



フォトクロミック分子を結合した ミオシン頭部ドメインのX線小角散乱

杉本泰伸¹、林沙也加²、丸田晋策³、加藤一徳⁴

- 1) 名古屋大学シンクロトロン光研究センター、2) 名古屋大学大学院工学研究科、
3) 創価大学工学部、4) あいちシンクロトロン光センター

1. 測定実施日

2013年10月17日 10時00分 – 18時30分 (2シフト), BL8S
2013年11月26日 10時00分 – 18時30分 (2シフト), BL8S
2013年12月19日 10時00分 – 18時30分 (2シフト), BL8S
2014年2月12日 10時00分 – 18時30分 (2シフト), BL8S

2. 概要

フォトクロミック分子をATPアナログとしてモータータンパク質に結合させ、加水分解中の構造変化を調べた。光照射で生じるフォトクロミック分子の構造変化により、ミオシン分子のグローバルな構造変化がX線小角散乱実験から明らかとなった。これはUV照射により慣性半径が1.5 Å増加するものであった。

3. 背景と研究目的

ミオシン頭部ドメインはサブフラグメント-1 (S1) と呼ばれ、筋収縮において力発生を担うモータータンパク質である。S1はATP結合部位を持ち、ATPの加水分解により得られる化学エネルギーを収縮の力学エネルギーへと変換する。分子内で生じるATPの加水分解はS1の構造変化と共役することでアクチン繊維上の変位を生み出すと考えられている。

フォトクロミック分子は、ATP類似物質としてタンパク質と相互作用する[1]。最近共同研究者により合成されたフルギド化合物の誘導体はS1と結合能を持ち、可視光と紫外線によって開環構造と閉環構造を可逆的に変化させる。本課題ではこのフォトクロミック化合物とS1の複合体の構造をX線小角散乱で調べることが目的とする。S1の構造はモーター機能と直接関係があると考えられており、一方、フォトクロミック化合物は光照射によってその構造を変化させる。S1と結合したATP類似物質であるフォトクロミック化合物を光照射により変化させることにより、フォトクロミック分子と結合したミオシンの構造に関する基礎的な知見を得ることを目的とする。

4. 実験内容

骨格筋よりミオシンを単離し、S1 頭部ドメインを調製した溶液で X 線小角散乱測定を行う。試料溶液セルは光路長 1 mm でマイカ窓を持つ。BL8S3 を利用し、カメラ長約 2200 mm、波長 1.5 Å の条件で、Pilatus100K 検出器の露光時間は一測定あたり 180 秒とした。ミオシン S1 はヌクレオチドを含まない溶液条件のものをコントロールとし、ここにフォトクロミック分子であるフルギミド化合物 5 mM を加えてミオシンと結合させ、測定直前に可視光、または紫外線を照射して小角散乱実験を行った。

5. 結果および考察

測定した 2 次元の散乱パターンを円環平均し、1 次元の散乱曲線を得た。溶媒との差を取り S1 分子の散乱を求めたあと、ギニエ解析を行って慣性半径を求めた (Fig1)。濃度シリーズの測定から求めたゼロ濃度希釈溶液での慣性半径は、可視光条件で 50.9 Å、UV 条件では 52.5 Å と得られ、光照射による構造変化が観測された。さらに、散乱曲線から 3 次元構造をモデル化し、低分解能構造モデルを導出した結果、分子全体が伸展するようなグローバルな構造変化を示した。これらの結果は、ATP 加水分解過程の構造を調べた結果との対応から、異なった中間状態でトラップされていることを示唆するものであった。

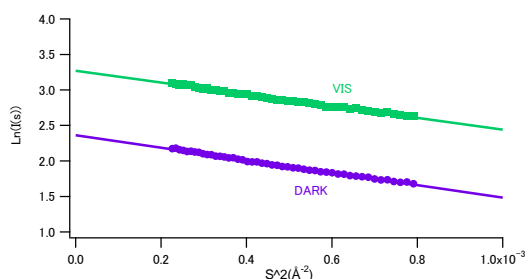


Fig.1 可視光条件と UV 条件下での S1 のギニエプロット

6. 今後の課題

フルギミド化合物にリン酸アナログを加えることで、反応中間体の各要素での構造を調べることが可能となる。フォトクロミック分子における中間体の構造が ATP 加水分解反応とどのように異なるのかを明らかにし、グローバルな構造を外部からコントロールすることによるタンパク質機能の制御を目指す。

7. 参考文献

[1] Shishido, H., Ikebe, M., & Maruta, S. (2011). *Biophysical Journal*, 100, 487.