



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。これまでの BL2S1 での実験によって、ATP、またはその非加水分解性アナログである AMPPNP 結合型アクチンを含む FA₂ complex (詳細は実験内容を参照) の結晶構造決定に成功している。今回の実験課題では、ATP 加水分解後の ADP 結合型アクチンを含む FA₂ complex の結晶構造の解明を目標とした。

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 ADP) 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 mm x 0.3 mm x 0.05 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 Å, 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。

s

3. 結果および考察

今回の測定では、最高分解能 2.3 Å の ADP 結合型 FA₂ complex の回折データセットを得ることができた。既知の AMPPNP 結合型 FA₂ complex の原子構造を探索モデルとした分子置換法で、原子構造を決定した。両者の構造を比較したところ、全体構造はほぼ同様であった。現在ヌクレオチド結合部位周辺などの、詳細な構造の差異を検討しているところである。

4. 参考文献

特になし

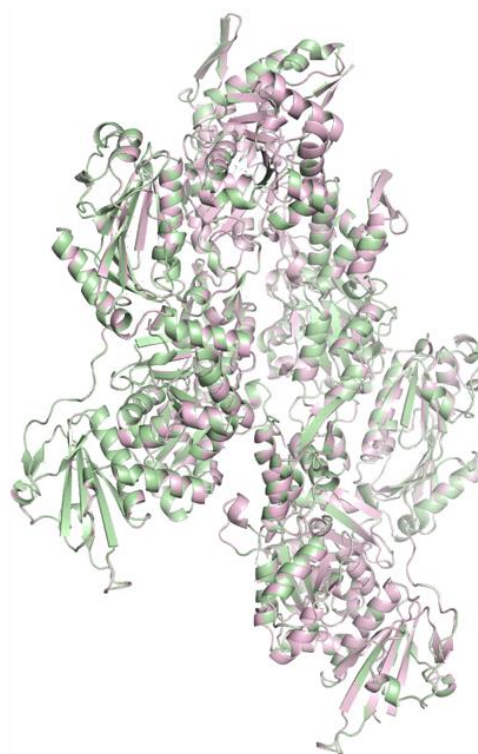


Fig. 1 FA₂ complex AMPPNP型 (緑) と ADP 型 (桃) の比較