

## 中間径フィラメントにおけるテール領域内共通 $\beta$ シート構造の機能解析

(農工大院工<sup>1</sup>、産総研細胞分子工学<sup>2</sup>、産総研バイオメディカル<sup>3</sup>、早大院先進理工<sup>4</sup>) ○内田 幸希<sup>1</sup>、山岸 彩奈<sup>1,2</sup>、長崎 晃<sup>3</sup>、上田 太郎<sup>4</sup>、中村 史<sup>1,2</sup>

Functional analysis of common beta-sheet structure in the tail domain of intermediate filaments (<sup>1</sup>Tokyo Univ. Agric. Technol., <sup>2</sup>Cell. Mol. Biotech. Res. Inst., AIST, <sup>3</sup>Biomed. Res. Inst., AIST, <sup>4</sup>Grad. Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ.) ○Koki Uchida<sup>1</sup>, Ayana Yamagishi<sup>1, 2</sup>, Akira Nagasaki<sup>3</sup>, Taro Q. P. Uyeda<sup>4</sup>, Chikashi Nakamura<sup>1,2</sup>

Vimentin, an intermediate filament (IF), is a marker of mesenchymal cells and has attracted attention because of its high expression in malignant cancer cells. IF proteins consist of three domains from the N-terminal side: head, rod, and tail, and vimentin is considered to bind to actin filaments in the tail domain and form a network structure throughout the cytoplasm. However, the actin binding site in vimentin has not been determined.

In this study, we focused on the  $\beta$ -sheet structure commonly found in the type III IF tail domain and investigated the effect of this structure on IF-actin binding. In vimentin knockout (KO) cells generated from a mouse breast cancer cell line, intracellular vimentin aggregated when the conserved sequence RDG in the loop of the  $\beta$ -sheet structure was deleted and the beta-structure was disrupted in vimentin. Therefore, the  $\beta$ -sheet structure of the tail domain is important for vimentin-actin binding, and type III IFs are considered to bind to actin by the  $\beta$ -sheet structure, forming IF networks. We are currently evaluating the binding of GFP-fused vimentin  $\beta$ -sheet to actin filament in vimentin KO cells.

**Keywords :** *Intermediate filament, Actin, Vimentin, Protein-protein interaction*

中間径フィラメント (IF) のビメンチンは間葉系細胞のマーカーであり、悪性のがん細胞で高発現であることから注目されている。IF を構成するタンパク質は N 末端側からヘッド・ロッド・テールの 3 領域で構成されており、ビメンチンはテール領域で細胞膜直下のアクチン繊維と結合し細胞質に網目構造を形成すると考えられているが、その結合様式は不明である。

そこで本研究では、III 型 IF テール領域に共通して存在する  $\beta$  シート構造に着目し、この構造が IF-アクチン間の結合に与える影響を調査した。マウス乳がん細胞株を用いて作成したビメンチンノックアウト (KO) 株において、 $\beta$  シート構造のループ内に存在する保存配列 RDG の欠失により同構造が破壊されたビメンチンを発現させた結果、細胞内ビメンチンが凝集することを見出した。よってビメンチン-アクチン結合にはテール領域の  $\beta$  シート構造が重要であり、同様の構造を持つ III 型 IF は  $\beta$  シート構造によってアクチンと結合し、細胞内に網目構造を形成すると考えられる。現在 GFP 融合ビメンチン  $\beta$  シート発現プラスミドをビメンチン KO 株に導入し、アクチン繊維との結合性を評価する試験も行っており、その結果についても併せて報告する。