

海外支援プログラム実験終了報告書

2015年6月10日

実験者 1 (氏名・所属) : 井上倫太郎・京都大学原子炉実験所
実験者 2 ^(*1) (氏名・所属) : 杉山正明・京都大学原子炉実験所
研究代表者 (氏名・所属) : 井上倫太郎・京都大学原子炉実験所
中性子散乱課題番号・装置名 : 15554・SANS-U
実験課題名 ^(*2) : 小角中性子散乱による α -クリスタリンのサブユニット交換
利用施設・装置 : ANSTO・Quokka
利用期間 : 2015年5月30日～2015年6月3日
実験の概要 ^(*3) : 水晶体はクリスタリンと称される蛋白質の秩序構造が維持されることにより透明性が保持される。これまでの研究によりヒトの水晶体には α , β , γ の三種類のクリスタリンが含まれることが知られており、特に α クリスタリンが水晶体の異常凝集を妨げるシャペロン機能を有することが知られている。 α クリスタリンは分子量が二万程度のサブユニットが20~40程度集まった複合会合体であり、 α クリスタリン同士でサブユニット交換の存在が fluorescence resonance energy transfer (FRET) や isoelectric focusing などにより報告されているがその詳細な機構解明には未だ至っていない。特に α クリスタリンの動的な性質を捕らえることがシャペロン機能の本質を探る礎になると予想される。 そこで、本実験では小角中性子散乱と重水素化ラベリング法を組み合わせることで α クリスタリンのサブユニット交換反応の追跡を行った。1 mg/ml の濃度の軽水素化 α クリスタリン及び重水素化 α クリスタリンを 82% D ₂ O 中 (両クリスタリンのサブユニットが完全に混合した場合の散乱長と等しい) で混合し、37°Cにて時分割測定 SANS 測定を 15 分間隔にて行った。Gunier 解析により $I(0)$ を評価し $I(0)$ の時間発展を追跡したところ、測定開始一時間ほどでサブユニット交換反応の存在を保証する $I(0)$ の低下が確認された。更に $I(0)$ の時間発展は single exponential で表現することができ、 0.55 h^{-1} の時定数を有することが明らかとなった。測定開始 20 時間後には両クリスタリンのサブユニットの完全混合による散乱パターンの消失が確認された、即ち時分割 contrast matching を実証できたものと考えている。更にこの交換反応の温度依存性を確認するために 10°C、48°Cでも測定を行ったが 10°Cでは 12 時間の測定時間中において有意な交換反応は確認出来なかった。一方、48°Cにおいては一時間以内に散乱パターンの消失が観測されるほどの非常に早い交換反応が観測された。現在、昨年 11 月に ORNL の Bio-SANS で測定した結果 (25°Cで測定) とあわせて詳細なる解析中である。

(*1) 1人のみ支援を受けた場合は空欄をお願いします。

(*2) 物性研中性子共同利用で採択された課題名です。

(*3) 簡単な記述で構いません。この報告書の提出をもって、旅費が支給されます。また、実験終了後 2ヶ月以内に物性研 ISSP-NSL Database (<http://quasi.issp.u-tokyo.ac.jp/db/index.php>) から activity report の提出をお願い致します。