

神経芽細胞非対称分裂に関与するアダプター蛋白質 Miranda の  
Cargo-Binding ドメインの溶液構造

上久保裕生<sup>1</sup>、Yousef, M. S.<sup>2,3</sup>、片岡幹雄<sup>1</sup>、加藤龍一<sup>2</sup>、若槻壮市<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科

<sup>2</sup>高エネルギー加速器研究機構 構造生物学研究センター

<sup>3</sup>Biophysics Department, Faculty of Science, Cairo University, Egypt

Miranda は、ショウジョウバエ由来の神経芽細胞非対称分裂に関与するアダプター蛋白質である。Miranda は 830 残基からなるマルチドメイン蛋白質であり、中央に位置するドメインは、神経性転写因子 Prospero をはじめ、複数の相互作用蛋白質に対する結合部位であると考えられている。アミノ酸配列から、このドメインは Coiled-Coil 構造を有することが予測されていたが、これまで、その構造は明らかにされていなかった。そこで我々は、特に中央ドメインに注目し、相互作用蛋白質の結合部位を含む中央ドメイン断片(460-660)を作製し、円偏光二色性(CD)分光及び X 線溶液散乱曲線を測定した。中央ドメインは典型的なヘリックス構造由来の CD スペクトルを示し、222nm と 208nm のモル残基楕円率が、ほぼ一致していた。X 線溶液散乱曲線を元に、形状予測解析を行った結果、溶液中で 2 量体を形成し、最大長 220Å を示す、剛直な棒状分子であることが明らかとなった。以上の結果から、Miranda の中央ドメインは Coiled-Coil 構造をとっていることが明らかとなった。更に、Coiled-Coil を形成する 2 量体の配向を決定するために、中央ドメイン断片の N 末端領域にシステイン(C476)を導入し、分子間架橋の形成を SDS-PAGE によって確認した。その結果、システイン置換変異体では、非還元 SDS-PAGE において、2 量体に相当するバンドのみが観測された。以上の結果より、Miranda の中央ドメインは、2 分子が平行に配置した Coiled-Coil 構造を有していることが明らかとなった。