



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。

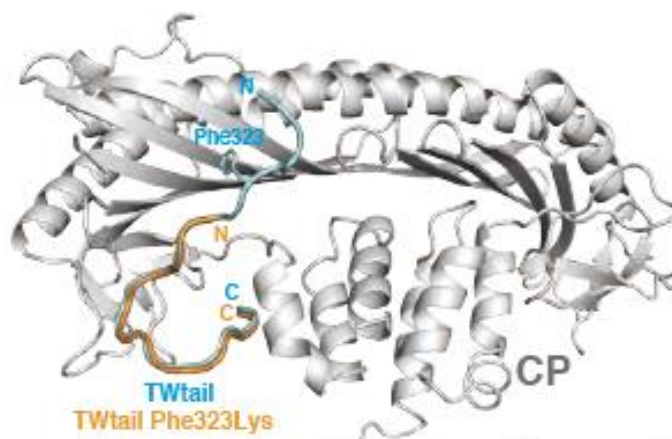
3. 結果および考察

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。

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)



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）