

南極 *Flavobacterium* 属細菌由来 不凍タンパク質の探索とその諸性質

ライフサイエンス

○田中里佳(院生)、河原秀久(化学生命工学部 生命・生物工学科 教授)

研究概要・成果

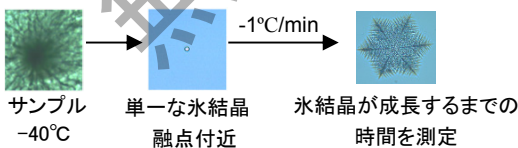
低温に生息する生物は、低温や凍結から身を守るために、氷結晶を制御できる不凍タンパク質 (AFP) も生産し、AFP は熱ヒステレシス活性や氷再結晶化抑制活性を有していることが確認されている。そこで、低温環境のうち南極に生息する *Flavobacterium* 属細菌由来の AFP の生産・精製を行い、諸性質の解析を行った。

低温環境



評価方法

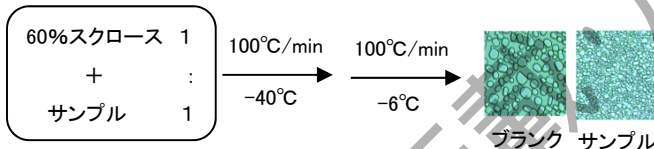
熱ヒステレシス活性 (TH) 測定



・TH活性について: サンプルを温度制御可能な位相差顕微鏡のガラスシャーレ上に1μlのせ、100°C/minの速度で-40°Cまで冷却し、その後、温度を上げて氷の結晶を溶かしていき、単一な氷の粒にした。この単結晶を-1°C/minの速度で温度を低下させ、氷結晶が成長するまでの時間を次式で温度に換算して数値化を行った。

$$TH (^{\circ}C) = 60^{-1} \times \text{測定時間}(s)$$

氷再結晶化抑制活性 (RI) 測定



・RI活性測定法について: 顕微鏡を用いて、サンプルと60%スクロースを1:1で混合し、100°C/minで-40°Cまで温度を下げ、その後同速度で-6°Cまで上昇させます。-6°Cとなった時点をもととし、30分後の写真をブランクと比較して、次式に当てはめRI値を算出を行った。

$$RI = \frac{\text{サンプルの水結晶1個当りのみかけの表面積}(pix)}{\text{純水の水結晶1個当りのみかけの表面積}(pix)}$$

結果

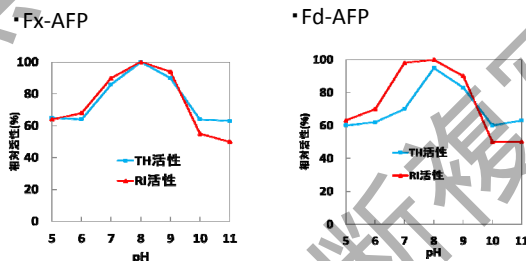
・スクリーニング

	TH(°C)	RI	採取場所
<i>F. degerlachei</i>	0.80	0.40	南極丘陵の湖
<i>F. frigidarium</i>	0.17	1.53	南極付近の浅海堆積物
<i>F. frigoris</i>	0.17	1.10	南極丘陵の湖
<i>F. psychrolimnae</i>	0.20	1.43	南極の湖および南極露岩地帯
既報			
<i>F. xanthum</i>	1.02	0.80	南極の泥

タンパク質濃度: 1 mg/ml

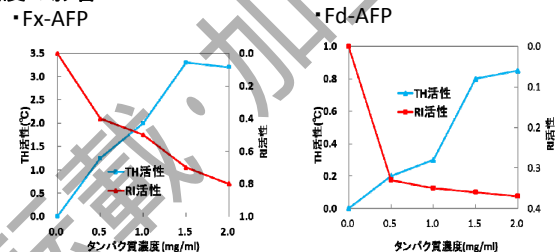
⇒ *F. degerlachei* と *F. xanthum* 2種類の菌体のAFP (Fd-AFP、Fx-AFP)を比較検討した。

・pHの影響 (タンパク質濃度: 1 mg/ml)



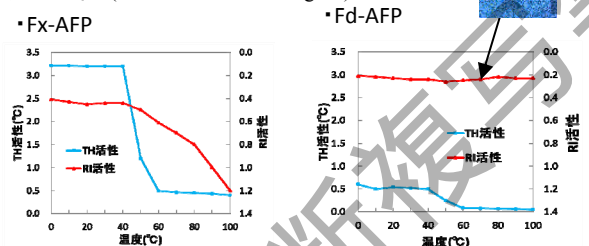
⇒ Fx-AFP、Fd-AFPともにpH7-9で活性が高かった。

・濃度の影響



⇒ 濃度が高くなるとTH活性は上昇するが、RI活性は低下する。

・温度の影響 (タンパク質濃度: 1 mg/ml)



⇒ Fd-AFPのRI活性は温度が上昇しても一定であった。

応用分野、実用化可能分野

さらに諸性質を調べることで、細胞・臓器保存液や防霜・除剤分野での応用が期待できる。

問合せ先: 関西大学 化学生命工学部 河原秀久 E-mail: kawahara@kansai-u.ac.jp

関大ORDIST

先端科学技術推進機構

社会連携部 産学官連携センター、知財センター