



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

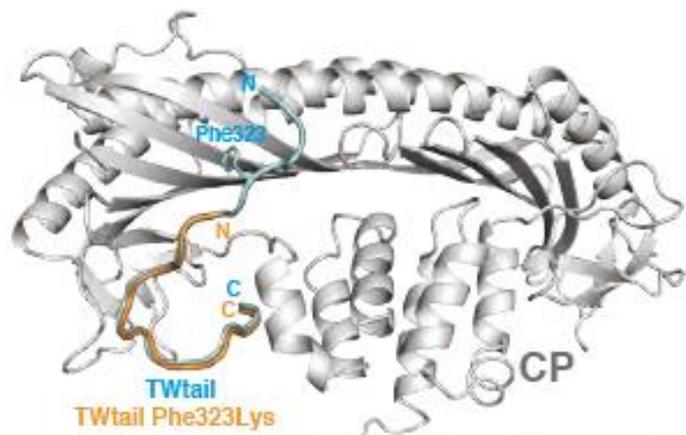
アクチンは真核生物細胞中で最も発現量の多いタンパク質であり、自己集合することで二重らせん状の繊維体 (F アクチン) を形成する。ゲルゾリンは、カルシウムイオン依存的に F アクチンを切断する活性を持つ。ツイオフィリンはその名が示す通り、コフィリン (ゲルゾリンとは別種の F アクチン切断因子) 様のドメインを二つ含むタンパク質で、さらにその C 末端側にアクチンキャッピングタンパク質 (CP) との結合モチーフ (TWtail) を持つ。CP は F アクチンの端に強固に結合し、その伸長・収縮を止める細胞運動の重要な調節因子である。これまでに我々は、CP と TWtail 複合体の結晶構造を 1.85 Å 分解能で決定している (文献 1)。この構造から、TWtail 中で保存性の高い N 末端側の残基 (Phe323) が、CP との結合に重要であることが示唆された。そこで本研究では、この Phe323 を Lys へと置換した変異体 TWtail Phe323Lys の CP 結合様式を X 線結晶構造解析で調べた。

2. 実験内容

CP (chicken $\alpha 1/\beta 1$) は大腸菌発現系を用いて精製した。TWtail Phe323Lys は購入した合成ペプチドを用いた。CP と TWtail Phe323Lys を混合して得た CP/TWtail Phe323Lys 複合体試料を、ハンギングドロップ蒸気拡散法で結晶化した。X 線回折データ測定は、あいちシンクロトロン光センター BL2S1 にて行った (波長: 1.12 Å, 検出器: ADSC Q270)。回折データは備え付けの XDS を用いて処理した。

3. 結果および考察

CP/TWtail Phe323Lys 複合体の結晶構造を 1.85 Å 分解能で決定した。TWtail Phe323Lys では、N 末端側領域が CP から外れていた (揺らいでいるため結晶構造としては観察されない)。この結果は、Phe323 が TWtail を CP に繋ぎ止める“アンカー”であることを示唆する。詳細については文献 1 に記した。



CP 結合に重要な Phe323 を持たない TWtail Phe323Lys では N 末端側が CP から外れている (ふらついているため結晶構造中では観察されない)

4. 参考文献

1. Structural insights into the regulation of actin capping protein by twinfilin C-terminal tail

Shuichi Takeda, Ryotaro Koike, Ikuko Fujiwara, Akihiro Narita, Makoto Miyata, Motonori Ota and Yuichiro Maéda (submitted)