

Low-complexity 配列を持つ相分離液滴のナノ構造解析

Nano-scale structural analysis of droplets with low-complexity sequence

松尾 龍人^{1)*}, 中川 洋²⁾

Tatsuhito MATSUO, Hiroshi NAKAGAWA

¹⁾量研, ⁴⁾原子力機構 *現在は広島国際大

(概要) ストレス顆粒に蓄積する FUS の LC ドメイン(FUS-LC)は、可逆性クロスβ線維を形成するが、この線維形成速度は変異によって変調されることが知られている。また、室温では分散状態にあるが、低温では液液相分離を起こし液滴を形成する。本課題では、野生型 FUS-LC および線維形成を促進または遅延する 2 種類の変異型 FUS-LC の構造情報を得るために中性子小角散乱(SANS)実験を 278 K, 309 K の温度で SANS-J を用いて行った。今回、温度による散乱強度の変化を検出することに成功するとともに、精度は高くないが構造情報を抽出することができるデータを取得することができた。

キーワード : 中性子小角散乱, タンパク質, 液液相分離

1. 目的

真核細胞内には、膜で仕切られたオルガネラ以外に、ダイナミックに出現、消失、また融合することができる非膜性構造体が多数存在しているが(図 1)、近年、タンパク質の low-complexity (LC) 配列/ドメインによる“相転移・相分離”現象が、非膜性構造体の形成とダイナミックなふるまいに深く関わっていることが明らかとなってきた。LC ドメインとは、20 種類のアミノ酸のうち 1 種類から数種類のアミノ酸が極端に頻出する配列からなる領域である。LC ドメインは様々なタンパク質の制御ドメインに含まれることは知られていたものの、その性質上、特定の構造を持たない天然変性領域として認識されてきたため、従来の構造生物学の研究対象から外れ、分子レベルでの構造機能解析はほとんど手つかずであった。しかし、近年、ストレス顆粒に蓄積する FUS や hnRNPA2 などの RNA 結合タンパク質が持つ LC ドメインが、多価の弱い相互作用 (マルチバレント相互作用) を介した自己会合によって、溶液から可逆性クロスβ線維構造を有するハイドロゲルに相転移することが見出され[1]、このような相転移現象がストレス顆粒等の細胞内の非膜性構造体の形成機構ではないかというアイデアが提唱されている。

本研究では、LC ドメインの 1 つである FUS-LC タンパク質を対象に、野生型、液滴形成に伴い線維形成を促進する変異体(ΔGG)、および線維形成を遅らせ不安定な線維構造を取る変異体(ΔS57)の溶液構造解析を中性子小角散乱によって行う。野生型も変異体も、室温では単分散であるが 5°C 程度の低温にすることで液滴を形成する。ここでは、温度によって液滴形成を制御しながら中性子小角散乱により構造解析を行う。

2. 方法

本課題では、以下の試料を調製し、SANS-J にて SANS 測定を行った。温度は 36°C (309 K, 単分散状態)と 5°C (278 K, 液滴状態)、カメラ長は 10m, 4m, 2m とした。

