3P091

水－牛血清アルブミン－トレハロース三成分系の熱力学的安定性

(日大院総合基*, 日大文理**, 大阪大院理***)
○高柳 匡秀*, 杉本 隆之**, 名越 篤史***, 藤森 裕基*

Thermodynamic stability of water - BSA - trehalose system

(Graduate School of Integrated Basic Sciences, Nihon University*, College of Humanities and Sciences, Nihon University**, Graduate School of Science, Osaka University***)
○Masahide Takayanagi*, Takayuki Sugimoto**, Atsushi Nagoe***, Hiroki Fujimori*

【緒言】

自然界には、クリプトビオシス現象(極度な乾燥状態において一部の生物が身につけた代謝を行わず、永久的休眠状態で生き続けることが可能な特性)をもつネムリユスリカという昆虫が存在する。ネムリユスリカは乾燥時、水に代わって生体成分を保護するためにトレハロースを体内に蓄積する。しかし、この機構については詳しくわかっていない。そこで本研究では、水－タンパク質系と水－タンパク質－トレハロース系の変性温度を示差走査熱量計(Differential Scanning Calorimetry, DSC)を用いて測定し、タンパク質の変性におけるトレハロースの役割を明らかにすることを試みた。また、変性剤である塩酸グアニジンがタンパク質内部の水素結合と競合することで変性を促進する効果との比較も行った。

【実験】

試料：試料タンパク質として Jackson ImmunoResearch 社製ウシ血清アルブミン(BSA)を用いた。0～20 wt%の BSA 水溶液試料を調製し、15 wt%トレハロース水溶液および 5 wt%塩酸グアニジン水溶液を溶媒として用いた 0～20 wt%の三成分系 BSA 溶液試料を調製した。測定に用いた試料は、変性の不可逆性を考慮し、１測定につき１回のみの使用とした。

DSC 測定：DSC 測定は PerkinElmer 社製・DSC8500 を用いた。それぞれの濃度で温度範囲は 60 ℃～95 ℃、昇温速度は 5 ℃min^{-1} で測定を行った。

【結果・考察】

図１は BSA の熱変性に伴う熱容量変化を示す。図１より、試料タンパク質 BSA の熱変性は吸熱反応であり、温度上昇に伴って熱容量が変化してブロードなピークが観測された。変性温度はピークトップをとり、それに対応する温度を変性温度とした。

図２は 0～20 wt%で調製した二成分系水－BSA の変性温度変化、三成分系水－BSA－15 wt%トレハロースの変性温度変化および三成分系水－BSA－5 wt %塩酸グアニジンの変性温度変化の比較を示す。図２より、BSA－トレハロース水溶液の変性温度変化は BSA 水溶液の変性温度変化と比較して約 2 ℃高温側にシフトし、トレハロースによるタンパク質変性の緩和効果が示された。また、それに反して BSA－塩酸グアニジン水溶液の変性温度変化は約 8 ℃低温側にシフトし、塩酸グアニジンによるタンパク質変性の促進効果も示された。さらに、15 wt%トレハロース水溶液を溶媒として加えた BSA 溶液の高濃度部分(15～20 wt%)と低濃度部分(0～10 wt%)

の変性抑制効果に変化は見られなかった。仮にトレハロースが BSA を被包し、変性を制限しているであれば高濃度部分において BSA を被包しきれなくなり、その効果が弱まることが予想される。しかし、その可能性は低いことから、溶媒の粘度が上がったことによりタンパク質の変性を抑制しているのではないかと考えられる。

図 3 は、4 つの異なる溶媒において同濃度の BSA 水溶液の変性温度変化を示す。なお、BSA 混合水溶液 A の溶媒は、トレハロース：塩酸グアニジン：水＝1：1：98 のモル比で混合したものである。図 3 より、互いに逆の効果を示すトレハロースと塩酸グアニジンを同じ溶媒に加えることで、変性の促進効果と抑制効果が互いに相殺されることが見出された。

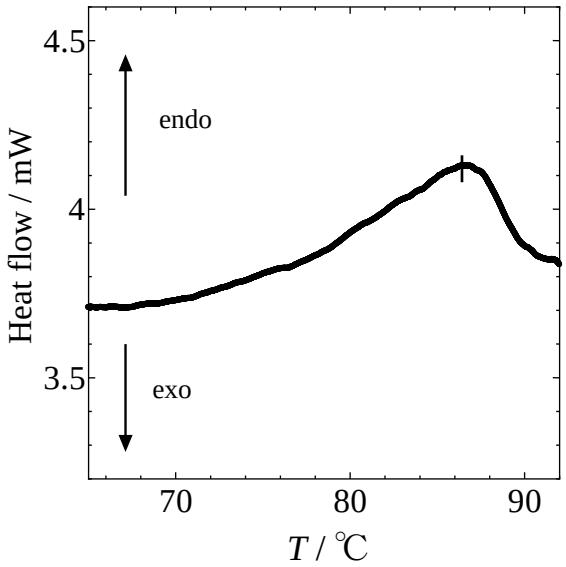

図 1. 19wt%BSA 水溶液の DSC 測定結果.

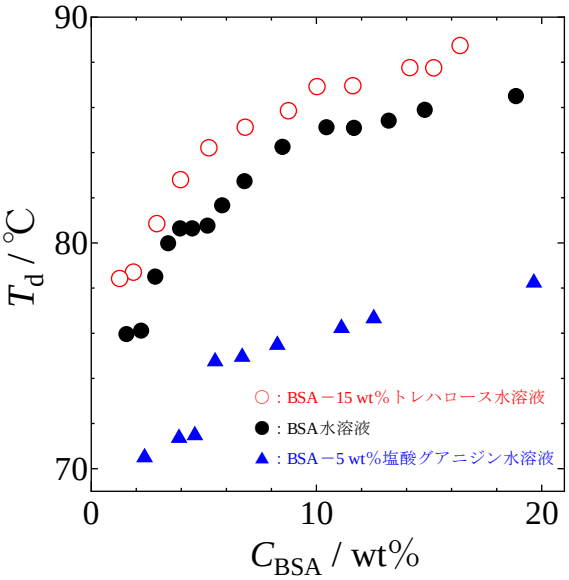

図 2. 各溶媒中の BSA の変性温度の BSA 組成依存性.

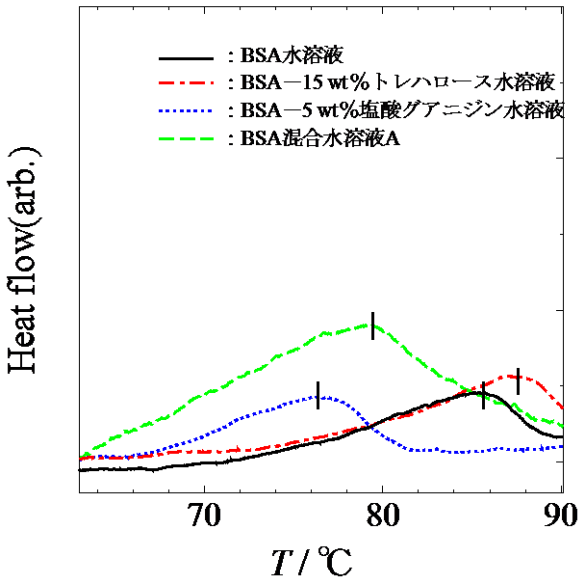

図 3. 四つの各溶媒における同濃度(11 wt%)の BSA 水溶液の DSC 測定結果.