

ISCA1 蛋白質の分子挙動への磁場印加効果 Magnetic field effects on the molecular behavior of ISCA1 protein

新井栄揮^{1,*}, 清水瑠美¹, 安達基泰¹, 平井光博²

¹(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

²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^{1,*}, Rumi SHIMIZU¹, Motoyasu ADACHI¹ and Mitsuhiro HIRAI³

¹National Institutes for Quantum Science and Technology,

2-4 Shirakata, Tokai, Ibaraki 319-1106, Japan

²Graduate School of Science and Technology, Gunma University, 4-2 Aramaki, Maebashi, Gunma 371-8510, Japan

1 はじめに

多くの蛋白質は反磁性体である。一般に、蛋白質を磁場配向させるには、ペプチド結合や芳香族アミノ酸を規則的に空間配置させて異方的反磁性を増強するために、線維化や結晶化のような蛋白質分子の多量体化が必要となる。例えば、コラーゲン原繊維やフィブリン多量体は数 T から 12T 程度の静磁場に対して配向するが、 10^7 個程度の蛋白質分子が線維状に会合している必要がある[1,2]。一方、磁覚保有種・カワラバト(*Columba livia*)由来鉄硫黄(Fe-S)クラスター輸送蛋白質 cIISCA1 は、同種由来クリプトクロム(cICRY4)とともに長さ 24nm 程度の柱状複合体を形成し(図 1)、その複合体は青色光照射時に 0.4–10G 程度の弱磁場に対しても配向する傾向がある[3]。この複合体に含まれる cIISCA1 は 20 個程度である。磁覚保有種のクリプトクロムは量子磁気センサーとして機能し得ることが明らかにされつつある一方[4]、弱磁場に対して配向する蛋白質は他に殆ど例がなく、cICRY4/cIISCA1 複合体の磁場配向機構や cIISCA1 の機能は解明されていない。そこで本研究では、cIISCA1 の機能・物性に関する基礎的知見を得るために、cIISCA1 の分子挙動に対する静磁場印加効果を SAXS により解析した。

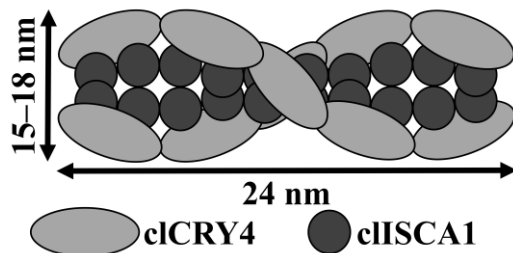


図 1 先行研究によって提唱された cICRY4/cIISCA1 複合体のモデル[3]。

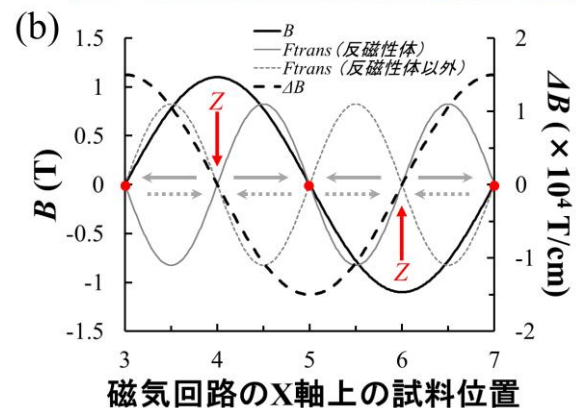
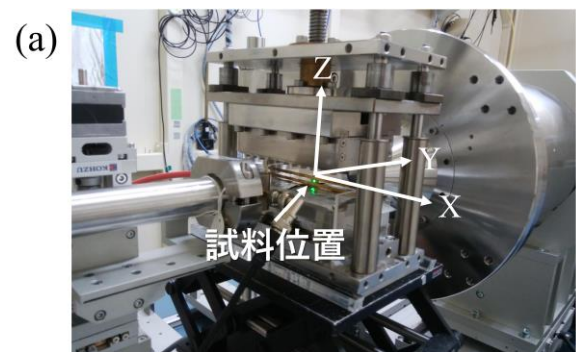


