

別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

主 論 文 の 要 旨

論文題目

コフィリンが結合したアクチン線維のクライオ電子顕微鏡法による近原子分解能構造決定

氏 名 田中 康太郎

論 文 内 容 の 要 旨

アクチン線維から作られるアクチン超分子構造は、筋収縮、細胞運動、細胞分裂等、真核細胞内において様々な役割を担う。アクチン超分子構造が必要に応じて構築され、機能を発揮し、やがて破壊される過程では、様々なアクチン結合蛋白質によってアクチンの重合と脱重合が制御されている。その中でもアクチン脱重合因子(ADF)/コフィリンファミリーの蛋白質は、主にアクチン線維の切断と脱重合の促進によってアクチンの重合と脱重合のサイクルを加速する。

本研究では、ADF/コフィリンの作用機構を蛋白質構造のレベルで理解するために、アクチン 1 分子に対しコフィリンが 1 分子の割合で結合したアクチン線維であるコフィラクチンの高分解能構造をクライオ電子顕微鏡法により決定することに取り組んだ。

電子直接検出器でコフィラクチンの氷包埋像を撮影し、ベイズ推定に基づく単粒子解析アルゴリズムを用いて 3 次元構造を再構成することにより、アミノ酸残基の側鎖の配向やマグネシウムイオンの存在まで確認できる近原子分解能(分解能 3.8Å)での構造決定に成功した。分解能約 9Å の先行研究と比較して著しい進歩であり、アクチンとコフィリンの構造と分子間相互作用部位をアミノ酸残基側鎖レベルで記述することができた。

アクチンはアウトドメイン(OD)とインナードメイン(ID)がヒンジを介して繋がった構造をしており、さらに OD はサブドメイン(SD)1 と SD2、ID は SD3 と SD4 に分けられる。本研究により、ID の大部分と SD1 の大部分は異なるアクチン構造間でほぼ同じ構造であり、剛体と見なせることが分かった(ID 剛体領域と SD1 剛体領域)。アクチンの構造変化は、ID 剛体領域と SD1 剛体領域の相対的な位置変化により特徴づけられる。単量体アクチン(G アクチン)の構造(G 型)から、コフィリンが結合してい

ないアクチン線維中のアクチンの構造(F型)への変化では、SD1とSD3を貫く軸(G/F軸)の周りで2つの剛体領域が回転し、ねじれの位置関係にある状態(G型)から平らな状態(F型)に変化する。一方G型からコフィラクチン中のアクチンへの構造変化は、G/F軸と直行する軸の周りでSD2とSD4が近づく方向へ2つの剛体領域が回転するもので、G型ともF型とも異なる構造である(C型)。コフィリンとアクチンの相互作用部位は大きくわけてGサイトとFサイトに分類でき、GサイトはID剛体領域とSD1剛体領域の両方に、FサイトはSD1剛体領域のみに存在する。重要なことに、ADF/コフィリンファミリーに属するツインフィリンのC端ドメインが単量体アクチンに対しGサイトを介して結合した複合体中のアクチン構造がC型であることを今回見出した。このことは、コフィリンがアクチンに対しGサイトを介して結合するだけで、2つの剛体領域の相対位置関係を誘導、固定し、アクチンの構造をC型に変化させられることを示唆する。以上の知見はコフィリンの作用機構を理解するための鍵となるだけでなく、アクチンの構造多形、構造動態の理解に対しても進歩と言える。

また、本研究の結果を元にして、コフィリンに関する次の事柄を説明できるモデルを提唱した。1) コフィリンはどのようにしてアクチン線維に結合するか。2) コフィリンはなぜADP結合型アクチン線維に好んで結合するのか。3) コフィリンはどのようにしてアクチン線維に対し協同的に結合するのか。4) コフィリンクラスターの形成とアクチン線維切断の機構。5) コフィリンが線維端アクチン分子の脱重合速度を制御する機構。

本論文で提唱したモデルは一部仮定に基づくため今後実験的な検証が必要であるが、これまで蛋白質構造レベルでの説明がなされていなかったことに対して近原子分解能構造を含む一定の根拠を元に説明できたことは重要な進歩であり、今後のコフィリンおよびアクチンの研究において役立てられるものと信じている。