

水和イオン液体中における膜タンパク質の構造と熱安定性

(東薬大薬¹・阪大院工²) ○石井佳穂¹・武部豊²・小林和音¹・市田公美¹・溝端栄一²・藤田恭子¹

Structure and thermal stability of membrane proteins in hydrated ionic liquids (¹The University of Pharmacy and Life Sciences, ² Graduate School of Engineering, Osaka University) ○Kaho Ishii¹, Yutaka Takebe², Kazune Kobayashi¹, Kimiyoshi Ichida¹, Eiichi Mizohata², Kyoko Fujita¹

Membrane proteins are considered to be particularly important targets for drug discovery, but they are difficult to handle in vitro, and their low stability is a problem. We have previously reported that improvement of shelf life and thermal stability of water-soluble proteins dissolved in hydrated ionic liquids (ILs), which are prepared by adding a small amount of water to IL [1]. In this study, a membrane protein, TehA, was dissolved in a hydrated IL, and investigated its structure and thermal stability. Hydrated ILs, choline dihydrogenphosphate ([ch][dhp]), was prepared to be 4 or 7 water molecules per ion-pair. [ch][dhp] solution was prepared to be 50 mM in tris buffer. The structure of the membrane protein was measured with CD measurement, and the changes in 208 nm were followed while temperature change (Fig. 1). As a result, it was confirmed that the α -helix structure was maintained in hydrated [ch][dhp] as in buffer. Furthermore, the denaturation temperature increased about 30°C in hydrated [ch][dhp] compared to that in buffer.

Keywords : Hydrated ionic liquids; membrane protein; Thermal denaturation temperature

膜タンパク質は創薬研究において特に重要性の高いターゲットと考えられているが取り扱いが難しく、低い安定性が問題となっている。これまでに、100°C以下に融点を有するイオン液体にわずかな水を添加して調製する”水和イオン液体”に水溶性タンパク質を溶解可能であり、溶解後の経時安定性や、熱安定性が飛躍的に向上することを報告してきた[1]。本研究では、水和イオン液体中に膜タンパク質を溶解し、構造と熱安定性の測定を行った。10本の膜貫通型 α ヘリックスから成る膜タンパク質 TehA を用い、cholinium dihydrogenphosphate ([ch][dhp])の1イオンペアあたり水分子が4、7となるよう調製した水和イオン液体と[ch][dhp]の濃度を50mMに調製した水溶液中に溶解した。CD測定により構造確認を行い、測定温度を変化させながら208nmにおけるCD強度変化を追跡した。その結果、水和イオン液体中でもbuffer中と類似のスペクトルが確認され、 α ヘリックス構造を維持していることが明らかとなった。さらに熱変性温度は、1イオンペアに水分子4となるよう調整した水和イオン液体中ではbuffer中に比べて約30°C上昇し、水和[ch][dhp]中に溶解することで熱安定性の向上が確認された(Fig. 1)。

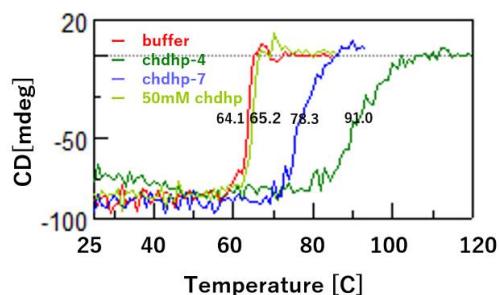


Fig.1 温度変化に伴う 208nm における CD 強度変化

[1] K.Fujita, D.R.MacFarlane, M.Forsyth, et al. *Biomacromolecules.*, 8, 2080-2086, 2007.