



札幌医科大学学術機関リポジトリ *ikor*

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title	氷と蛋白質との相互作用-生物の凍結回避戦略-
Author(s)	松嶋, 範男; 田中, 剛範
Citation	札幌医科大学保健医療学部紀要,第 2 号: 1-7
Issue Date	1999 年
DOI	10.15114/bshs.2.1
Doc URL	http://ir.cc.sapmed.ac.jp/dspace/handle/123456789/6584
Type	Journal Article
Additional Information	
File Information	n1344919221.pdf

- コンテンツの著作権は、執筆者、出版社等有します。
- 利用については、著作権法に規定されている私的使用や引用等の範囲内で行ってください。
- 著作権法に規定されている私的使用や引用等の範囲を越える利用を行う場合には、著作権者の許諾を得てください。

氷と蛋白質との相互作用－生物の凍結回避戦略－

松嶋 範 男¹ , 田 中 剛 範^{2, 3}札幌医科大学保健医療学部¹北海道大学大学院理学研究科生物科学専攻²札幌医科大学医学部第二生化学講座³

要 旨

北極や南極の海に生息する魚の血液中には、水が凍ることを妨げる働きをする不凍蛋白質 (antifreeze protein) が存在している。この蛋白質が過冷却を促進することによって魚は体液の凍結を防ぎ、その結果、非常に寒い気象条件下でも生きのびることができる。一方、ある細菌の表面には、水が凍ることを促進する氷核蛋白質 (ice nucleation protein) が存在している。この蛋白質が細胞外での水の凍結を促進し、細菌は自らの細胞内での致命的な凍結を防いでいる。両蛋白質とも、氷の結晶に吸着することにより機能を果たしていると考えられているが、そのメカニズムの分子レベルでの解明はまだ始まったばかりである。これらの蛋白質は、互いに似たオリゴペプチドが連続して繰り返すアミノ酸配列 (タンデムリピート) を持っており、他の多くの蛋白質にも見られる一連のタンデムリピートの構造、機能および分子進化の研究につながるものと考えている。本総説では、我々の研究を含めたこれまでの研究を概観したい。

<索引用語> 氷、不凍蛋白質、氷核蛋白質、タンデムリピート、分子動力学

はじめに

すべての生きている細胞において、水は、生命活動の主役を担う核酸分子や蛋白質分子等の存在形態の土台をなしている。さらに水は、生体内での循環過程、物質代謝、化学反応、および細胞内のpHの制御等において本質的な役割を果たしている。もし寒い気象条件下で生体内の水が凍結したならば、生物はその生体機能に致命的な打撃を受け、死に至る。しかしながら実際には、厳しい気象条件に対抗するさまざまな戦略を用いて、生物は生きている¹⁻³⁾。

北極や南極の海に生息する魚の血液中には、水が凍ることを妨げる働きを持つ不凍蛋白質 (antifreeze protein) と呼ばれる蛋白質が存在している^{4, 5)}。この不凍蛋白質が過冷却を促進することによって、魚は体液の凍結を防ぎ、その結果、非常に寒い気象条件下でも生きのびることができる。これとは逆に、ある土壌細菌の表面には氷核蛋白質 (ice nucleation protein) と呼ばれる、水が凍ることを促進する蛋白質が存在している^{6, 7)}。この蛋白質によって細胞外での水の凍結を促進することに

より、細菌は自らの細胞内での致命的な凍結を防いでいる。しかしながら、この細菌の出す氷核蛋白質は、我々人間にとっては春や秋における農作物の霜被害を大きくしている一因ともなっている。

