



X線小角散乱によるアクチン結合タンパク質の溶液構造の解明

武田修一¹，杉本泰伸²

名古屋大学

¹理学研究科附属構造生物学研究センター，²シンクロトロン光研究センター

キーワード：アクチン，フラグミン，カルシウム制御，X線小角散乱

1. 背景と研究目的

フラグミンは真正粘菌に含まれるマルチドメインタンパク質で、カルシウムイオンによって活性化され、細胞骨格タンパク質アクチン繊維を切断する。フラグミンは哺乳類のゲルゾリンと高い相同性を持つ。ゲルゾリン、及びその相同タンパク質は、type-1（ゲルゾリンドメインとアクチン間）、及び type-2（ゲルゾリンドメイン内部）として知られる二種のよく保存されたカルシウム結合部位を持つ。我々はカルシウム存在下で、フラグミンのドメイン 2-3（F2-F3）の単結晶を得ることに成功した。あいち SR BL2S1 による X 線回折測定実験によって、その原子構造を 1.85 Å 分解能で決定した(BL2S1 成果報告書 2017N4006, 5004 参照)。得られた構造はゲルゾリンの相同ドメインの結晶構造と基本的に似ていたが、驚くべきことに、F2-F3 には type-1、type-2 とは異なる新たな部位、二つのドメインの間、へのカルシウムイオンの結合が観察された。F2-F3 のカルシウム非存在下での結晶化には成功していない。そこで本研究課題では、フラグミンのカルシウム制御機構の理解を深めるために、X 線小角散乱法によって、カルシウム有無の各条件下で F2-F3 の溶液構造を計測することを目的とした。

2. 実験内容

大腸菌発現系により精製したフラグミン F2-F3 を測定試料とした。タンパク質濃度 1-3 mg/ml で、0 mM (-Ca) もしくは 0.1 mM CaCl₂ (+Ca) を含む条件で、BL8S3 において溶液試料セルを用いた小角散乱実験を行なった。カメラ長 2.18 m、X 線波長 1.50 Å、検出器として PILATUS 100 K を用いて露光時間 90 秒で測定した。散乱強度は溶液散乱との差をとり、ギニエプロットを行なって慣性半径を求めた。

3. 結果および考察

各濃度での慣性半径のプロットを図に示す。Y 軸外挿によって得られた慣性半径は、それぞれ 2.15 ± 0.079 nm (-Ca)、2.07 ± 0.037 nm (+Ca)であり、F2-F3 の溶液構造はカルシウム存在下でややコンパクトとなるが、変化は誤差の範囲内であった。この結果は新規部位へカルシウムが結合しても、F2-F3 の構造には大きな影響を与えないことを示す。今後は F1 ドメインを含む全長フラグミンを用いて、同様の測定を行う予定である。本研究の成果は参考文献 1 で報告した。

4. 参考文献

1. Novel inter-domain Ca²⁺-binding site in the gelsolin superfamily protein fragmin

Shuichi Takeda*, Ikuko Fujiwara, Yasunobu Sugimoto, Akihiro Narita, Toshiro Oda, Yuichiro Maéda

J Muscle Res Cell Motil, (2019)

DOI: 10.1007/s10974-019-09571-5

