



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 (課題番号 2016N5009 等) によって、フラグミン N 末端側ドメインである F1 ドメインと、アクチン 1 分子の複合体の結晶構造の決定に成功している。驚くべきことに、アクチン分子のコンフォメーションは線維中と同様の F 型であった。フラグミン F1 とほぼ相同であるゲルゾリン G1 ドメインでは、このようなアクチンコンフォメーション変化は報告されていない。そこで、本研究課題では、F1 ドメイン中のどの領域がアクチンコンフォメーション変化に重要であるかを知るために、各種 F1 ドメイン変異体とアクチンとの複合体の結晶構造を決定し、複合体中のアクチンコンフォメーションを調べた。

2. 実験内容

フラグミン F1 ドメインの変異体 (*Physarum polycephalum* 由来:大腸菌発現) , 及びアクチン (ニワトリ骨格筋由来) を精製し、モル比 1:1 で混合することで作成した複合体を用い、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:10 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

今回の測定では、N 末端側領域欠損フラグミン F1 とアクチンの複合体の回折データセットを得ることができた。今回の複合体結晶は、野生型 F1 とアクチン複合体結晶と同じ空間群 ($p21\ 21\ 21$) に属していたが、セル長が大幅に増大しており、非対称単位中に 4 分子の複合体を含んでいた (Fig. 1) 。複合体中のアクチンのコンフォメーションは単量体 (G) 型であったことから、フラグミン N 末端側領域が、アクチンコンフォメーション制御に重要であることが示唆された。

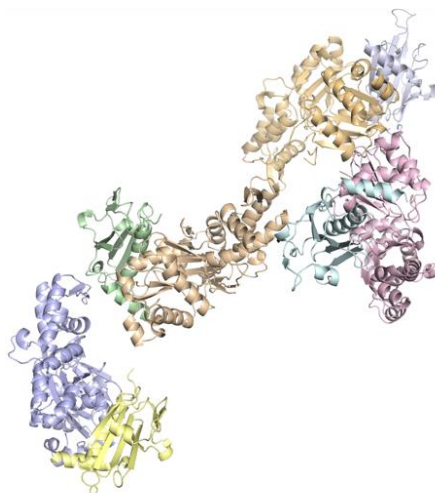


Fig. 1 N末端領域欠損F1/アクチン複合体の結晶構造
非対称単位内に4つの複合体を含む

4. 参考文献

特になし