一方、水の結晶=氷からなる雪は、気象条件によりさまざまな形態を形成することが知られている。故中谷宇吉郎博士は、“雪は天から送られた手紙である”という美しいことばを残している⁸⁾。雪を分子レベルに拡大してみると、水素原子2個と酸素原子1個が共有結合したH₂Oという分子が、縦、横、高さの三つの方向に規則正しく配列している。このように分子が三次元的に規則正しく配列したものを結晶と呼んでいる⁹⁾。この氷の結晶に不凍蛋白質や氷核蛋白質が吸着することにより、それぞれの機能を果たしていると考えられている。しかしながら、そのメカニズムの分子レベルでの解明は緒にたばかりの状態である。本総説では、分子生物学および構造生物学研究を中心にして、我々の研究を含めたこれまでの研究を紹介し、さらにこれからの研究計画についても議論したい。

水分子の結晶化（凍結）と結晶構造^{9, 10)}

一般に物質が結晶化するためには、結晶発生 の芽としての核 (nucleus) が必要である。この核 (水においては氷核) が存在しないと、水は氷点下温度でも凍結することはなく、過冷却 (supercooling) の状態を保つ。完全に純粋な水では -40℃ 付近まで凍結しないが、この温度になると水分子自体が集合してクラスター状となり、これが氷核となって凍結が始まる。この様式を均一核生成 (homogeneous nucleation) という。一方、日常我々が使う水は完全に純粋ではなく、塵や埃等の何らかの異物が混じり、それが核となって水の凍結が誘導される。この様式を不均一核生成 (heterogeneous nucleation) という。この場合、核生成の温度 T_n は -10 ~ -15℃ 程度となる。

水の結晶構造には、六方晶の構造 (I_h) と立方晶のダイヤモンド構造 (I_c) の2種類がある。立方晶の水は -100℃ 以下の低温で、しかも特殊な方法でしかつくることができない。通常我々が目にする氷は、例外なく六方晶の水である。図1は I_h の結晶構造を示す。各酸素原子は、2.76 Å 離れた最近接の4個の酸素原子と四面体配置をなしている。この水の硬い構造は、水素結合によりできている。氷結晶の四面体構造はほとんど正確に正四面体であるので、水素結合の間の角度は109度である。

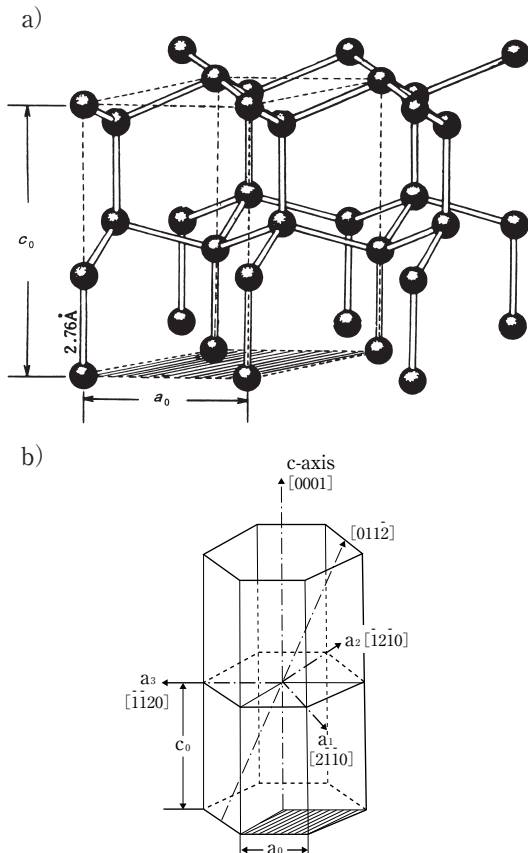


図1 氷 (I_h) の結晶構造. a) 水分子の四面体配位の様子 b) 結晶格子の模式図と、結晶軸のベクトル表現. $a_0 = 4.50 \text{ \AA}$, $c_0 = 7.32 \text{ \AA}$.

