実験番号：2018N6005（4 シフト）

BL2S1

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

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，纖維状アクチン（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．前回の実験（2018N5002, N5004）でこれまでとは異なる結晶化条件で最高分解能 2.5 Å の回折が得られた.今回は結条件を改良して作成した結晶を用いて測定を行う．

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, または AMPPNP）を精製し,モル比 1:2 で混合することで作成した複合体（FA_2 complex）を用いシッティングドロップ蒸気拡散法で結晶化を試みた．得られた結晶について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:0.2^{o},露光時間:30 秒.

3. 結果および考察

以前の結晶は space group *I*4 であったが，今回の結晶は $P6_122$ であった. Unit cell length は 89.6 Å, 89.6 Å, 570.5 Å と長い c 軸を持っていたが，振動角を 0.2^{o}, 1 フレーム辺りの露光時間を 30 秒の条件で，最高分解能 2.0 Å のデータセットが得られた．既知の FA_2 complex を元に分子置換法で構造を決定した．前回の結晶は非対称単位に 2 分子の complex を含んでいたが，今回は 1 分子であった. Complex 自体の構造は前回の結晶とほとんど変わらなかったが，分解能が向上したことで分子間接触様式がより鮮明となった.

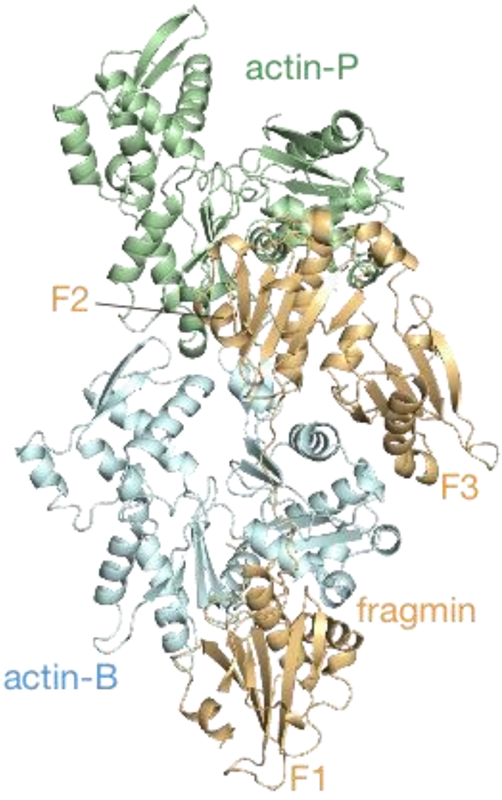

Fig. 1　FA2 complex (space group $P6_122$)の結晶構造

4. 参考文献

1. Crystal structures of F-actin: coupling between assembly and ATP hydrolysis

Shuichi Takeda, Akihiro Narita, Toshiro Oda, Ryotaro Koike, Motonori Ota, Kei Moritsugu, Yusuke Kanematsu, Ikuko Fujiwara, Kotaro Tanaka, Takayuki Nagae, Nobuhisa Watanabe, Yuichiro Maéda (To be submitted)