



# アクチンと結合タンパク質の X 線結晶構造の解明

武田 修一  
名古屋大学

キーワード：アクチン, アクチン結合タンパク質, X 線結晶構造解析, ATP 加水分解

## 1. 背景と研究目的

細胞骨格タンパク質アクチンはほとんどの真核細胞中で最も多量に発現しており、様々な生態現象に関与する。単量体アクチン (G アクチン) は、集合し繊維状の F アクチンを形成することで機能し、様々なアクチン結合タンパク質がその重合状態を制御する。我々はこれまでに BL2S1 における測定により、真正粘菌のゲルゾリンホモログであるフラグミンとの複合体として繊維状コンフォメーションのアクチンの X 線結晶構造を報告している (文献 1)。これまでの実験ではニワトリ骨格筋 (文献 1)、もしくはヒト心筋由来 (文献 2) のアクチンの構造解析を行ってきた。今回の測定では、前回の実験 (2024N4004) に引き続き、ヒト非筋細胞由来アクチン (野生型) を用いて製作した結晶の X 線回折実験を行い、分解能の向上 (前回は 1.6 Å) を目指した。

## 2. 実験内容

ヒト非筋細胞アクチンは、バキュロウイルス・昆虫細胞発現系を用いて精製した。フラグミンは大腸菌発現系を用いて精製した。アクチン・フラグミン複合体を、ハンギングドロップ蒸気拡散法で、文献 1 とほぼ同条件で結晶化した。BL2S1 において凍結条件で回折実験 (波長 1.12 Å) を行った。回折データは備え付けの XDS で処理し、ccp4, Phenix suite を用いて構造解析を行った。

## 3. 結果および考察

いくつかの結晶について回折実験を行ったところ、最高 1.4 Å 分解能のデータセットが得られた。XDS の処理結果を以下に示す。既知のアクチン・フラグミン構造を用いて分子置換法で初期位相を決定後、構造最適化をおこなった。今後は引き続き変異体アクチン結晶の測定を行う予定である。

SUBSET OF INTENSITY DATA WITH SIGNAL/NOISE $\geq -3.0$ AS FUNCTION OF RESOLUTION													
RESOLUTION LIMIT	NUMBER OF REFLECTIONS			COMPLETENESS	R-FACTOR	R-FACTOR	COMPARED	I/SIGMA	R-meas	CC(1/2)	Anomal	SigAno	Nano
	OBSERVED	UNIQUE	POSSIBLE	OF DATA	observed	expected					Corr		
4.18	54048	4754	4784	99.4%	4.9%	4.8%	54048	48.34	5.2%	99.8*	0	0.908	3798
2.96	110229	8281	8283	100.0%	5.4%	5.1%	110229	46.99	5.6%	99.9*	-6	0.847	7298
2.42	142425	10565	10565	100.0%	6.6%	6.5%	142425	36.24	6.8%	99.8*	-1	0.821	9580
2.09	164897	12416	12416	100.0%	8.9%	9.0%	164897	27.10	9.3%	99.8*	-2	0.774	11430
1.87	153594	14023	14028	100.0%	13.0%	14.1%	153594	16.50	13.7%	99.4*	-1	0.723	13033
1.71	149327	15407	15433	99.8%	23.4%	26.6%	149327	9.03	24.7%	98.0*	0	0.693	14425
1.58	126283	16575	16751	98.9%	39.7%	46.4%	126249	4.68	42.6%	92.1*	-1	0.660	15075
1.48	102541	16907	17961	94.1%	66.7%	79.6%	102486	2.47	73.0%	81.1*	0	0.636	15060
1.40	99506	16519	19038	86.8%	111.0%	134.0%	99307	1.50	121.6%	59.6*	0	0.610	13819
total	1102850	115447	119259	96.8%	8.4%	8.7%	1102562	16.05	8.8%	99.9*	-1	0.712	103518

  

NUMBER OF REFLECTIONS IN SELECTED SUBSET OF IMAGES	1109034
NUMBER OF REJECTED MISFITS	5820
NUMBER OF SYSTEMATIC ABSENT REFLECTIONS	265
NUMBER OF ACCEPTED OBSERVATIONS	1102949
NUMBER OF UNIQUE ACCEPTED REFLECTIONS	115467

## 4. 参考文献

- Kanematsu, et al., *PNAS*, 2022
- Iwasa, et al., *Front Cell Dev Biol*, 2023