐熱化の機構を探った<sup>3)</sup>。

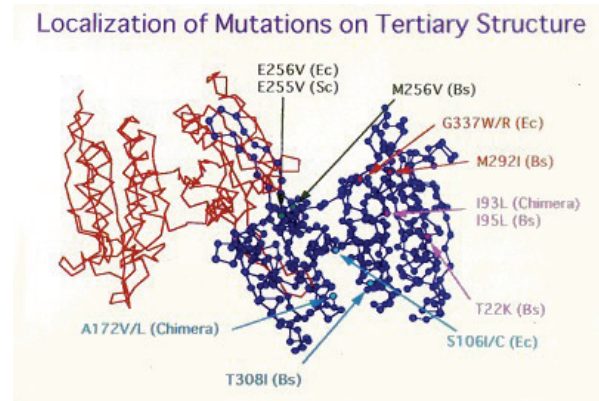


## 耐熱化機構

こうして得られた変異体のうち、あるものは「なーんだ。これなら知っていた」という機構もあれば、思いもしない機構もあった。たとえば、疎水性コアの残基(イソロイシン)をより疎水性の低い残基(ロイシン)に変えたことがある。この場合、疎水コアの疎水性は少し低下するが、側鎖の長いイソロイシンでは近くのベンゼン環と衝突気味であったのが、側鎖の短いロイシンに代えて立体障害が消滅する効果の方が分子全体の安定性にはより重要であるらしい。

## タンパク質は積み木

タンパク質の安定性が上がる変異が、進化実験のモデルタンパク質分子<sup>4)</sup>のどのような座位におこっているかを map したのが下図である。どんな場所かを整理してみると、第一はドメインドメインとかサブユニットサブユニットなど立体構造のユニット間の相互作用を強化していることが多い。この実験結果は、タンパク質を宝石が連なったネックレスに似たアミノ酸の連なった鎖と考えるより、積み木のようなブロックの組み合わせと考えるとよいと教えている。好熱菌の酵素では、しばしばサブユニット構造を大きくして、構造ユニット間の相互作用を増やして熱安定化している。



次に多かったのは  $\alpha$  ヘリックス上の残基である。その機構はいろいろであるが、人工と同じように自然もヘリックスはいじりやすいらしい。 $\beta$  構造上のものは少ない。三番目に多かったのはループを強化する変異であった。

## タンパク質の存在限界

一体、タンパク質は何度まで存在できるだろうか？ 疎水性相互作用のないタンパク質はないと仮定すると、疎水性相互作用の存在限界(140°Cくらい)<sup>5)</sup>がタンパク質の存在限界であり、その温度が同時に(タンパク質なしの生命もないだろうから)生命の生存の上限を決めるファクターの一つでもある。もう一つの可能性は、疎水性コアなしで、イオン対ペア<sup>6)</sup>のみで高次構造を維持しているタンパク質であるが、現実にはそのようなタンパク質は存在していないようである。

## References

- 1) Nojima, H. et al., J. Mol. Biol., 116, 429-442 (1977); 122, 33-42 (1978)
- 2) Tamakoshi, M. et al., Mol. Microbiol., 16(5), 1031-1036 (1995)
- 3) Oshima, T., Current Opinion Str. Biol., 4(4), 623-628 (1994)
- 4) Hayashi-Iwasaki, Y. and Oshima, T., Method. Enz., 324, 301-322 (2000)
- 5) Creighton, T. "Proteins Structures and Molecular Properties" 2<sup>nd</sup> Ed. Freeman, New York
- 6) Vetriani, C. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 95(21), 12300-12305