



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。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ことで、細胞内のアクチン再利用を促進する重要なアクチン結合タンパク質である。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の X 線結晶構造を報告している (文献 1, 2)。最近の研究により、ゲルゾリン様タンパク質は真核生物の祖先であると考えられているアズガルド古細菌にも存在することがわかってきた (文献 3)。今回の実験ではこのアズガルド古細菌由来のゲルゾリン様タンパク質の原子構造の決定を目指す。

2. 実験内容

アズガルド古細菌ゲルゾリン様タンパク質は、大腸菌系を用いて発現・精製した。市販のスクリーニングキットを用いて結晶化条件の探索を行い、これをさらに最適化して六角柱状の単結晶 (~0.2 mm) を得た。BL2S1 において凍結条件で回折実験 (波長:1.12 Å) 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 1.9 Å 程の回折スポットが得られた。空間群は $P6_{22}$ で、unit cell parameter は、59.76 59.76 162.58 90 90 120 であった。測定に用いた結晶の写真と、備え付けの XDS によって行った回折データの統計値を以下に示す。構造解析に十分なデータであると考えられる。現在構造解析中である。



SUBSET OF RESOLUTION LIMIT	INTENSITY DATA OBSERVED	WITH SIGNAL/NOISE UNIQUE	>= -3.0 AS FUNCTION POSSIBLE	OF RESOLUTION COMPLETENESS OF DATA	R-FACTOR observed	OF RESOLUTION R-FACTOR expected	COMPARED	I/SIGMA	R-meas	CC(1/2)	Anomal Corr	SigAno	Nano
5.50	6562	716	729	98.2%	8.1%	7.3%	6549	27.80	8.6%	99.5*	15	1.114	345
3.90	17194	1143	1144	99.9%	7.3%	7.5%	17193	37.12	7.6%	99.7*	5	0.926	777
3.19	22741	1416	1416	100.0%	8.0%	8.1%	22741	33.89	8.3%	99.7*	-2	0.874	1048
2.76	26144	1636	1636	100.0%	11.3%	11.8%	26144	22.75	11.7%	99.5*	0	0.857	1277
2.47	33729	1822	1822	100.0%	18.8%	21.7%	33729	14.49	19.3%	99.2*	1	0.755	1459
2.26	37910	2014	2015	100.0%	32.4%	40.4%	37910	8.54	33.3%	98.1*	-2	0.679	1640
2.09	38764	2169	2169	100.0%	56.0%	73.6%	38764	4.72	57.7%	95.8*	-3	0.625	1804
1.96	23123	2299	2301	99.9%	88.6%	112.4%	23113	2.05	93.3%	78.5*	-2	0.627	1868
1.84	11510	2216	2452	90.4%	132.0%	157.7%	11290	0.88	145.8%	64.7*	-4	0.599	1092
total	217677	15431	15684	98.4%	11.2%	12.2%	217433	13.48	11.6%	99.7*	-1	0.732	11310

4. 参考文献

1. Takeda, et al., *J Muscle Res Cell Motil*, 2020
2. Kanematsu, et al., *PNAS*, 2022
3. Akil, et al., *Commun Biol*, 2022