



ゲルゾリンファミリータンパク質との共結晶化による F型アクチン原子構造の解明

武田修一

名古屋大学大学院理学研究科附属構造生物学研究センター

1. 背景と研究目的

アクチンはほとんどの真核生物細胞中で最も発現量の多いタンパク質であり、繊維状アクチン (Fアクチン) の重合機構を原子構造レベルで説明することは、様々な生理現象を理解する上で必須である。本研究では、Fアクチン切断因子であるゲルゾリンファミリータンパク質の一種、フラグミンとの複合体を用いて、F型アクチンの結晶構造を決定する事を目標とする。これまでF型アクチンの結晶構造は報告されておらず、よって本研究の成果はアクチン研究全体に大きなインパクトを与えることが期待される。またゲルゾリンファミリータンパク質は様々な病理現象との関連が示されており、その作用機序の解明は非常に重要である。今回の実験課題では、これまで実験室回折計で 3.0 \AA 分解能の回折データが得られていた FA₂ complex (詳細は実験内容を参照) 単結晶を、あいち SR BL2S1 の高輝度ビームを用いて測定することで、どの程度の分解能が得られるかを検証することを主な目的とした。

2. 実験内容

フラグミン (*Physarum polycephalum* 由来:大腸菌発現), 及びアクチン (ニワトリ骨格筋由来:結合ヌクレオチドは ATP) を精製し, モル比 1:2 で混合することで作成した複合体 (FA₂ complex) を用い, $0.4 \text{ mm} \times 0.3 \text{ mm} \times 0.05 \text{ mm}$ 程の単結晶を得た. BL2S1 において凍結操作を行なった (100 K). 以下の条件で回折データ測定を行なった. 波長: 1.12 \AA , 検出器: ADSC Q315r, 振動角: 0.5° , 露光時間: 20 秒, 測定範囲: 120° . 得られた回折データは, 備え付けの XDS を用いて解析した。

3. 結果および考察

いくつかの結晶を用いて, 回折データの測定を行なったところ, 結晶によって分解能にばらつきが見られたが, 最高分解能 2.6 \AA のデータセットを得ることができた。上述のように実験室回折計 (RIGAKU FR-E) を用いた場合, 長時間露光 (10 分) で 最大分解能 3.0 \AA であったことから, 大幅な改善が見られた。また, XDS を用いて回折データを解析したところ, Rmerge 値が 0.152 (FR-E) から, 0.080 (BL2S1) と大幅に改善した。今後の各種ヌクレオチド結合型 FA₂ complex 結晶の回折データ測定を BL2S1 にて行う予定である。

4. 参考文献

特になし

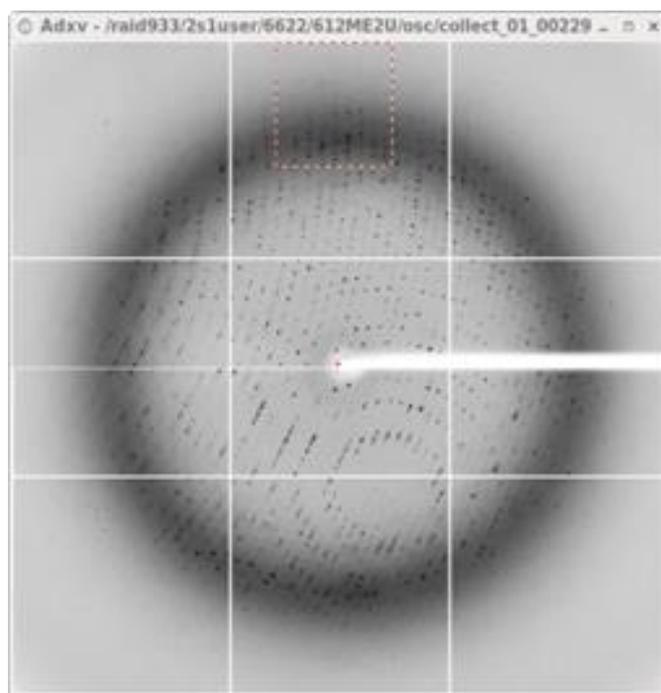


Fig.1 得られた回折データ