不凍蛋白質 (antifreeze protein)

冬の北極や南極の海水温度は、約 -1.9℃ になる。一般の魚の血清は、ヒトのそれと同様にほぼ -0.7℃ から -1.0℃ で凍結してしまう。しかしながら、ある種の極地魚の血清は、寒い冬の期間中、-2℃ ぐらいまで冷えても凍結しない。その原因はある種の糖蛋白質 - antifreeze glycoprotein (AFGP) - にあることが示された。その後、他の不凍蛋白質 (antifreeze protein; AFP) の存在も知られて来ている。

南極に生息するタラ科の魚 (*Trematomus borchgrevini*) の血液から精製された AFGP は、分子量の異なる、少なくとも8種類のアイソフォームとして存在している。いずれの AFGP においても、アラニン-アラニン-スレオニンのトリペプチドが連続して繰り返す配列 (タンデムリピート) を持ち、スレオニン残基の β 水酸基に糖鎖 β -D-ガラクトピラノシル (1,3)-N-ガラクトサミンが結合している (表1)。最も小さい AFGP (AFGP8) は、そのトリペプチドが4回繰り返したもの (分子量 $M_r = 2,600$) であり、最も大きい AFGP (AFGP1) はそれが55回繰り返したもの ($M_r = 34,000$) である。最近、Antarctic notothenioid fish (*Notothenia coriiceps* と *Dissostichus masoni*) の AFGP 遺伝子の塩基配列が決定され、AFGP 分子がタンデムに繰り返す巨大ポリプロテイン前駆体としてコードされていることが示された^{11, 12)}。これまでの研究から、AFGP の吸着による氷の結晶成長の阻害が、氷の凍結温度 (T_i) 降下の原因と考えられている。AFGP は、折れ曲がりやすい柔軟な立体構造をとると考えられており、アラニン残基の側鎖が疎水性側面を、糖鎖に由来する水酸基が親水性側面を形成すると推定されている。最近、ラマン測定により γ -ターン構造の存在が示された^{13, 14)}。

一方、AFP については4つのタイプが知られている (表1)。タイプ I の AFP は、アラニンが豊富に含まれた11アミノ酸残基のモチーフが連続して3回から5回繰り返した配列 (タンデムリピート) からできている (図2)。魚の winter flounder の X線結晶構造解析から、このペプチドが分子全体にわたって α -ヘリックス構造をとることが示された¹⁵⁻¹⁷⁾。イオンエッチングの研究からは、このペプチドが氷結晶の hexagonal bipyramidal 面 $\{20\bar{2}1\}$ に選択的に吸着し、その際ヘリックスの軸が $[01\bar{1}2]$ 方向に沿うように配置することが示された¹⁸⁾。さらに、エネルギー極小化によって理論的に求められた詳細な立体構造モデルは、配列中に11残基ごとに現われるスレオニンがヘリックスの同じ側面に、互いに16 Å 間隔で存在することを示した。この距離は、氷結晶の $[01\bar{1}2]$ 方向における水分子の周期間隔 (spacing) 16.6 Å に近い。このことから、スレオニンの水酸基が氷結晶中の水分子と水素結合するジッパーモデルが提案された¹⁹⁾。

表1 不凍蛋白質 (AFP) の種類

特徴	AFGP	AFP			
		type I	type II	type III	type IV
頻出する残基	炭水化物	アラニン	システイン	特になし	グルタミン
分子量 (kDa)	2.6~34	3.3~4.5	11.3~24	6	12.3
一次構造	(Ala-Ala-Thr)n 二糖	11残基のタンデムリピート レクチンタンパク質に類似			
二次構造		両親媒性 α -helix	β -sheet S-S結合	β -sheet	
魚種	antarctic cod Atlantic cod frost fish polar cod	winter flounder yellowtail flounder shorthorn sculpin grubby sculpin	sea raven smelt Atlantic herring	ocean pout wolffish	longhorn sculpin

DTASDAAAAAAL 12
 TAANAKAAAEEL 23
 TAANAAAAAAA 34
 TAR 37

図2 タイプ I AFP (winter flounder) のアミノ酸配列. 11 残基ごとのタンデムリピートが見られる.

