



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^{1,2}, 丸田晋策³, 森田大貴², 渡邊智基²

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

キーワード : X 線小角散乱, 細胞内情報伝達, Ras

1. 背景と研究目的

低分子量 G タンパク質 Ras は、細胞の増殖、分化、アポトーシスなどを制御する情報伝達の経路選択を担うタンパク質である。先行研究により Ras の C 末端領域を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。さらにケージド化合物を紫外光刺激により遊離させると、多量体を形成した Ras が単量体へと解離することが SEC-HPLC により示唆された。本研究では、Ras 多量体の構造および光刺激による変化を X 線小角散乱法で解析することを目的とする。

2. 実験内容

H-Ras を大腸菌発現系により発現精製した。C 末端 HyperVariable Region にあるシステイン残基をケージド化合物 2-Nitrobenzyl Bromide (NBB) により修飾した。測定試料は NBB 修飾しない単量体の Ras(monomer)、NBB 修飾した NBB-Ras(-UV) および紫外線を照射した NBB-Ras(+UV) の 3 種類を用いた。タンパク質濃度は 1–5 mg/mL とし、BL8S3 において溶液試料セルを用いた小角散乱実験を行った。カメラ長は ~1000 mm、X 線波長 0.15 nm、検出器に Pilatus 100K を用いて露光時間 180 秒で測定した。散乱強度は溶媒散乱との差をとり、ギニエプロットを行って慣性半径、原点散乱強度を各濃度で求めた。試料検出器間のカメラ長が短い条件で測定を行いより広角までの散乱強度関数を得ることで、構造モデルの構築のためのデータとすることを目的とする。

3. 結果および考察

Ras 試料のギニエプロットを行い、そこから求められる慣性半径、原点散乱強度の濃度依存性を求めた。これらの値はこれまでにあいち SR において行った実験（課題番号 201706071）と同程度の値を示した。構造モデルを求めるための実験として、広角までの散乱強度を観測できる条件での測定を行った。2 台の Pilatus 検出器を用いて $q \sim 4 \text{ nm}^{-1}$ までの散乱強度を得た。Figure 1 に濃度シリーズで測定した Ras(monomer) の散乱強度を示した。濃度は 1-5 mg/mL である。NBB-Ras についても同様の測定を行った。得られた散乱強度から観測値を満足する構造モデルの構築を現在行っている。モデルは *ab initio* 法による球充填構造と、Ras の結晶構造を用いた剛対モデルの二通りの手法で試みている。これらの結果が得られることで、NBB-Ras の多量体形成の詳細、特に多量体界面についての情報が明らかとなることが期待される。

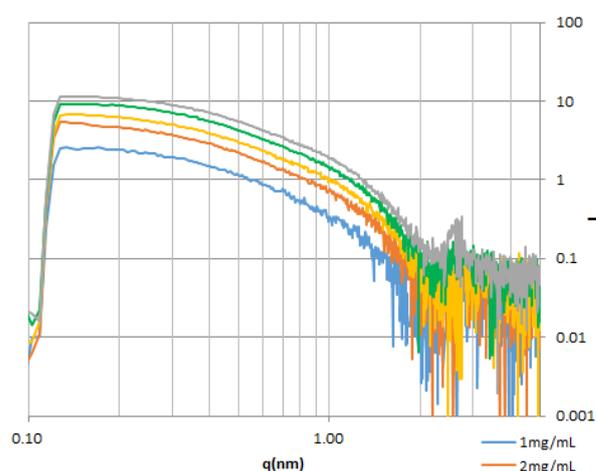


Figure 1 得られた散乱強度の濃度シリーズ