



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)。フラグミンと似た主鎖折りたたみ構造を持つタンパク質は数多く存在する。その内の一つであるコフィリンに注目し、古細菌に存在するホモログの構造解析を行った。前回のビームタイムである門由来のコフィリン結晶から最高分解能 1.5 Å のデータセットが得られた。今回は別の門由来のコフィリン結晶の測定を行った。

2. 実験内容

古細菌コフィリンは大腸菌発現系を用いて精製した。市販のスクリーニングキットを用いて、シッディングドロップ蒸気拡散法で結晶化条件のスクリーニングを行った。得られた結晶について、BL2S1 で回折実験 (波長 1.12 Å) を行った。回折データは 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 1.6 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。AlphaFold3 によって得られたモデル構造を用いて、分子置換法で初期位相が得られた。空間群は C2 で、単位胞あたり 1 分子の古細菌コフィリンを含んでいた。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 OBSERVED	NUMBER OF REFLECTIONS UNIQUE	NUMBER OF REFLECTIONS POSSIBLE	COMPLETENESS OF DATA	R-FACTOR observed	R-FACTOR expected	R-FACTOR COMPARED	I/SIGMA	R-meas	CC(1/2)	Anomalous Corr	SigAno	Nano
4.76	4620	829	894	92.7%	3.2%	3.3%	4611	46.30	3.5%	99.9*	10	0.891	624
3.38	9692	1491	1524	97.8%	3.7%	3.5%	9690	46.28	4.1%	99.9*	-4	0.864	1301
2.76	13348	1926	1934	99.6%	4.5%	4.3%	13346	35.16	4.9%	99.9*	0	0.850	1735
2.39	16121	2283	2295	99.5%	7.2%	7.0%	16120	22.34	7.8%	99.8*	-3	0.806	2072
2.14	15234	2487	2567	96.9%	11.1%	11.2%	15225	13.51	12.1%	99.4*	-5	0.770	2233
1.96	17975	2764	2837	97.4%	20.0%	20.9%	17971	8.05	21.8%	98.3*	0	0.755	2496
1.81	20606	3037	3074	98.8%	38.3%	41.8%	20602	4.21	41.5%	95.8*	-1	0.716	2826
1.69	22289	3248	3281	99.0%	80.6%	87.6%	22287	2.11	87.2%	83.4*	-3	0.661	3045
1.60	23048	3435	3488	98.5%	148.5%	163.0%	23031	1.11	161.1%	56.4*	1	0.625	3161
total	142933	21500	21894	98.2%	6.1%	6.1%	142883	14.21	6.6%	99.9*	-1	0.741	19493
NUMBER OF REFLECTIONS IN SELECTED SUBSET OF IMAGES					143543								
NUMBER OF REJECTED MISFITS					594								
NUMBER OF SYSTEMATIC ABSENT REFLECTIONS					0								
NUMBER OF ACCEPTED OBSERVATIONS					142949								
NUMBER OF UNIQUE ACCEPTED REFLECTIONS					21505								

4. 参考文献

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