タイプ II の AFP は、システインを豊富に含む約 160 残基からなる蛋白質である。配列解析によって、この蛋白質が C 型のレクチンとホモロジーをもつことが示された。最近、マンノース結合蛋白質 (MBP-A) を用いてホモロジーモデリングが行われ、その予測立体構造に基づいて氷と相互作用するサイトが提案された²⁰⁾。

タイプ III の AFP の立体構造は、 β -ストランドが多

い球状のフォルディングをしていることが明らかにされている²¹⁻²⁴⁾。Jia²²⁾ は、氷結晶とのドッキングモデルから、[0001] 方向にある {1010} のプリズム面とこのペプチドとの間で 5 個の水素結合の形成が可能であることを示し、AFP 中の 5 残基がこれらの水素結合に関与していると推定している。

氷核蛋白質 (ice nucleation protein)

すでに説明したように、通常水は -5℃ 以下の温度まで過冷却の状態を保ち、凍結しない。ところが、農産物に被害を与える天災の一つとしての霜害は、春の晩霜、秋の初霜のように、せいぜい地表温度が -2℃ 前後といった温和な条件下で凍結してしまうことにより起こる。この霜は、氷核活性細菌 (あるいは氷核細菌) と呼ばれ

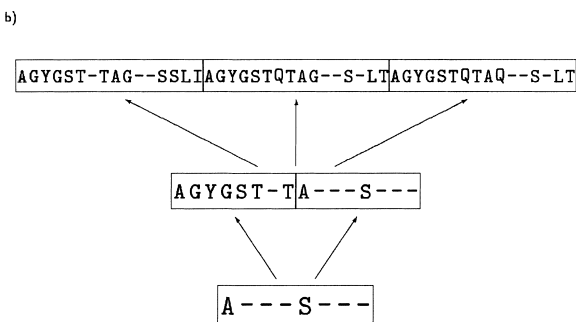
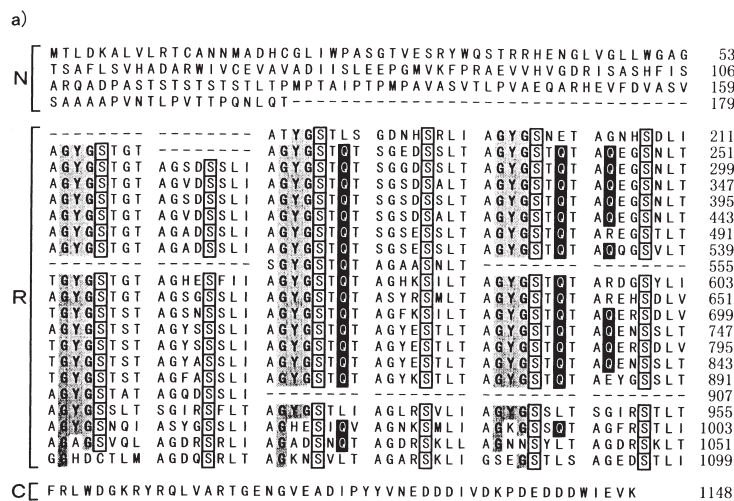


図3 I NP (*P. syringae*) のアミノ酸配列. a) 全体の一次構造. 8、16、48 残基の繰り返しモチーフを特徴づけるアミノ酸をそれぞれ枠、灰色、白抜き表示してある. b) Rドメインのリピード配列に見られる繰り返しモチーフの入れ子構造 (nested sequence). 各繰り返しモチーフは、大きなモチーフがより小さなモチーフのタンデムリピートでありながらも、それぞれ特有のアミノ酸を保持している。

