

# 「高温で生きる微生物」 ～そのタンパク質の折り畳み機構～

(2004年2月7日海洋研究開発機構[当時:海洋科学技術センター]第16回地球情報館公開セミナーより)

現在、海洋研究開発機構を中心に、海底を7,000mも掘削する深海掘削プロジェクトが進行中です。そうした研究は、昔は地学の領域で生物学者には関係ありませんでしたが、現在では地底深い高温の環境にも生物が見つかる可能性が大きくなっています。今日は、そうした厳しい環境で生きる生物とその可能性についてお話しします。



**丸山 正** プログラムディレクター  
極限環境生物圏研究センター  
海洋生態・環境研究プログラム

東京生まれ。東京都立大学理学部生物学科博士課程修了。海洋バイオテクノロジー研究所を経て2003年1月に海洋科学技術センター海洋生態・環境研究部(当時)部長に就任。現在の研究テーマは海洋生物の共生機構と進化。

## 生物は何度まで生きられる？

皆さんは、生物が生存可能な最高温度とはどの程度だと思いますか。生物にはそれぞれ生きるのに一番適した温度(至適生育温度)があります。人間の体内にいる大腸菌なら37℃が至適で、45℃では死んでしまいます。ほ乳瓶を煮沸滅菌したり、牛乳を60℃くらいで低温殺菌するのは、日常的には60℃以上で生きる生物はほとんどいないからです。

しかし、温泉のような高温環境にも好熱菌と呼ばれる微生物がいます。日本では、1969年に伊豆の峰温泉で76℃が至適生育温度の高度好熱菌が発見され、

しばらくはこれが生物生育温度の最高記録でした。しかし、1970年代末ごろ、深海底に350℃もの熱水が吹き出す熱水鉱床が発見され、その周辺にたくさんの生物が発見されました。1980年代になり、各地の温泉や熱水鉱床からさらに高い温度で生育する超好熱性の微生物が多数単離されるようになりました。そして、2003年に米国の研究者が報告した菌は至適生育温度が106～107℃、121℃で増殖したと報告され、これが現在の最高記録となります(図1)。

好熱菌という呼び方は、微生物を便宜上、生育温度で分類したものです。至適

生育温度が15℃以下のものは好冷菌と言います。冷蔵庫の中や極地などに生育し、20℃以上では生育できません。中温菌は20～45℃くらいが至適生育温度の一般的な菌です。好熱菌は45～80℃。そして、現在では80℃以上で生育できるものを超好熱菌、さらに120℃以上の環境にも耐えるものはスーパー超好熱菌などと呼ぶ方もいます。この分類は研究者によって多少違う場合があります。

## 微生物の進化の道筋

超好熱菌の多くは古細菌と呼ばれるグループに属します。超好熱菌以外の古細

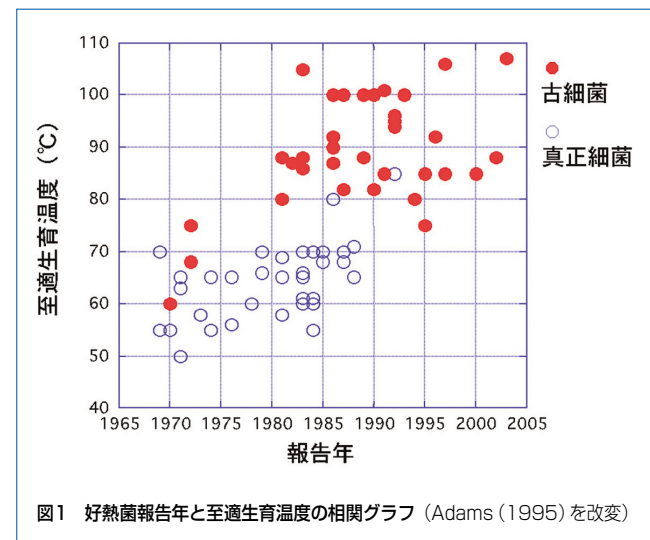


図1 好熱菌報告年と至適生育温度の相関グラフ (Adams (1995) を改変)

