



# 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<sup>1</sup>，杉本泰伸<sup>2</sup>

名古屋大学

<sup>1</sup>理学研究科、<sup>2</sup>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存在する三つのドメインからなるゲルゾリン様タンパク質で、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。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いる。昨年度のBL8S3でのX線小角散乱測定で、フラグミン濃度を一定として、各種カルシウム濃度で溶液構造を比較したところ、カルシウム濃度の上昇に伴い、慣性半径  $R_g$  が增大することがわかった。この結果は、フラグミンはカルシウム非存在下ではコンパクトな構造をとるが、カルシウムの結合によって各ドメインの相対配置が変わり、分子が”開く”ことでアクチン結合部位が露出され、繊維切断能を獲得する、というモデルを支持する。上述の実験では、最高1 mMの遊離カルシウム濃度で測定を行ったが、さらに高濃度のカルシウム存在下で異なる溶液構造を取る可能性がある。そこで、今回の測定では、さらに高濃度の溶液中カルシウム3 mM（遊離カルシウム濃度2 mM）の条件下におけるフラグミン溶液構造を検討した。

## 2. 実験内容

大腸菌発現系を用いて精製した全長フラグミンを測定試料とした。溶液中カルシウム濃度を0, 1, 2, 3 mM（カルシウムキレート剤であるEGTAを1 mM含むため、遊離カルシウム濃度は図中に表示した濃度から1 mM差し引いた濃度）とし、タンパク質濃度は0, 1.5, 3, 4.5, 6 mg/mlとした。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

各種タンパク質・カルシウム濃度における、Y軸外挿によって得られたフラグミンの慣性半径  $R_g$  のプロットを図に示す。 $R_g$  値は溶液中カルシウム濃度が2 mM（青）、3 mM（緑）の場合で共に3.3 nm程で変わらなかった。このことは、カルシウムによるフラグミンの活性化は、溶液中カルシウム濃度が2 mMの条件で既に飽和し、これ以上の構造変化は起こらないことを示す。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  $\text{Ca}^{2+}$ -binding site in the gelsolin superfamily protein fragmin  
Shuichi Takeda\*, Ikuko Fujiwara, Yasunobu Sugimoto, Akihiro Narita, Toshiro Oda, Yuichiro Maeda  
*J Muscle Res Cell Motil*, **41**, 153-162 (2020)