る微生物によるものであることが明らかにされた。グラム陰性菌である氷核細菌は、その外膜表層に強力な氷核を持ち、 -5°C 以上の温度、場合によっては -1°C で水を凍らせてしまう。昔から知られているヨウ化銀AgIの核生成の温度 T_n は約 -8°C であると言われている。これと比較すると、氷核細菌の氷核活性はかなり強力であると言える。

最近、この氷核活性が、細菌が分泌する氷核蛋白質(ice nucleation protein; INP)によるものであることが明らかにされた。これまで、*Pseudomonas syringae*, *P. fluorescences*, *Erwina ananas*, *E. herbicola*, *E. uredovora*, *Xanthomonas campestris*の氷核蛋白質の遺伝子の塩基配列とアミノ酸配列が決定されている²⁵⁻²⁹⁾。これらはいずれも約1200~1500残基のアミノ酸からなり、互いにきわめて相同性が高い。また、いずれの氷核蛋白質も3つのドメイン構造(Nドメイン、Rドメイン、Cドメイン)に分けられるが、このうちNドメインとCドメインは、これといった特徴のないアミノ酸配列からなっている。これに対し、Rドメインには、互いに似たオリゴペプチドが延々と連続して繰り返されるタンデムリピートが存在する。さらに興味あることに、このリピート配列は入れ子構造をした配列(nested sequence)をしている。このことを、*P. syringae*のINPを例にとって説明しよう(図3)。まずこの配列は基本的に、5番目にセリン(S)を持つような8残基のモチーフが116回繰り返していることと見ることができる。しかしグリシン-チロシン-グリシン(GYG)の配列の出現パターンに着目するならば、16残基からなるモチーフが約58回繰り返すタンデムリピートであると見なすこともできる。さらにグルタミン(Q)等の出現パターンを考慮すれば、このタンデムリピートは48残基が1つの繰り返し単位となっているとも言える。

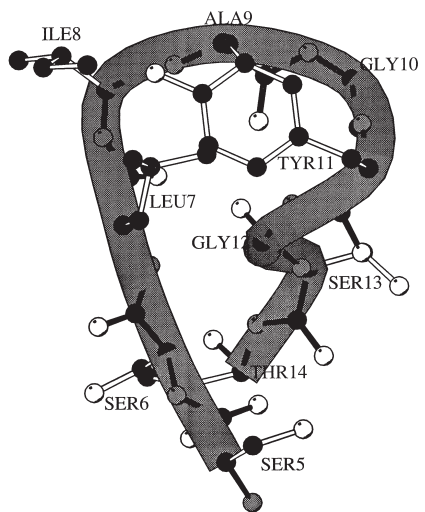


図4 INP 24中のヘキサペプチド Leu7-Ile8-Ala9-Gly10-Tyr11-Gly12が取りうるヘアピンループ構造

これまでの氷核蛋白質の立体構造研究

これまで氷核蛋白質の原子座標レベルの立体構造解析は成功しておらず、立体構造を予測する試みがなされているだけである。Warren²⁵⁾は β -シートが繰り返す三角形あるいは六角形の形をしたモデル、また、反平行の β -シートが六方晶の二重らせん状にフォールディングしたモデルも提案した。Mizuno³⁰⁾は、AGYGSTLTからなる8アミノ酸残基を代表的なモチーフとして選び、ECEPPプログラムを使ったエネルギー計算により原子座標レベルでの立体構造を求めた。その結果、二次構造として β -ターンを豊富にもちながら、8残基のモチーフが6回繰り返した48残基を一周期とする、大きならせん状構造をとると予測した。Mizunoは、表面に露出した領域の特定残基に水分子が歪みなく結合でき、しか