図 2 (a) 磁気回路の外観。Y 軸は入射 X 線の光軸。
(b) 磁気回路内の磁束密度 B 、磁場勾配 ΔB 、磁気並進力 F_{trans} 。赤の矢印は磁力線の方向。磁力線は、試料位置 No.4, No.6 では Z 軸方向、試料位置 No.3, No.5, No.7 では Y 軸方向(誌面に垂直方向)に配置する。グレーの実線と点線の矢印は、それぞれ反磁性体粒子と反磁性体以外の粒子の移動方向を示す。

2 実験

cIISCA1 は大腸菌の遺伝子組換えにより作製し、Ni-NTA アフィニティーカラム精製やサイズ排除ク

ロマトグラフィー精製を経て最終精製物を得た。試料への静磁場印加には、申請者らが開発した小型周期磁気回路装置[5]（以下、磁気回路と呼ぶ）を現行の BL10C に設置できるように改良して用いた（図 2a）。BL10C の光軸に垂直な方向に磁力線が配置する試料位置 No.4 と、水平な方向に磁力線が配置する試料位置 No.5 にそれぞれ cIISCA1 試料溶液を静置し、約 1 T の静磁場を印加した（図 2b）。磁場印加時間は 0, 5, 10, 30, 60 分とし、各経過時間毎に 1 分間の X 線照射（波長 1.55 Å）により時分割 SAXS データを

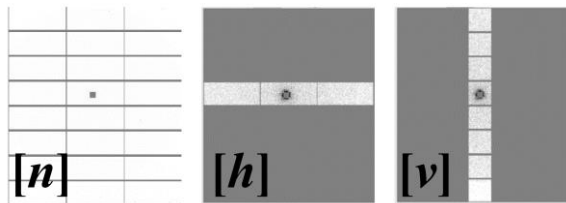


図 3 二次元 SAXS データの一次元化の際に使用したマスク。グレーは SAXS データを除去する領域。

得た。また、対照実験として、磁気回路未使用時の SAXS データも測定した。SAXS の二次元散乱像は、一般的なマスク[n]だけでなく、ビームセンター周辺を横方向に切り出すマスク[h]、及び、縦方向に切り出すマスク[v]を用いて円周平均し、一次元の散乱関数 $I(q)$ を得た（図 3）。

3 結果および考察

図 4 に 29.3 mg/mL cIISCA1 溶液の SAXS 測定によって得た $I(q)$ を示す。試料位置 No.4 及び No.5 ともに、マスク[n]を用いて得た $I(q)$ は、磁場印加とともに $q < 0.01 \text{ \AA}^{-1}$ の散乱強度が増大した（図 4a）。この $I(q)$ の変化は、放射線損傷による蛋白質凝集によるものではなく（図 4b）、静磁場印加によって cIISCA1 分子が集合して多量体が伸長したことを示唆する。