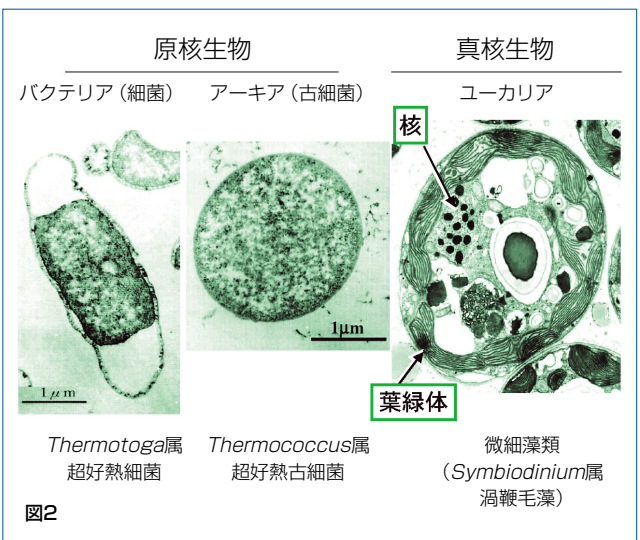


図2

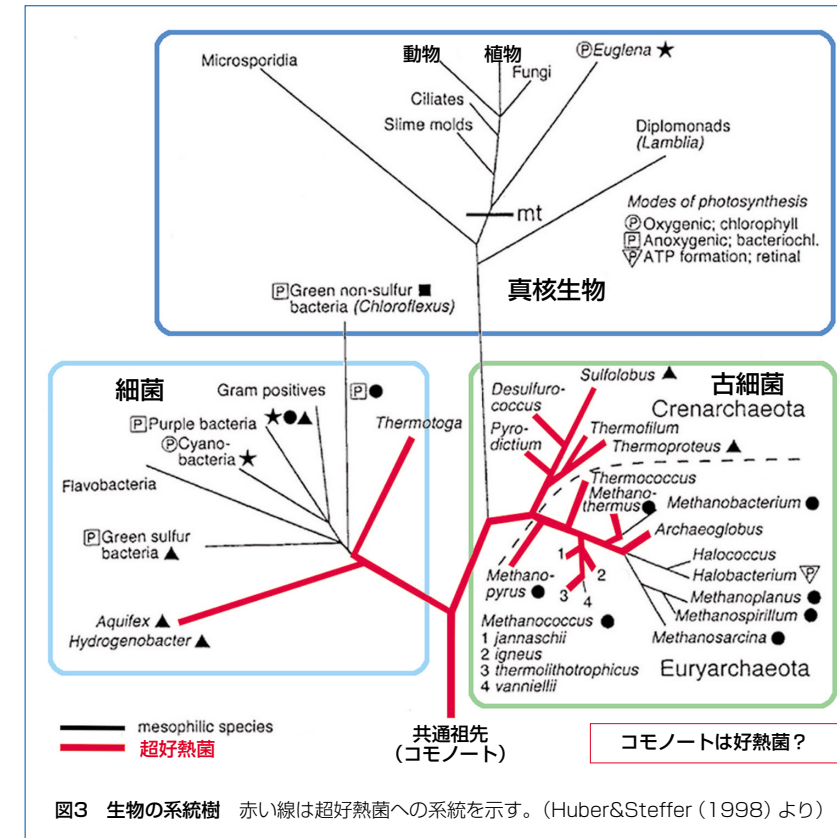


図3 生物の系統樹 赤い線は超好熱菌への系統を示す。(Huber&Steffler (1998) より)

菌には、無酸素状態でメタンを作るメタン生成菌、塩分濃度の高いところに生育する好塩菌、高温でしかも強酸の環境下に生育する好熱好酸菌などがあり、これらはその生育環境から極限環境微生物とも呼ばれます。