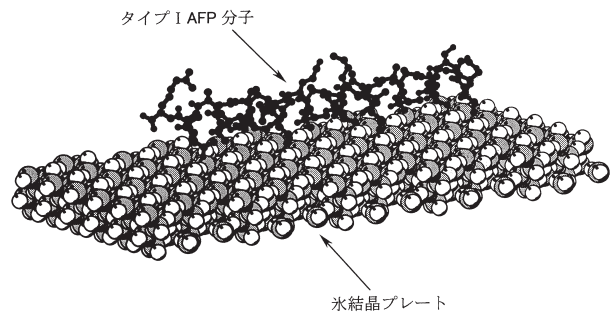


図5 タイプI AFP分子と氷結晶プレートの相互作用モデル。多数の水分子を実際の氷結晶と同じパターンで規則的に配置して氷のプレートを形成し、それをAFP分子と近接させた状態を作り出した。

も結合した水から氷晶が成長する場合も構造的に無理がないと主張している。一方、KajavaとLindow³¹⁾は、Mizunoの提案したらせん構造の中心にある空隙を批判し、 β -シートに基づいた、よりコンパクトなモデルを提案した。

核磁気共鳴法(NMR)による氷核蛋白質リピート配列の立体構造研究

最近我々は、8アミノ酸からなるモチーフが3回繰り返したペプチド(AGVDSSLIAGYGSTQTSGSDSALT; INP24)を合成し、2次元NMR測定を実行した³²⁾。各プロトン間の距離を決めるNOE測定から、Leu7、Ile8、Ala9のアリファテックプロトンとTyr11のリングプロトンが互いに近いことを明らかにした。また、Leu7のアミドプロトンのケミカルシフトの温度依存性が極端に小さいことも明らかにした。これらの結果から我々は、Leu7-Ile8-Ala9-Gly10-Tyr11-Gly12のヘキサペプチドが、これまでに予測されている β -ターンとは異なるヘアピンループ構造を取ることを提案した(図4)。

氷と蛋白質の相互作用研究におけるコンピュータの利用

蛋白質の構造研究において、分子動力学シミュレーションが飛躍的に利用されつつある³³⁾。AFP, INPにおいては3例が報告されている。しかしながら、実際に行われたシミュレーションは主として真空中および水溶液中でのものであった³⁴⁻³⁶⁾。明らかに、氷と蛋白質の相互作用を調べるには、氷結晶に吸着した状態でのシミュレーションを行う必要がある。

そこで、最近我々が構築した遺伝情報解析システムを利用して³⁷⁾、タイプIおよびタイプIIIのAFPが氷結晶に吸着した状態でのシミュレーションを行う方法を開発した(図5)。この方法により、氷結晶に吸着した状態でのAFPの構造、特に氷に吸着したアミノ酸側鎖のコンフォメーションを明らかにしたいと考えている

ま と め

生物は凍結を回避するために、不凍蛋白質や氷核蛋白質を積極的に利用している。このような現象のメカニズムを解き明かすには、分子生物学や生化学はもとより、生物物理学や結晶学等のさまざまな分野の研究者との共同研究が必須である。この分野の本格的な研究はまだ始まったばかりであるが、生命の基本的な営みのより深い理解をもたらすばかりではなく、農学や材料科学等のさまざまな分野の発展に寄与するものと期待される。

謝 辞

本研究の遂行においてサポートしていただいた加納英雄教授(札幌医大医学部)、新田勝利教授(北海道大学大学院理学研究科)、また、遺伝情報解析システムの利用に関して助けていただいた大柳俊夫助教授(札幌医大保健医療学部)に感謝致します。なお、氷核蛋白質リピート配列の核磁気共鳴法による研究は、工業技術研究所の津田栄博士および伊藤愛技官との共同研究として行われたものです。

