



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することで、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。V-1 は 4 つのアンキリンリピートからなるタンパク質で、CP に結合し、その F アクチンキャッピング能を阻害する。これまでに、CP と V-1 (文献 1)、または TWtail (文献 2) との複合体の結晶構造の決定に成功している。今回の実験では、CP が二つのリガンド分子 V-1 と TWtail に同時に結合できるのかを、X 線結晶構造解析によって調べた。

2. 実験内容

CP (chicken $\alpha 1/\beta 1$)、V-1 (human) は大腸菌発現系を用いて精製した。TWtail (mouse) は購入した合成ペプチドを用いた。まず CP/V-1 複合体結晶 (空間群 $P2_12_12_1$) を作成し、これに対しソーキングで TWtail を加えた。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 で処理した。

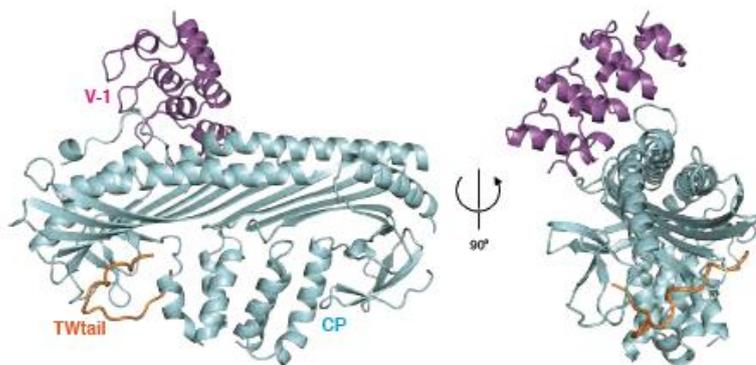
3. 結果および考察

CP/V-1 複合体結晶の外観はソーキングによって変化しなかった。このソーキング結晶は 2.45 Å 分解能の反射を与えた。CP/V-1 結晶構造を探索モデルとして構造を決定したところ、TWtail は 2 者複合体中と同じ位置に、100% の占有率で結合していた。従って CP/V-1/TWtail は安定な 3 者複合体を形成できるものと結論した。詳細は文献 2 に記した。

4. 参考文献

1. "Two distinct mechanisms for actin capping protein regulation- steric and allosteric inhibition" Shuichi Takeda, Shiho Minakata, Ryotaro Koike, Ichiro Kawahata, Akihiro Narita, Masashi Kitazawa, Motonori Ota, Tohru Yamakuni, Yuichiro Maéda, Yasushi Nitani *PLoS Biol*, **8**, e1000416 (2010)

2. "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/V-1/TWtail 3 者複合体結晶構造