

## 磁気受容体候補 ISCA1 の構造可変性と多量体化

### Structural changeability and oligomerization of the magnetoreceptor candidate ISCA1

新井栄揮<sup>1,\*</sup>, 清水瑠美<sup>1</sup>, 安達基泰<sup>1</sup>, 味戸聡志<sup>2</sup>, 平井光博<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(国)量子科学技術研究開発機構, 〒319-1106 茨城県那珂郡東海村大字白方 2-4

<sup>2</sup>(国)日本原子力研究開発機構, 〒319-1195 茨城県茨城県那珂郡東海村大字白方白根 2-4

<sup>3</sup>群馬大学大学院理工学府, 〒371-8510 群馬県前橋市荒牧 4-2

Shigeki ARAI<sup>1,\*</sup>, Rumi SHIMIZU<sup>1</sup>, Motoyasu ADACHI<sup>1</sup>, Satoshi AJITO<sup>2</sup> and Mitsuhiro HIRAI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology,  
2-4 Shirakata, Tokai, Ibaraki 319-1106, Japan

<sup>2</sup>Japan Atomic Energy Agency, 2-4 Shirakata-Shirane, Tokai, Ibaraki 319-1195, Japan

<sup>3</sup>Graduate School of Science and Technology, Gunma University, 4-2 Aramaki, Maebashi, Gunma  
371-8510, Japan

Cryptochromes (Crys) in some species like cIcCry4 of *Columba livia* act as the quantum magnetic sensors. However, it is unclear where and how the cIcCry4 receives the magnetic information and transmits it to perception. The Fe-S cluster assembly 1 homolog cIIISCA1, which interacts with cIcCry4, is one of the candidates that may assist the magnetic response and/or the signal transduction of cIcCry4. By SAXS analysis, we revealed that the native structure of cIIISCA1 is changeable between the globular and the rod-like shapes. This structural change affects the affinity of cIIISCA1 for Fe-S cluster, and consequently the magnetoreception reaction of the cIcCry4/cIIISCA1 complex might be controlled.

#### 1 はじめに

渡り鳥を始めとする多くの磁覚保有種の網膜細胞には、磁気を感じ取る特殊な蛋白質クリプトクロム (CRY) が存在する。青色光吸収によって CRY 内のフラビン補酵素 (FAD) が励起されると、Trp から FAD へ電子が移動し、FAD と Trp で構成されるラジカル対を生じる。このラジカル対の電子ペアが磁場の影響を受けて電子スピン選択的な化学反応が誘導されることが磁覚の起点になると推測されている[1,2]。しかし、CRY が磁気を検出する反応場や、CRY から磁気情報を神経系に伝達する機構などは明らかにされておらず、磁覚の機構は多くの謎に包まれている。

2016 年、鉄硫黄 (Fe-S) クラスター輸送蛋白質の一つである ISCA1 (旧名 MagR) が CRY と複合体を形成しうることが明らかになり、その複合体が青色光照射時に 0.4~10G 程度の弱磁場に対して配向する現象が発見された[3]。磁覚保有種・カワラバト由来 CRY/ISCA1 複合体 (cICRY4/cIIISCA1 複合体) の電子顕微鏡像からは、cICRY4 が cIIISCA1 自己会合体上を螺旋状に配置すると推測されている[3]。これらの特徴から、cIIISCA1 は cICRY4 の磁気情報受容を補助する、もしくは、cICRY4 からの磁気情報伝達を仲介する物質の候補の一つに挙げられている。しかし、現在、その説には多くの異論もある[4-6]。特に、ISCA1 の構造・物性が殆ど明らかにされていないことが、当該研究分野の大きな課題となっている。これらの背景から、本課題では cIIISCA1 の構造・物性の基礎的知見の取得を目的とした実験を実施した。