文 献

- 1) 荒川きよし: 4℃の謎-水の本質を探る-。北海道, 北海道大学図書刊行会, 1991
- 2) 上平恒, 逢坂昭: 生体系の水。東京, 講談社, 1989
- 3) 荒田洋治: 水の本質。東京, 共立出版, 1998
- 4) Franks F: Biophysics and biochemistry at low temperatures. New York, Cambridge Univ. Press, 1985
- 5) Feeney RE, Yeh Y: Antifreeze proteins from fish bloods. Adv. Protein Chem. 32: 191-282, 1978
- 6) Hew CL, Yang DSC: Protein interaction with ice. Eur. J. Biochem. 203: 33-42, 1992
- 7) Wolber P, Warren G: Bacterial ice-nucleation proteins. Trends Biochem. Sci. 14:179-182, 1989
- 8) 中谷宇吉郎: 雪。東京, 岩波書店, 1938
- 9) 前野紀一: 氷の科学。北海道, 北海道大学図書刊行会, 1981
- 10) 黒田登志雄: 結晶は生きている-その成長と形の変化のしくみ。東京, サイエンス社, 1983
- 11) Chen L, DeVries AL, Cheng C-H: Evolution of antifreeze glycoprotein gene from a trypsinogen gene in Antarctic notothenioid fish. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 3811-3816, 1997
- 12) Hsiao KC, Cheng C-H, Fernandes IE et al: An antifreeze glycopeptide gene from the antarctic cod *Notothenia*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 9265-9269, 1990
- 13) Filira F, Biondi L, Scolaro B et al: Solid phase synthesis and conformation of sequential glycosylated polytripeptide sequences related to antifreeze glycoproteins. Int. J. Biol. Macromol. 12: 41-49, 1990
- 14) Drewes JA, Rowlen KL: Evidence for a γ -turn motif in antifreeze glycopeptides. Biophys. J. 65: 985-991, 1993
- 15) Yang DSC, Sax M, Chakrabartty A et al: Crystal structure of an antifreeze polypeptide and its mechanistic implications. Nature 333: 232-237, 1988
- 16) Sicheri F, Yang DSC: Ice-binding structure and mechanism of an antifreeze protein from winter flounder. Nature 375: 427-431, 1995
- 17) Grownwald W, Chao H, Reddy DV et al: NMR characterization of side chain flexibility and backbone structure in the type I antifreeze protein at near freezing temperatures. Biochemistry 35: 16698-16704, 1996
- 18) Knight CA, Cheng CC, DeVries AL et al: Adsorption of α -helical antifreeze peptides on specific ice crystal surface planes. Biophys. J. 59: 409-418, 1991
- 19) Chou K-C: Energy-optimized structure of antifreeze protein and its binding mechanism. J. Mol. Biol. 223: 509-517, 1992
- 20) Sonnichsen FD, Sykes BD, Chao H: The nonhelical structure of antifreeze protein type III. Science 259: 1154-1157, 1993
- 21) Sonnichsen FD, DeLuca CI, Davies PL et al: Refined solution structure of type III antifreeze protein: hydrophobic groups may be involved in the energetics of the protein-ice

