



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

キーワード : アクチン, ゲルゾリン, カルシウム, 活性制御

1. 背景と研究目的

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. ゲルゾリンファミリータンパク質は複数のドメインからなるアクチン繊維切断タンパク質であり,その活性はカルシウムイオン(Ca^{2+})によって制御されている. 種間で広く保存されている Ca^{2+} 結合部位(type-1, type-2 sites)が知られている. 本研究ではゲルゾリンファミリータンパク質の一種であるフラグミンの F3 ドメイン単独を Ca^{2+} 存在下での結晶化することを目指した. 前回までの BL2S1 における実験で得られた結晶化条件を改善することで,高分解能での構造決定を目指した.

2. 実験内容

真正粘菌フラグミン F3 ドメインは大腸菌を用いて発現・精製した. 得られた F3 を用いて, 10 mM CaCl_2 存在下で市販のキットを用いて結晶化条件のスクリーニングを行った. 初期結晶について, さらに結晶化条件を最適化することで, 回折実験に適したサイズの結晶を得た. BL2S1 において凍結操作を行なった後 (100 K), 回折データ測定を行なった (波長:1.12 Å, 検出器:ADSC Q315r). 得られた回折データを備え付けの XDS を用いて処理し, 既知の活性化型ゲルゾリン構造 (PDB: 3ffk)を探索モデルとして Molrep により分子置換法で初期位相を決定した. coot, および phenix refine を用いて構造精密化を行なった.

3. 結果および考察

結晶化条件を改善することで, F3 ドメインの結晶構造を 1.55 Å 分解能で決定することに成功した. Type-2 site への Ca^{2+} の結合が確認された. Ca^{2+} の配位様式は, 他のゲルゾリンスーパーファミリータンパク質と同様であった. 本研究の成果は参考文献 1 で報告した. また原子構造は Protein Data Bank (accession code: 6KWZ) に登録した.

4. 参考文献

- Novel inter-domain Ca^{2+} -binding site in the gelsolin superfamily protein fragmin
Shuichi Takeda*, Ikuko Fujiwara, Yasunobu Sugimoto, Akihiro Narita, Toshiro Oda, Yuichiro Maéda
J Muscle Res Cell Motil, (2019)
DOI: 10.1007/s10974-019-09571-5

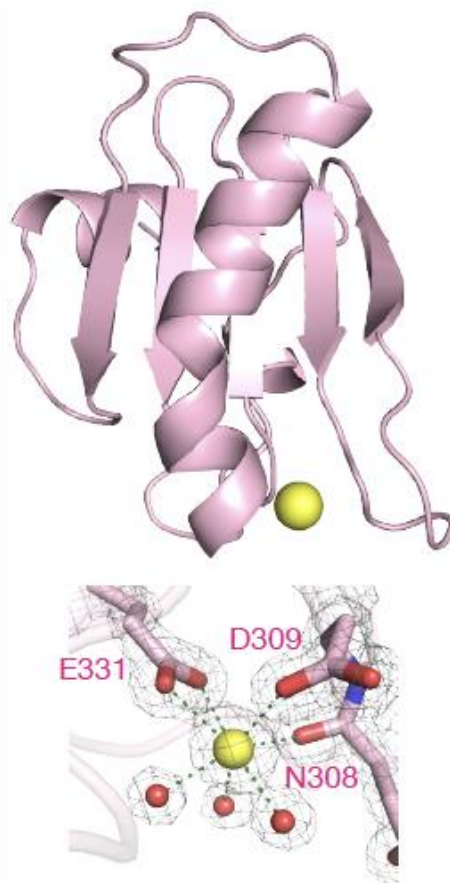


Fig. 1 フラグミンF3ドメインの結晶構造. 黄球は Ca^{2+} を示す. 下図は Ca^{2+} 結合部位の拡大図. 2Fo-Fc 電子密度図を 1.5σ で示した. 赤球は水分子を示す.