



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）。以前の実験では、ややアルカリ寄り（pH 8.0）の条件化で得た結晶の構造を解析してきた。前回の実験において細胞内の pH に近い条件下（pH 7.5）で得られた結晶からの X 線回折を測定した。今回はそれに引き続き pH 7.0 の溶液中で得られた結晶を測定に用いた。

2. 実験内容

アクチンは、ニワトリささみ肉より調整したアセトンパウダーより精製した。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、HEPES buffer (pH 7.0)を含む結晶化母液を用いて結晶化した。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、最高分解能 1.5 Å のデータセットが得られた。XDS による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した。今後、構造最適化を行う。

SUBSET OF INTENSITY DATA WITH SIGNAL/NOISE ≥ -3.0 AS FUNCTION OF RESOLUTION												
RESOLUTION LIMIT	NUMBER OF REFLECTIONS			COMPLETENESS OF DATA	R-FACTOR observed	R-FACTOR expected	I/SIGMA	R-meas	CC(1/2)	Anomal Corr	SigAno	Nano
	OBSERVED	UNIQUE	POSSIBLE									
4.47	19649	3648	3920	93.1%	7.9%	6.7%	19608	22.48	8.8%	99.6*	-3	0.926 2456
3.17	44296	6687	6759	98.9%	6.6%	6.1%	44269	25.89	7.2%	99.7*	-1	0.872 5503
2.59	59989	8523	8614	98.9%	10.3%	10.0%	59957	17.29	11.1%	99.4*	-1	0.814 7322
2.24	68563	9959	10143	98.2%	15.2%	15.2%	68493	12.11	16.5%	98.9*	-1	0.792 8471
2.01	69034	11046	11435	96.6%	24.0%	24.6%	68930	7.74	26.2%	96.8*	-3	0.743 8643
1.83	83884	12383	12554	98.6%	42.1%	43.6%	83822	4.93	45.6%	93.0*	1	0.738 10332
1.70	93167	13449	13673	98.4%	74.8%	78.0%	93095	3.00	80.8%	81.8*	-2	0.699 11373
1.59	99623	14174	14593	97.1%	119.2%	124.8%	99554	2.02	128.6%	64.1*	1	0.688 12032
1.50	71940	12725	15541	81.9%	176.1%	184.6%	71557	1.26	193.7%	38.1*	-1	0.649 8420
total	610145	92594	97232	95.2%	20.1%	20.3%	609285	8.15	21.8%	99.4*	-1	0.744 74552

4. 参考文献

1. Kanematsu, et al., *PNAS*, 2022