- interaction. *Structure* 4 : 1325-1337, 1996
- 22) Jia Z, DeLuca CI, Chao H et al : Structural basis for the binding of a globular antifreeze protein to ice. *Nature* 384 : 285-288, 1996
- 23) DeLuca CI, Davies PL, Ye Q et al : The effects of steric mutations on the structure of type III antifreeze protein and its interaction with ice. *J. Mol. Biol.* 275 : 515-525, 1998
- 24) Chao H, Sonnichsen FD, DeLuca CI : Structure-function relationship in the globular type III antifreeze protein: Identification of a cluster of surface residues for binding to ice. *Protein Sci.* 3 : 1760-1769, 1994
- 25) Warren G, Gorotto L, Wolber P : Conserved repeats in diverged ice nucleation structural genes from two species of *Pseudomonas*. *Nucleic Acids Res.* 14 : 8047-8060, 1986
- 26) Michigami Y, Watabe S, Abe K et al : Cloning and sequencing of an ice nucleation active gene of *Erwinia uredovora*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 58 : 762-764, 1994
- 27) Warren G, Corotto L : The consensus sequence of ice nucleation proteins from *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas syringae*. *Gene* 85 : 239-242, 1989
- 28) Abe K, Watabe S, Emori Y et al : An ice nucleation active gene of *Erwinia ananas*. Sequence similarity to those of *Pseudomonas* species and regions required for ice nucleation activity. *FEBS Lett.* 258 : 297-300, 1989
- 29) Zhao J, Orser CS : Conserved repetition in the ice nucleation gene *inaX* from *Xanthomonas campestris* pv. *Translucens*. *Mol. Gen. Genet.* 223 : 163-166, 1990
- 30) Mizuno H : Prediction of the conformation of ice nucleation by conformational energy calculations. *Proteins* 5 : 47-65, 1989
- 31) Kajava AV, Lindow SE : A model of the three-dimensional structure of ice nucleation proteins. *J. Mol. Biol.* 232 : 709-717, 1993
- 32) Tsuda S, Ito A, Matsushima N : A hairpin-loop conformation in tandem repeat sequence of the ice nucleation protein revealed by NMR spectroscopy. *FEBS Lett.* 409 : 227-231, 1997
- 33) Tanaka T, Miwa N, Kawamura S et al : Molecular modeling of single polypeptide chain of calcium-binding protein p26olf from dimeric S100B ($\beta\beta$). *Protein Eng.* in press.
- 34) MacDonald SM, Brady JW, Clancy P : Molecular dynamics simulations of a winter flounder antifreeze polypeptide in aqueous solution. *Biopolymers* 33 : 1481-1503, 1993
- 35) Jorgensen H, Mori M, Kanaoka M et al : Molecular dynamics simulation of winter flounder antifreeze protein variants in solution: correlation between side chain spacing and ice lattice. *Protein Eng.* 6 : 19-27, 1993
- 36) Cheng A, Merz KM : Ice-binding mechanism of winter flounder antifreeze proteins. *Biophys. J.* 73 : 2851-2873, 1997
- 37) 大柳俊夫, 松嶋範男 : 遺伝情報解析システムの構築とタンパク質リピート配列の研究. 札幌医科大学保健医療学部紀要 1 : 1-7, 1997
- 38) Deng G, Andrews DW, Laursen RA : Amino acid sequence of a new type of antifreeze protein, from the longhorn sculpin *Myoxocephalus octodecimspinosus*. *FEBS Lett.* 402 : 17-20, 1997

Ice Interaction with Protein

Norio MATSUSHIMA¹, Takanori TANAKA^{2, 3}

Department of Liberal Arts and Sciences, School of Health Sciences, Sapporo Medical University¹,
Division of Biological Sciences, Graduate School of Science, Hokkaido University², Department
of Biochemistry, School of Medicine, Sapporo Medical University³

Abstract

To survive the freezing temperatures of the ice-laden polar and north temperate oceans, many fish inhabiting these waters synthesize biological antifreezes (AFs), which lower the freezing point of their body fluids below that of the ambient seawater. These antifreezes, either protein (AFP) or glycoprotein (AFGP), are synthesized by the liver and secreted into the blood from which they become distributed to almost the entire extracellular space. Many strains of the bacterial species, on the other hand, can catalyze the nucleation of ice at temperatures as high as -2°C . The ice-nucleating activity could prevent a fatal wound on the bacteria, which incites frost damage in many agricultural crops. Particular proteins (ice nucleation proteins; INPs) are essential for the ice-nucleating activity. Two types of proteins (AFP or AFGP and INP) function through interaction with ice. However, the molecular mechanism of the function remains unknown. This article reviews our present knowledge on the structure and mode of action of these proteins capable of ice interaction, including our recent study. Interestingly, AFGP, type I AFP and INP contain tandem repeats. This article constitutes part of our studies on the structure, function and molecular evolution of tandem repeats in proteins.

Key words : Ice, Antifreeze protein, Ice nucleation protein, Tandem repeats, Molecular dynamics simulation.