長らく生物の分類は、細胞の核膜の有無により真核生物と原核生物に分けられていました。しかし、その後、原核生物が普通の細菌と先に述べた古細菌に分けられることが明らかとなり、ウイルスを除くすべての生物を細菌、古細菌、真核生物の3つに分類するようになりました(図2)。すべての生物の起源は、共通祖先(コモノート)と呼ばれますが、コモノートは細菌と古細菌に分かれ、さらに古細菌から真核生物へと進化したと考えられています。現生の細菌と古細菌で系統的に近い微生物(コモノートである根元に近いところから分岐した現生の微生物)には超好熱菌が多いことから、コモノートは超好熱菌ではないかという考え方もあります。真核生物は、古細菌に好

気性細菌が住み着いてミトコンドリアになったものが動物細胞、そこにさらに酸素発生型の光合成細菌が入り込んで植物細胞へと、進化したのではないかと考えられています(図3)。

## 高温下で生育できる秘密

では、好熱菌はなぜ高温の環境で生育できるのでしょうか。これにはタンパク質が大きく関係します。卵を加熱すると卵白は白くなります。この現象をタンパク質の変性と言いますが、好熱菌のタンパク質は高温に強く変性しません。しかし、好熱菌と普通の菌のタンパク質の立体構造を比較すると大差はなく、特別なアミノ酸もありません。ただ、アミノ酸配列が少し異なり、これが好熱菌のタンパク質に耐熱性を与えていると考えられます。

タンパク質は数十個以上のアミノ酸が繋がった鎖です。DNAの塩基配列に基づいて作られたメッセンジャーRNA(mRNA)の設計図に沿って、細胞内の

リボソームでアミノ酸が繋がれタンパク質が合成されます。基本となる20種類のアミノ酸の配列によって様々なタンパク質ができるのです。しかし、長い鎖のままではタンパク質としての機能を発揮できません。鎖が特定の立体構造をとって初めて機能を発揮します。

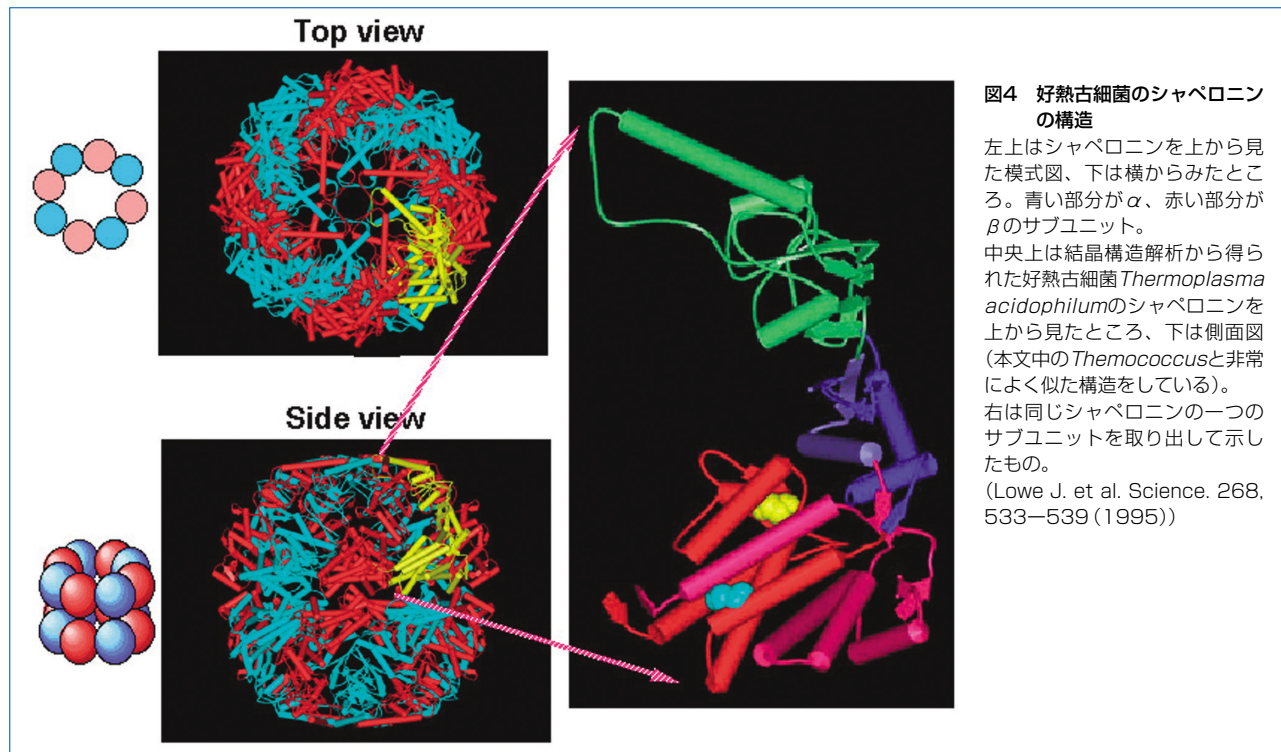
一般的な水溶性タンパク質では、タンパク質の外側は親水性、内側は疎水性になっていて水の中で安定しています。これを加熱すると、上手く納まっていた長い鎖がほどけて、水をはねるように疎水性の部分が引きつけ合って絡まります。この状態が変性です。細胞内でタンパク質が変性すると、細胞はタンパク質をもう一度折り畳むか、分解するかという選択を迫られます。そのため、細胞はタンパク質の鎖を折り畳む過程を速める酵素や、鎖が絡まるのを防ぐ分子シャペロンというタンパク質を持っています。「シャペロン」とは社交界デビューする娘を助ける「介添え役」という意味です。