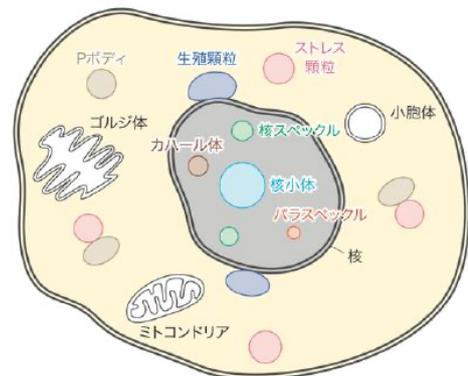


図 1 細胞内の非膜性構造体の例

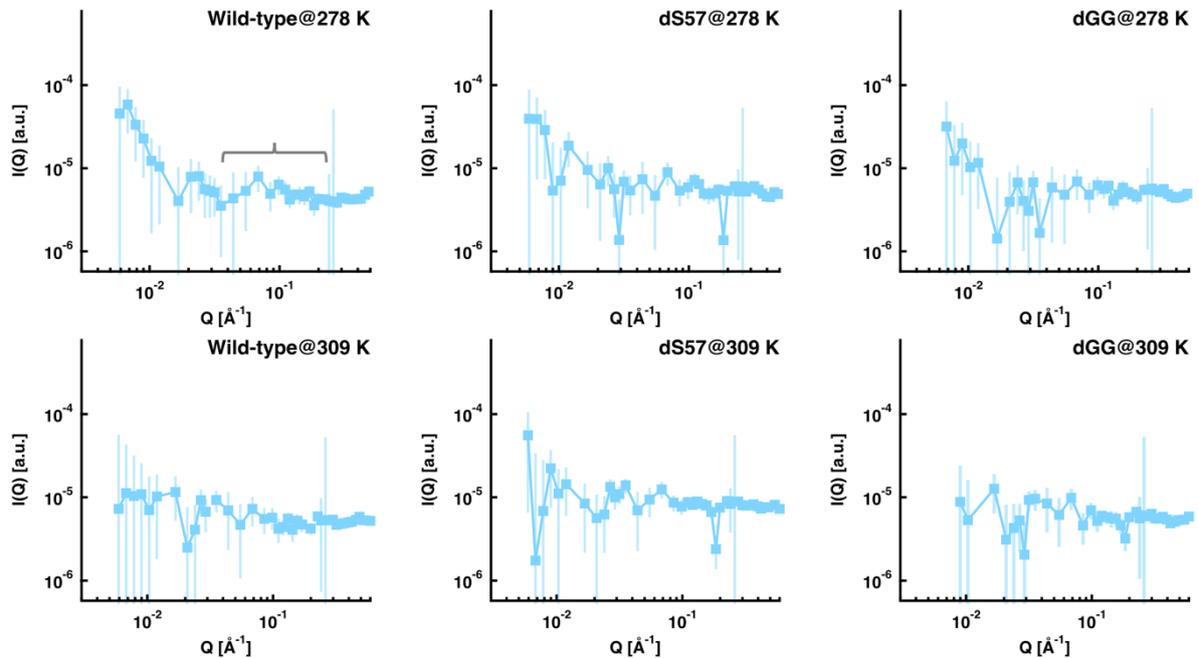
1. 野生型 FUS-LC in 100% D2O バッファー
2. ΔGG 変異型 FUS-LC in 100% D2O バッファー
3. ΔS57 変異型 FUS-LC in 100% D2O バッファー
6. 100% D2O バッファー

3. 結果及び考察

本課題では、FUS-LC タンパク質の野生型および 2 種類の変異型について、単分散状態と液滴状態における構造情報を得ることを目的とした。

一連の試料について、測定した散乱曲線からバッファーの寄与を除去し、タンパク質由来の散乱曲線を得た。その結果を下図に示す。278 K と 309 K の散乱曲線を比較すると、後者では、低 Q 側の散乱強度が前者よりも小さいことがわかる。これは、散乱体の体積が 309 K では小さくなっていることを示唆している。つまり、309 K では FUS-LC は解離状態、278 K では会合状態にあることが示唆される。また、野生型のみ 278 K において、 $Q = 0.1 \text{ [\AA}^{-1}]$ 付近に幅の広いピークのような強度変化が観測された(グレーの括弧で示した部分)。統計誤差が大きいため、これが疑似ピークかどうかを判断する必要がある。そのためには、より濃度が高い試料で測定を行うことが求められる。

本報告書が原子力機構ホームページで公表されること、且つ解析結果は未発表であり原著論文として公表していないため、これ以上の詳細は記述しない。



4. 引用(参照)文献等

1. Kato, M., et al., "Cell-free formation of RNA granules: low complexity sequence domains form dynamic fibers within hydrogels." *Cell*, 149:753–767 (2012).