



## 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( $\text{Ca}^{2+}$ )によって制御されている。種間で広く保存されている  $\text{Ca}^{2+}$  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 F2 ドメイン単独の  $\text{Ca}^{2+}$  存在下での結晶化を目指した。前回までの BL2S1 における実験で得られた  $\text{Ca}^{2+}$  非存在下で得られた結晶に  $\text{Ca}^{2+}$  をソーキングすることで、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 F2 ドメインは大腸菌を用いて発現・精製した。得られた F2 を用いて、 $\text{Ca}^{2+}$  非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。この結晶に 10 mM  $\text{CaCl}_2$  を外部から加えた。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 Q270)。得られた回折データを備え付けの XDS, Mosflm を用いて解析した。

### 3. 結果および考察

結晶ドロップに 10 mM  $\text{CaCl}_2$  を加え、30 分ほど 293 K で静置したが、特に外観上の変化は観察されなかった。この結晶を凍結し、X 線を照射したところ、 $\text{Ca}^{2+}$  非存在下結晶と同等の 2.1 Å 分解能のデータセットが得られた。 $\text{Ca}^{2+}$  非存在下結晶は空間群  $P2_1$  であったが、ソーキング結晶はこれとは異なる空間群に属することが示唆された。現在構造解析中である。

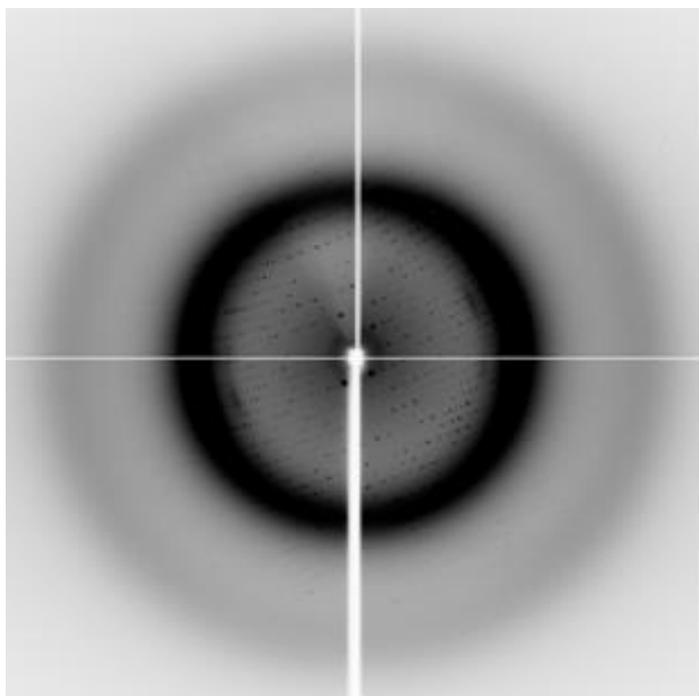


Fig. 1  $\text{Ca}^{2+}$  非存在下で得られたフラグミン F2 結晶に 10 mM  $\text{CaCl}_2$  をソークし凍結した試料から得られた X 線回折像

### 4. 参考文献

特になし