

# ビームライン BL8S3

## (有機・高分子材料分析 広角/小角散乱)

### 実施例：モータータンパク質の構造

#### 実験概要およびミオシン S1 の調製

ミオシンは筋肉などに含まれるモータータンパク質である。ミオシンの頭部ドメイン（サブフラグメント-1, S1）には ATP 結合部位とアクチン結合部位があり、モーター機能の最小単位となっている。ニワトリ胸筋よりミオシンを単離し、これをパパイニン処理することで S1 頭部ドメインを得た。S1 溶液には、光異性を示し ATP と構造の類似した化合物 SPETP (spiropyran-ethyl triphosphate) を加えて、S1 と結合させた。外部からの光刺激で異性化する SPETP の状態と S1 の構造変化との関連を X 線小角散乱実験により調べた。

#### X 線小角散乱測定

ビームライン BL8S3 において X 線小角散乱測定を行った。S1 試料は濃度 5 mg/ml を用いた。SPETP は測定直前に紫外光もしくは可視光を照射し、メロシアニン状態およびスピロ状態に変化させた。試料を厚さ 3 mm の溶液試料セルに注入し、X 線のエネルギー 13.9 keV (波長 0.09 nm)、カメラ長約 2200 mm、露光時間は 60 秒として検出器 Pilatus100K を用いて測定を行った。得られた散乱像は FIT2D プログラムにより一次元化し、入射 X 線強度で規格化した後、溶媒の散乱との間で差を取った。この散乱強度に対してギニエプロットおよび構造モデリングによる解析を行った。

#### 測定結果

ミオシン S1 は ATP 加水分解反応と共役した構造変化を示すことが知られており、構造変化はモーター機能の力発生と直接関連していると考えられている。光照射で SPETP がメロシアニン状態、スピロ状態へと変化した時の、S1 の構造変化をはじめにギニエプロットにより調べた。タンパク質溶液の小角散乱は、単一の分子が溶液中に無配向に存在する系の測定である。ギニエプロットは散乱強度の対数値を散乱ベクトルの大きさの二乗に対してプロットしたもので、小角領域では分子の構造に関わらず直線で近似できるものである。また近似直線の傾きは分子の構造の 2 次モーメント量である慣性半径を与える。測定した S1 の散乱強度から求めた慣性半径は、SPETP の光異性化に伴いメロシアニン状態とスピロ状態の間で約 1 Å 変化したことがギニエプロットにより示された (図 1)。

また、観測された散乱強度をもとに ab initio 三次元構造予測を行い、S1 の構造モデルを得た (図 2)。空間平均化された散乱強度は直接的に構造を与えないが、モデル構造から散乱強度を考えることで間接的に考察することが出来る。ここでは低分解能の小角散乱モデルを構築した。あらかじめ決められた空間内で球の数を増減させて自由な構造を表現できるモデル構造を、散乱強度と最もよく一致するように最適化するソフトウェアを利用した。

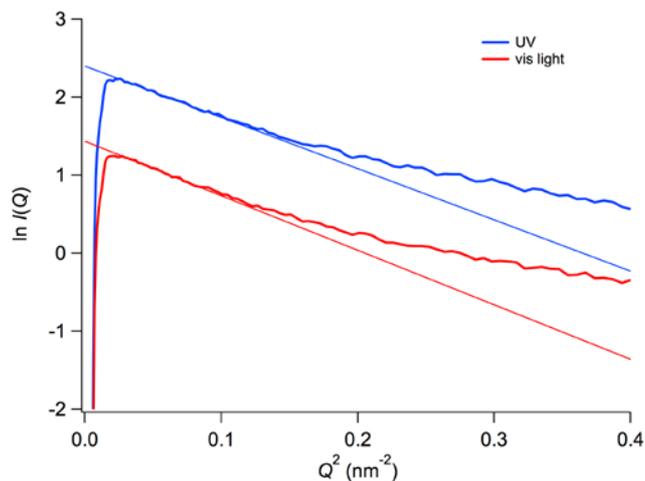


図 1 SPETP-S1 のギニエプロット。小角領域での近似直線から慣性半径を求めた。Q<sup>2</sup>に対して ln I(Q)をプロットすると、その近似直線の傾きから慣性半径が求められる。S1 に結合した SPETP をメロシアニン状態 (UV) からスピロ状態 (vis light) に変化させると慣性半径は約 1 Å 増加した。

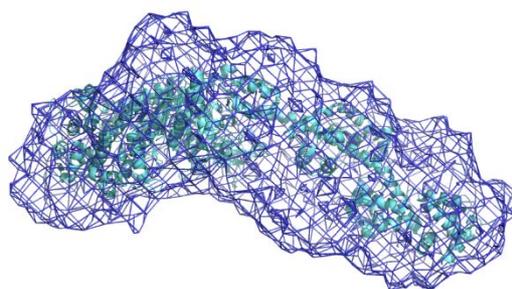


図 2 小角散乱より得られた S1 のモデル構造と結晶構造。散乱強度を満足するような球小角散乱モデルをソフトウェアにより構築し、メッシュで示した。X 線結晶構造解析によるリボンモデルも同時に示してある。小角散乱による低分解能モデルに結晶構造解析の原子モデルをスーパーインポーズした。スピロ状態の小角散乱モデル構造は、結晶解析の原子構造とほぼ同等である。