1960年代にアメリカの化学者、アンフィンゼンは、変性したタンパク質は薄い濃度であれば自分自身で正しい立体構造に戻ることができると報告しています。ところが細胞の中は、様々なタンパク質で非常に混み合った満員電車のような状態です。この中でタンパク質が変性すると、タンパク質分子で混雑しているために絡まって戻れなくなってしまいます。最近、このような細胞内でのタンパク質の変性がアルツハイマー病やBSE(牛海綿状脳症)などの病気の原因になることがわかってきました。

## シャペロンの働き

タンパク質の分子シャペロンには、たくさんの種類があります。大腸菌で60種くらいと言われ、当然、高温環境に生育する菌ならさらに多くの種類の分子シャペロンを持つと思われました。しかし、ゲノム解析された超好熱古細菌には、折





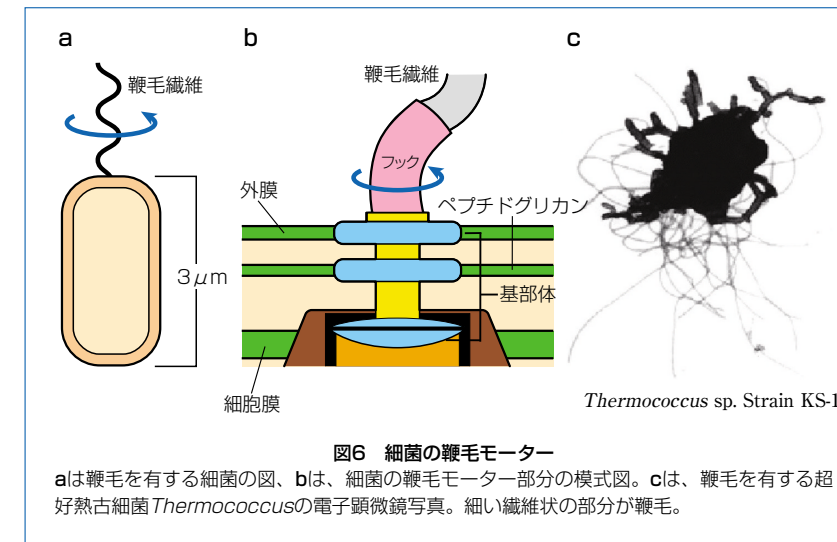
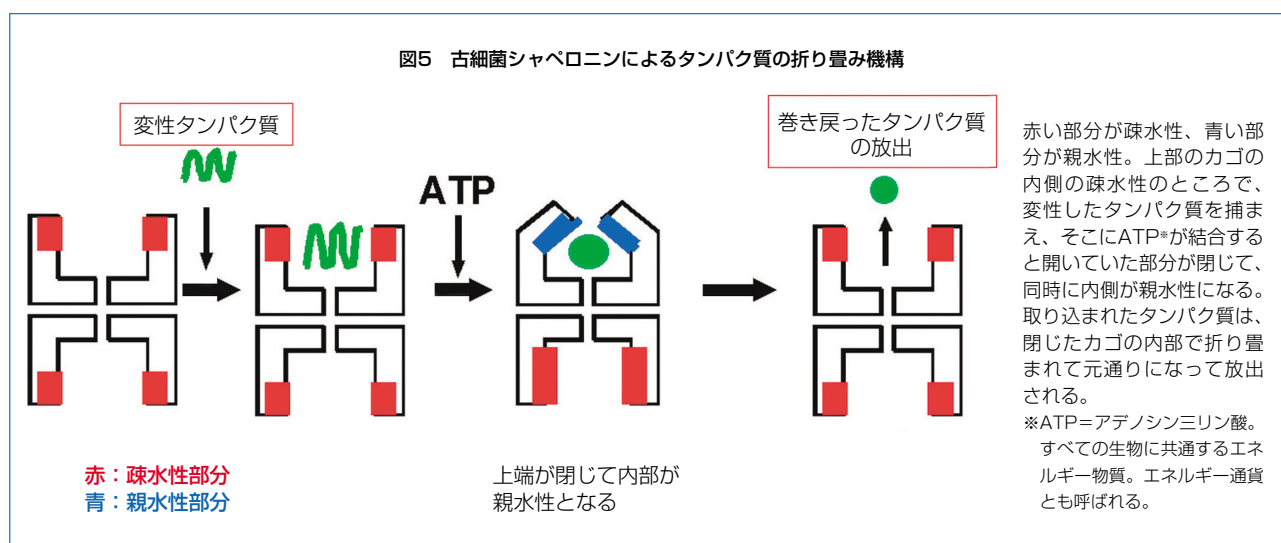
り畳みに関する因子が4つしか認められず、通常の細菌よりずっと少ないと分かりました。

代表的な分子シャペロンのひとつ、シャペロニンは、8本の柱が丸く円状に並んだサブユニットが上下に2つ組み合わさったような構造で、その上下は開いたカゴのようになっています(図4)。そのカゴに変性したタンパク質を捉えてカゴの中で修復し、正常なタンパク質として再び放出します(図5)。

