



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

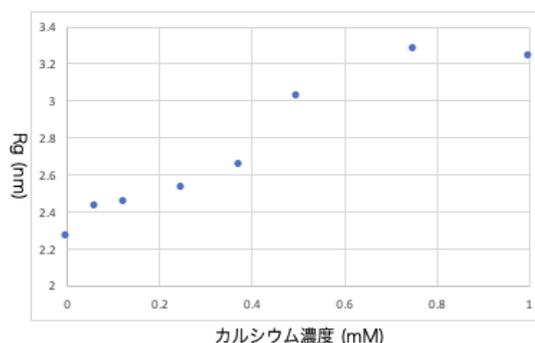
フラグミンは真正粘菌に含まれるマルチドメインタンパク質で、細胞骨格タンパク質アクチン繊維を切断する活性を持つ。フラグミンは哺乳類のゲルゾリンと高い相同性を持つ。ゲルゾリン様タンパク質のアクチン繊維切断活性は、カルシウムによって制御されており、type-1 (ゲルゾリンドメインとアクチン間)、及びtype-2 (ゲルゾリンドメイン内部) の二種のよく保存されたカルシウム結合部位が知られていた。我々は、あいちSR BL2S1を利用したX線単結晶構造解析によって、フラグミンは上述のゲルゾリン様タンパク質に共通の部位以外にも、カルシウムを結合することを明らかにした。このことは、フラグミン特有のカルシウムによる活性制御機構の存在を示唆する。前回のBL8S3でのX線小角散乱測定で、フラグミンF2-F3ドメインの溶液構造を、カルシウム存在下・非存在化で比較したところ、両条件間で大きな違いはないことが明らかとなった(文献1)。次の目標として、カルシウムが全長フラグミンの溶液構造に与える影響を明らかにしたい。このために、まずフラグミン濃度を一定として、各種カルシウム濃度下で散乱強度を測定し、慣性半径を比較した。

2. 実験内容

大腸菌発現系により精製した全長フラグミンF1-F3を測定試料とした。タンパク質濃度を4.5 mg/mlとし、遊離カルシウム濃度を0 mMから1 mMまで振った。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 R_g を求めた。

3. 結果および考察

各カルシウム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、カルシウム非存在下ではおよそ2.3 nmであったが、溶液中にカルシウムを添加することで最大3.3 nmに増大した。この結果は、全長フラグミンはカルシウム非存在下では比較的コンパクトな構造をとるが、カルシウムの結合によって”開き”、アクチン結合部位が露出されることで繊維切断能を獲得する、というモデルを支持する。これはゲルゾリンG1-G3ドメインの活性制御機構とは異なる。分子形状や会合状態についての詳細は現在解析中である。



4. 参考文献

- Novel inter-domain Ca^{2+} -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