cIISCA1 多量体の会合面には 2Fe-2S クラスターが空間規則的に結合することが明らかになっている[成果 1 など]。蛋白質の磁化率（例：ウシ血清アル

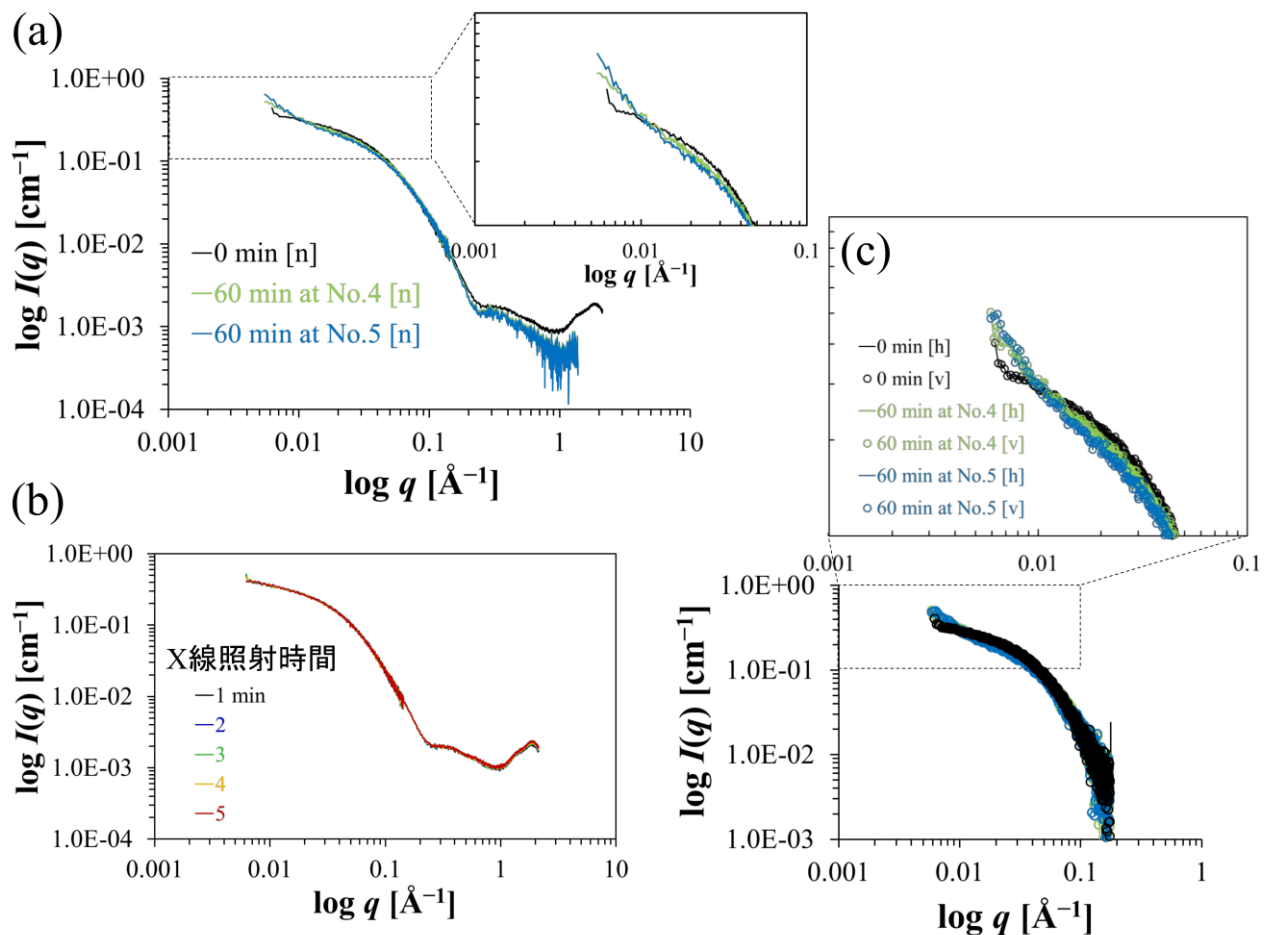


図 4 cIISCA1 溶液の SAXS 測定結果。各 $I(q)$ は 1 分間の X 線照射により得た。(a) マスク[n]を用いて得た $I(q)$ 。(b) 磁気回路未使用の条件下において、1 分間の X 線露光を 5 回繰り返し、マスク[n]を用いて得た $I(q)$ 。合計 5 分間の X 線照射後も $I(q)$ は変化せず、放射線損傷や分子凝集・多量体の伸長は生じていない。(c) $I(q)$ の異方性評価。実線はマスク[h]、円はマスク[v]を用いて得た結果を示す。(a)と(c)において、黒は磁気回路未使用時(0 分)、緑と青はそれぞれ試料位置 No.4, No.5 で 60 分磁場印加した結果を示す。