*Thermococcus* (サーモコッカス) という超好熱菌にはシャペロニンのサブユニットが2種類ありました。それぞれ $\alpha$ と $\beta$ と呼びます。この菌をいろいろな温度で培養し、 $\alpha$ と $\beta$ の変化を調べると、低温では $\alpha$ が多く、高温では $\beta$ が多いという結果が出ました。さらに調べると、 $\alpha$ は低温で動く低温用の、 $\beta$ は高温で動く高温用のサブユニットであることがわかりました。この菌は生育温度によってシャペロニンのサブユニットをうまく使

い分けているのです。さらに、*Thermococcus* と非常に近縁の *Pyrococcus* (パイロコッカス) は、サブユニットが $\beta$ だけです。*Thermococcus* の至適生育温度は85℃、*Pyrococcus* は95℃で、*Pyrococcus* は高温に適応する過程で低温用の $\alpha$ サブユニットを失ったと考えられます。

タンパク質の折り畳み速度を速める酵素にはPPIase\*があります。普通のPPIaseは折り畳みの速度を速めるだけ



ですが、超好熱古細菌のものはシャペロン分子と同じ動きもします。大腸菌のタンパク質を集めた液を80℃で45分温め放置すると凝集しますが、超好熱菌のPPIaseを入れておけば凝集しません。変性したタンパク質の疎水性部分にPPIaseが付着して絡まるのを防ぎ、鎖の絡まりが戻ってきたらPPIaseは再び離れてタンパク質は元に戻ります。

