



Ras タンパク質多量体化の構造解析と生理的機能との関係

杉本泰伸¹、高橋由芽²、橋本貴志³、丸田晋策³

1 名古屋大学シンクロトン光研究センター、2 名古屋大学工学部、3 創価大学大学院工学研究科

1. 背景と研究目的

細胞内において情報伝達の経路選択を担うタンパク質である Ras は、分子量~20 kDa の比較的小さなタンパク質であり、その情報伝達過程において GTP 加水分解反応と多量体構造の変化が重要であることが分かっている。共同研究者である丸田らは光応答性ナノデバイスによる Ras の化学修飾と光刺激に関する研究を行い、多量体形成の人工的な光制御の可能性を示した [1]。本研究課題では、蛍光プローブおよび光応答性ナノデバイスを用いた Ras の多量体形成の構造的学知見を X 線小角散乱法で得ることを目的とする。

2. 実験内容

Ras タンパク質の C 末端領域を光応答性ナノデバイスであるケージド化合物で化学修飾することで、タンパク質が多量体化することが見いだされた。そこでさらに、C 末端を蛍光プローブで同様に修飾することで、多量体が誘導されて蛍光特性の変化から蛍光標識部位同士で会合しているかどうかを調べている。このように蛍光プローブで標識した Ras タンパク質の多量体と、ケージド化合物で誘導される多量体とが同様の会合様式を持っているのかどうかを、X 線小角散乱法により調べる。実験は蛍光プローブ標識した Ras と単量体 Ras の溶液構造を調べ、ケージド化合物で化学修飾した Ras の散乱強度と比較する。

3. 結果および考察

小角散乱測定は単体である Ras、蛍光標識を修飾した DACM-Ras、および標準試料として ovalbumin に対して行い、それぞれの濃度シリーズを測定した。小角領域のギニエプロットにより、各濃度において試料の慣性半径および原点散乱強度 $I(0)/c$ を求めた。得られた原点散乱強度の濃度依存性を調べ、ovalbumin を標準とした相対値から分子量を求めた。その結果、求められた分子量比は、DACM-Ras が 7 量体を形成しているものであった。またこの時の DACM-Ras の慣性半径は 15 nm となった。これらのことから、今回の実験では DACM-Ras がアグリゲーションを生じてしまい、一定の構造をとっていないことが示唆された。クロマトグラフィーから予想された DACM-Ras の多量体構造とも大きく離れており、多量体は形成しているが、それらがさらに会合して巨大な集合を作っていると予想される。今後は溶液条件の見直しなどを行い、分子会合の起こらない条件で再度測定する予定である。

4. 参考文献

1. S. Iwata et al., *Biophys. J.* 110, sup.1, 168a (2016).

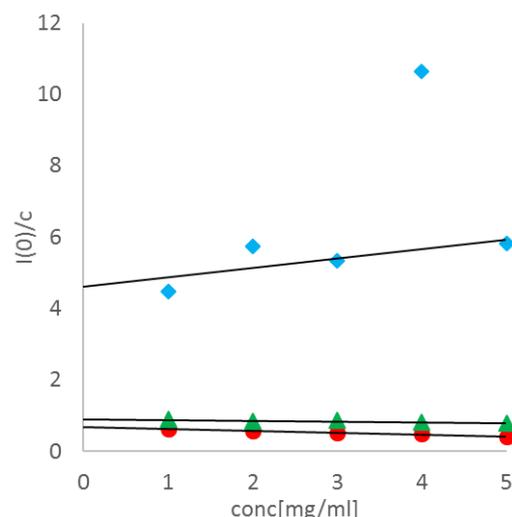


Fig 1 ギニエプロットから得られた $I(0)/c$ の濃度依存性。◆が DACM-Ras、●は単体の Ras、▲が ovalbumin を示す。