ブミンでは -0.826×10^{-6} CGS units) は鉄原子の磁化率 (1.59×10^5 CGS units) と比較して極めて小さいことから、cIISCA1 に結合した 2Fe-2S クラスタは、静磁場印加時の cIISCA1 の並進拡散を変化させる主要因となり得る。また、2Fe-2S クラスタは、酸化型 $[2Fe-2S]^{2+}$ では Fe(III)・Fe(III) のスピニカップリングによりトータルスピニ量子数 $S=0$ の反磁性体となり、一電子還元型 $[2Fe-2S]^{1+}$ では Fe(III)・Fe(II) のスピニカップリングにより $S=1/2$ の常磁性体となる[6]。本実験に用いた磁気回路内は、磁場勾配によって反磁性体粒子は試料位置 No.5、反磁性体以外の粒子は試料位置 No.4 へ移動するように設計されている (図 2b) [5]。従って、 $[2Fe-2S]^{2+}$ が結合した cIISCA1 は試料位置 No.5 へ、 $[2Fe-2S]^{1+}$ が結合した cIISCA1 は試料位置 No.4 へ移動し、それぞれの試料位置で濃縮効果が生じて cIISCA1 多量体同士の会合が進行したと推察できる。

一方、試料位置 No.4 及び No.5 とともに、60 分間静磁場を印加しても、マスク[h]とマスク[v]を用いて得た $I(q)$ のプロファイルには殆ど違いが無かった (図 4c)。この結果は、静磁場印加後も X 線散乱が等方的であり、cIISCA1 単独では磁場配向しないことを示唆する。

4 まとめ

静磁場印加に伴う磁場勾配は cIISCA1 の並進拡散に影響し、cIISCA1 の移動・濃縮・多量体の伸長を誘導することが明らかになった。この cIISCA1 の性質は、結合している 2Fe-2S クラスタに強く依存すると考えられる。このような磁場応答性がどの程度の弱磁場まで生じ得るか、及び、cIISCA1 の磁場応答性と磁覚の仕組みの関係性等は、今後明らかにしたい。例えば、cIISCA1 多量体が cICRY4 の足場蛋白質として機能するのであれば、cICRY4 の細胞内局所濃度が増大し、cICRY4 が受容した微弱な磁気情報のシグナルを増幅するなどの効果を生じる可能性がある。

一方、cIISCA1 単独では、多量体化しても磁場配向しないことも明らかになった。この結果は、cICRY4 が cICRY4/cIISCA1 複合体の磁場配向性を増大する未知の機能を有することを示唆している。現在、得られた知見に基づき、cICRY4/cIISCA1 複合体の磁場配向機構を説明するためのモデルを考察中である。

謝辞

本研究は、科学研究費助成事業・基盤研究(C) 18K06174 及び 21K06093、光・量子飛躍フラッグシッププログラム (Q-LEAP) JPMXS0120330644 の支援を受けて実施しました。

参考文献

- [1] H. Kotani, *et al.*, *J Appl Phys.* **87**, 6191 (2000)
- [2] J. Torbet, *et al.*, *Nature.* **289**, 91 (1981)
- [3] S. Qin *et al.*, *Nat. Mater.* **15**, 217 (2016)
- [4] T. Ritz *et al.*, *Biophys. J.* **78**, 707 (2000)
- [5] M. Hirai, *et al.*, *J Appl Crystallogr.* **36**, 520 (2003)
- [6] T. Iwasaki, *et al.*, *J Am Chem Soc.* **131**, 13659 (2009)

成果

1. S. Arai *et al.*, Structural changeability and oligomerization of the magnetoreceptor candidate ISCA1, 第 21 回日本蛋白質科学会年会, 2021-06-17
2. S. Arai *et al.*, SAXS analysis of the magnetoreceptor candidate protein ISCA1, 2020 年度量子ビームサイエンスフェスタ, 2021-03-10
3. S. Arai *et al.*, Magnetic effects on the ISCA1 protein, 量子生命科学会第 2 回大会, 2020-12-23

* arai.shigeki@qst.go.jp