#### 2 実験

大腸菌の遺伝子組換えにより cIIISCA1 を作製し、7 種類の結晶化条件で得られた結晶を用いて X 線結晶回折測定を実施したが、いずれも回折点がブロードで、且つ、回折分解能が不十分であり (約 10~20 Å)、結晶構造解析が可能なデータが得られなかった。そこで計画を変更し、溶液状態において X 線小角散乱 (SAXS) 測定を行った。また、得られた SAXS データをプログラム *Oligomer* [7] により解析し、cIIISCA1 の会合構造の決定を試みた。cIIISCA1 の相同蛋白質としては 1X0G (相同性: 29.3%) が PDB に登録されている。1X0G は chain A, B, C, D からなるホモ 4 量体が生物学的単位であるが、同一のアミノ酸配列でも chain A, C は球状、chain B, D は棒状のプロトマーを構成している。そこで、*Oligomer* 解析に必要となる cIIISCA1 プロトマーの分子モデルとして、分子モデリングプログラム *Rosetta* [8,9] の *Ab Initio modeling* から球状モデル (Type-A) を、同プログラムの *comparative modeling* から棒状モデル (Type-B) を構築した。更に、それらのプロトマーモデルを 1X0G 等の相同蛋白質の結晶パッキングを則して配置することで cIIISCA1 自己会合体モデルを構築し、*Oligomer* 解析に利用した。

#### 3 結果および考察

図 1 に 1.6~6.9 mg/mL cIIISCA1 試料溶液を用いて得られた散乱曲線  $I(q)$  を示す。これらの  $I(q)$  の Guinier 領域 ( $q \cdot R_g < 1.3$ ) から回転半径  $R_g$  及び断面方向の  $R_c$

を算出した結果、 $R_g$  は 24 Å から 28 Å へ濃度依存的に増加する傾向があるのに対し、 $R_c$  はほぼ一定 (10.5±0.5 Å) であった (図 2)。この結果は、cIISCA1 濃度の増加とともに会合が進行し、会合体が一軸方向へ伸長することを示唆している。更に、図 1 の  $I(q)$  に対して上記 *Oligomer* プログラムによる解析を行い、試料溶液中に含まれる cIISCA 自己会合体の組成を調べた (図 3)。その結果、試料溶液中には Type-A によって構成される 4 量体以上の自己会合体が含まれることが明らかになった。一方、Type-B の自己会合は 2 量体に止まることが明らかになった。また、Type-A/Type-B 複合体は検出されなかった。cIISCA1 の分子モデリングでは、Type-A 自己会合体の分子間界面に Fe-S クラスター結合部位が形成されることが示唆された。一方、Type-B 自己会合体 (2 量体) には Fe-S クラスター結合部位が形成されないと推察された。

#### 4 まとめ

Type-A の自己会合は、cIISCA1 の起磁力・帯磁率を向上しうる多くの Fe-S クラスターの結合を可能にすると考えられる。また、Type-A 自己会合体の異方的な柱状構造と、会合体長軸に沿った Fe-S クラスターの配置は、cICRY4 との複合体形成時における磁場配向性の要因となる可能性がある。一方、cIISCA1 の Type-B への構造可変性は、Fe-S クラスターとの親和性の制御や同クラスターの輸送・転移に必要な機能であると考えられる。この構造可変性は、cIISCA1 の結晶性を低下させる一因である可能性もある。今後、磁場印加による cIISCA1 の溶液構造・分子挙動への影響を SAXS 等により明らかにする予定である。