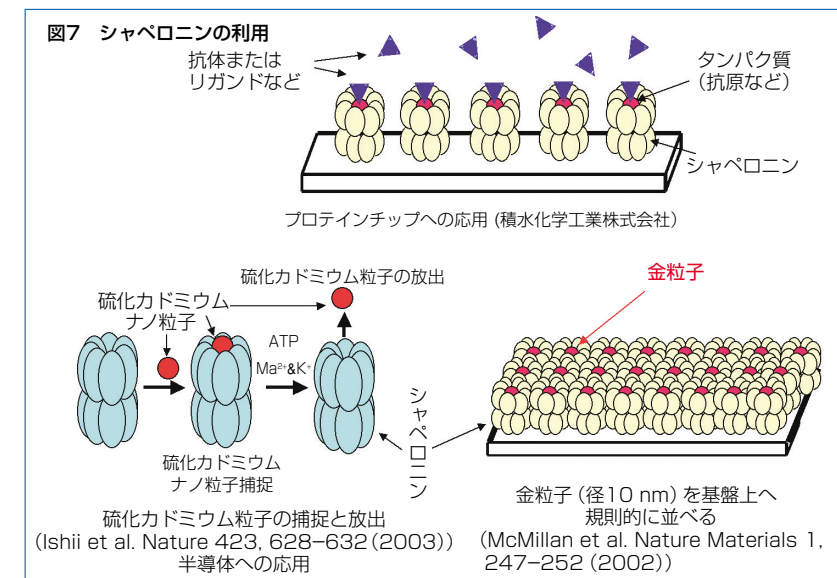
**超好熱菌利用の可能性**

では、超好熱菌由来のシャペロニンやPPIaseの機能は実社会でどのように役立つのでしょうか。

以前、ウィルスなどの増殖を抑えるイ

ンターフェロンが大腸菌を使って作ることができると話題になりました。同様に、インシュリンや成長ホルモン、そして免疫で重要な抗体なども、その遺伝子を取り出して大腸菌に組み込んで作らせることが可能です。しかし、大腸菌を用いて異種生物のタンパク質を作らせる時に、作られたタンパク質が凝集して問題になる場合があります。そこで、そのような時に分子シャペロンやシャペロン活性を有する超好熱菌のPPIaseを同時に大腸菌に作らせて凝集を防ぐことができないかという研究が進められています。

また、高温で安定してよく動く酵素はDNA鑑定などの際に利用されるDNA増



幅反応などで用いられています。DNAにDNAポリメラーゼと呼ばれる合成酵素を加え、90℃→40℃→70℃と異なる温度で加熱する作業を30回くらい繰り返すとDNAが何万倍にも増幅されるのですが、熱に弱い普通の酵素は使えません。そこで、好熱菌や超好熱菌のDNAポリメラーゼが使われています。

さらに、バイオセンサー用の酵素にも安定性の高い超好熱菌の酵素は最適です。熱に強いのでバイオセンサーを高温滅菌することも可能と思われます。近年注目されている、ナノマシンへの応用も考えられます。たとえば細菌や古細菌の運動器官である鞭毛の回転機能を、ナノサイズのモーター部品として利用しようという発想です。鞭毛は超好熱菌にもありますので、生物材料としては安定したナノマシンの開発ができるかもしれません(図6)。

ただ、(超)好熱菌の酵素の欠点として、私たち人間にとっての常温が好熱菌にとっては低温となり活性が低くなってしまふことがあります。低温でも活性が高くなるように改良できれば、さらに利用価値は高まるでしょう。

このように応用の範囲が広がると、異分野の方たちとの共同研究が重要になります。例えば、シャペロニンがタンパク質を捕まえるしくみを応用してナノレベルのタンパク質を保護する容器が作れないとか、ナノサイズの粒子を規則正しく並べるのに使おう(図7)などと考えると、物理学、化学や工学など、異分野の方々の協力が必要です。

なお、今日お話ししたことは、多くの研究者の方々と協力の賜物です。ここで記して感謝します。

\*PPIase=Peptidyl-prolyl cis/trans isomeraseの略。「ペプチド中のプロリン(アミノ酸の一種)のcis/transを変換する酵素」という意味で、1984年に発見された。