

ダイナクチン p150^{Glued} と微小管との複合体に関する構造研究

蛋白研-蛋白質結晶学研究室 道本 優

【緒言】ヒトをはじめとした地球上の生命体では細胞内外で様々な蛋白質が協調的に、そして正常に機能を発現することでその生命活動を維持している。真核細胞内には協調性を示す蛋白質として、ダイニンという ATP 駆動型モーター蛋白質と細胞骨格を形成する蛋白質超分子ポリマーである微小管が存在している。ダイニンは細胞内でエンドソームやミトコンドリアをはじめとした様々な輸送荷物を引き連れ微小管上に結合し、細胞膜側から細胞質方向へ一方に物質輸送を行う。このダイニンは単体でこの物質輸送を達成しているのではなく、多くの調節因子による助けを受け正常に機能を発現することが知られている。その調節因子の中でも大きな役割を果たすダイナクチンという超分子複合体が存在する。ダイナクチンは複数のアクチン関連蛋白質と付随する蛋白質で構成される本体と、コイルドコイルや付随するサブドメインから構成される腕のような構造を持つ p150^{Glued} ドメインから成立している⁽¹⁾。ダイナクチンがダイニンと結合した後に p150^{Glued} の先端に位置する CAP-Gly サブドメインが微小管と結合することにより、ダイナクチンがダイニンを微小管にリクルートすると考えられている。そしてこの過程がダイニンの正常な機能の発現に重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、現在この仮説は断片的な構造情報からの推察に留まっており、p150^{Glued} と微小管との結合によりどのような構造変化を起こすかについて詳細は十分に理解されていない⁽²⁾。

【結果と考察】本研究では構造解析実験、解離定数測定に先立ち、まず CAP-Gly と微小管モノマーTubulin について精製条件の検討を行い安定的な精製を実現した。得られた CAP-Gly 及び微小管の相互作用を定量的に議論するため、Tubulin を単体状態で固定化する Tubulin-DARPin 複合体を作成し、解離定数測定により CAP-Gly の機能評価を行った。更に Taxol 添加により重合状態で安定化した微小管と CAP-Gly を混合することで溶液中において安定な複合体を調製し、電子顕微鏡グリッドを作成して Titan Krios 300kV クライオ電子顕微鏡により画像データセットを取得した。これらの画像データから単粒子解析を行い、密度マップから微小管単体と複合体の立体構造を解析した。両者の比較から構造学的な構造機能相関について議論した。

【参考文献】(1) Carter, A. P. *et al.*, *The EMBO J.*, 40, e106164 (2021).
(2) Polenova, T. *et al.*, *Biophysical J.*, 117, 938-949 (2019).

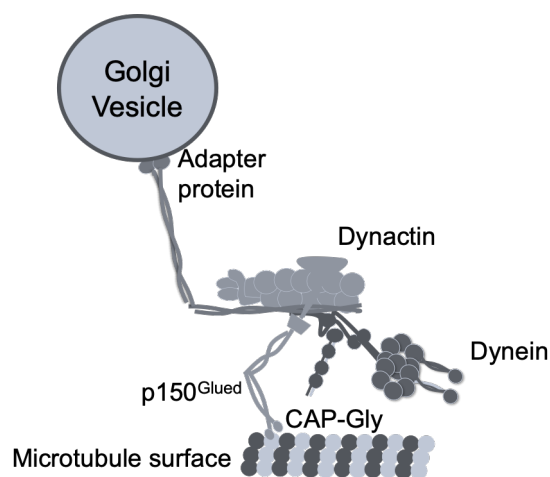


図 1. 微小管とダイニン及び調節因子の複合状態の模式図

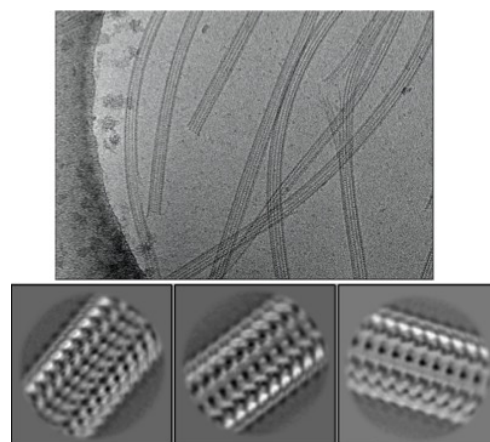


図 2 CAP-Gly-MT のクライオ電子顕微鏡写真(上)と 2D-class 平均イメージ図(下)