#### 謝辞

本研究は JSPS KAKENHI Grant No. JP18K06174 の支援を受けて実施しました。

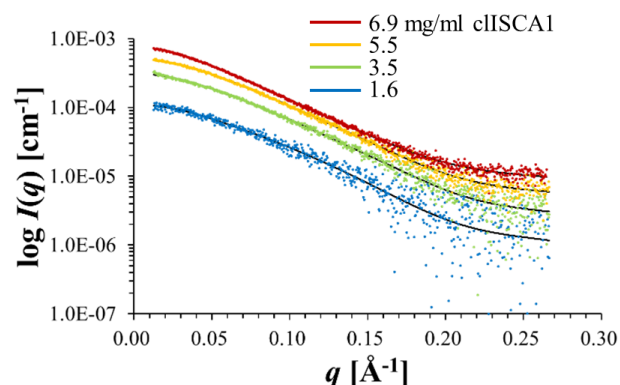


図 1 cIISCA1 溶液の  $I(q)$ 。点は実測値、黒の実線は *Oligomer* 解析によって fitting した理論散乱関数。

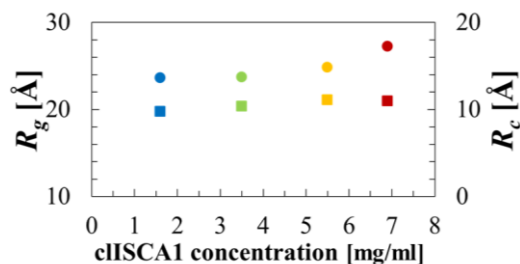


図 2 図 1 の  $I(q)$  から *ATSAS* のプログラム *Primus* を用いて算出した回転半径  $R_g$  及び断面方向の回転半径  $R_c$ 。

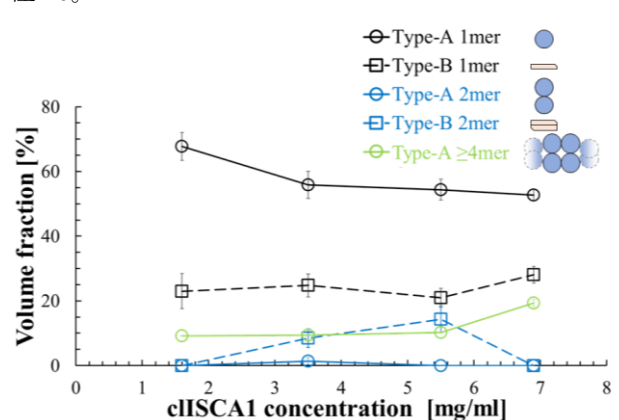


図 3 cIISCA1 分子モデル (図中の模式図) 及び図 1 の  $I(q)$  を用いてプログラム *Oligomer* により算出した各成分の体積分率の cIISCA1 濃度依存性。

#### 参考文献

- [1] T. Ritz *et al.*, *Biophys. J.* **78**, 707 (2000)
- [2] H. Mouritsen & T. Ritz, *Curr. Opin. Neurobiol.* **15**, 406 (2005)
- [3] S. Qin *et al.*, *Nat. Mater.* **15**, 217 (2016)
- [4] I. Friis *et al.*, *Sci. Rep.* **7**, 13908 (2017)
- [5] K. Pang *et al.*, *Front Neural Circuits.* **11**, 11 (2017)
- [6] X. Long & S.J. Zhang, *Front Neural Circuits.* **12**, 97 (2018)
- [7] P.V. Konarev, *et al.*, *J. Appl. Cryst.* **36**, 1277 (2003)
- [8] Y. Song, *et al.*, *Structure.* **21**, 1735 (2013)
- [9] S. Raman, *et al.*, *Proteins.* **77** Suppl 9, 89 (2009)

#### 成果

1. S. Arai *et al.*, Molecular behavior of the second magnetoreceptor candidate protein ISCA1, 第 58 回日本生物物理学会年会, BSJ2020, 2020-09-18
2. S. Arai *et al.*, SAXS Analysis of the Magnetoreceptor Candidate Protein ISCA1, 2020WCPS, 日本蛋白質科学会, 2020-07-07
3. S. Arai *et al.*, Structure and molecular behavior of the second magnetoreceptor candidate protein ISCA1, 3rd QST International Symposium, QST, 2019-12-04

\* arai.shigeaki@qst.go.jp