



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。前回の BL2S1 での実験 (課題番号 2016N5009) 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 (結合カチオンは Ca^{2+}) 1 分子の複合体の結晶構造の決定に成功した。今回は、真核生物細胞中で最も高濃度で存在するカチオンである Mg^{2+} 結合型アクチンと、F1 ドメインとの複合体の結晶構造の解明を目標とする。

2. 実験内容

フラグミン F1 ドメイン (*Physarum polycephalum* 由来:大腸菌発現), 及びアクチン (ニワトリ骨格筋由来:結合カチオンは Mg^{2+}) 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:1°, 露光時間:15 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、最高分解能 1.3 Å のフラグミン F1/ Mg^{2+} 結合型アクチン複合体結晶の回折データセットを得ることができた。既知のフラグミン F1/ Ca^{2+} 結合型アクチン複合体結晶を探索モデルとした分子置換法で、原子構造を決定した。両者はほぼ同じ構造であり、 Ca^{2+} 結合型アクチンの場合と同様に、 Mg^{2+} 結合型アクチンの場合も、複合体中のアクチンのコンフォメーションは F 型であった。ヌクレオチド結合部位に注目すると、 Ca^{2+} -ATP 結合型アクチンでは、 Ca^{2+} イオンを中心とした 7 配位構造が見られたのに対し、今回の Mg^{2+} -ATP 結合型アクチンでは、 Mg^{2+} イオンを中心とした正 8 面体状の 6 配位構造が見られた。詳細構造は、現在解析中である。

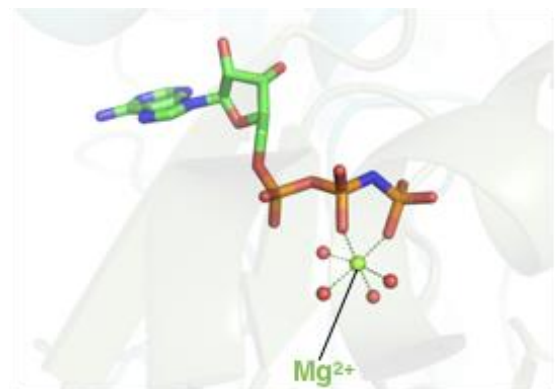


Fig.1 アクチン Mg^{2+} -ATP 周辺の拡大図
 Mg^{2+} イオンは P_β , P_γ と 4 つの水分子に囲まれた 6 配位構造をとる

4. 参考文献

特になし