最近の研究から

筋収縮を調節するしくみの解明に向けてトロポニンC・トロポニンIフラグメント複合体の結晶構造

科学技術振興事業団さきがけ研究 21 武田壮一

松下電器産業(株) 国際研究所 Dmitry G. Vassilyev

松下電器産業(株) 国際研究所 理化学研究所播磨研究所 前田雄一郎

Soichi TAKEDA, Dmitry G. Vassilyev and Yuichiro MAEDA: Molecular Mechanism of Muscle Regulation — Structural Study of Troponin C in Complex with Troponin I Fragment.

Troponin (Tn), the complex of three subunits (TnC, TnI and TnT), plays a key role in calcium-dependent regulation of striated muscle contraction. In order to elucidate the interactions between the Tn subunits, we have determined the crystal structure of TnC in complex with the N-terminal fragment of TnI (TnI₁₋₄₇) at 2.3-angstrom resolution. The TnC/TnI₁₋₄₇ structure implies a mechanism of how Tn regulate the muscle contraction and suggests a unique α -helical regulatory TnI segment, which binds to the N-lobe of TnC in its calcium-bound conformation.

1. はじめに

筋肉の収縮はミオシンから成る“太い繊維”とアクチンおよびその結合蛋白質から成る“細い繊維”の滑り運動であることが知られている。その滑りの原動力はモーター活性を持つミオシン分子がATPの加水分解エネルギーを力学的エネルギーに変換することによって生じ、その結果太い繊維と細い繊維の間に滑りが発生する。細い繊維には滑りを調節するしくみがあり、骨格筋および心筋ではトロポニン (Tn) へのカルシウム・イオンの結合によって調節されている。^{1), 2)}トロポニンは1960年代初頭に江橋節郎により筋収縮調節の要となる蛋白質として発見され、この一連の研究は単に筋肉研究の進展をもたらしたのみならず、生体内で多様な役割を担うカルシウム・イオンの重要性を周知させた。

トロポニンはトロポニンT (TnT)、トロポニンI (TnI) およびトロポニンC (TnC) の3つのサブユニットから構成されている。各サブユニットの名称は、トロポミオシン結合サブユニット、インヒビトリ-サブユニット、およびカルシウム結合サブユニットとその機能に由来し、ウサギ骨格筋由来のものでは、分子量がそれぞれ約31 kD, 21 kDおよび18 kDとなっている。このヘテロ三量体であるトロポニンはアルファヘリカルコイルドコイル蛋白質であるトロポミオシンと一対一の結合を介し、アクチン7分子に

対し1分子の割合で細い繊維上に存在している (図1)。^{3), 4)}

筋収縮調節のしくみについて1970年代に立体障害仮説が提唱された。それは、TnCのNドメインへのカルシウ

図1 筋肉、細い繊維の模式図 (Schematic drawing of the muscle thin filament.)

ム結合がトロポニンの構造を変え、さらにトロポミオシンの位置をアクチン・ミオシン間の相互作用を立体的に阻害する位置から相互作用できる位置へと変化させることで、筋は弛緩状態から収縮状態へ変るといふ仮説である。しかし、この仮説では調節の協調性がどのように生じるか、ミオシン頭部との相互作用の調節への影響が視野に入っていない等、大きな問題が残されている。収縮調節のメカニズムを理解するには細い繊維全体の立体構造とその変化を知ることが重要である。しかし、現在のところこのような大きな繊維状蛋白質複合体の構造を高分解能で得ることは難しく、測定方法と試料の両面にわたって今後多くの新しい工夫を積み重ねる必要がある。著者たちは問題解決の一つのアプローチとして、良くデザインされた部分複合体を調製しX線結晶構造解析を行い、得られた部分構造から細い繊維全体の構造および機能発現のメカニズムを理解しようと考えている。

ここ数年、モノマー型アクチン、ミオシン頭部、カルシウム結合型TnC等、筋肉を構成する主要な蛋白質の構造が相次いで解明され、筋肉研究は新しい局面を迎えている。著者たちは最近、トロポニンの部分複合体の結晶構造を解明し、筋収縮調節についての重要な情報を得ることができた。ここではこの結果を中心にトロポニンの構造と機能に関する最近の研究成果を概説してみたい。

2. TnC 単独の構造

1985年、ニワトリ骨格筋由来TnCおよび七面鳥骨格筋由来TnCの、二つのTnCの原子構造がほぼ同時期に発表された^{5),6)}。単独のTnCの結晶構造(図2)は、それぞれ2つのカルシウム結合モチーフ(EF-hand motif)から成るNおよびCドメインとそれらを結ぶアルファヘリックスから成っていて、やはり同じ頃X線結晶構造解析されたカルモジュリン⁷⁾と非常に良く似ていた。この中心ヘリックス(D/Eヘリックス)がはたして複合体中でも同様な構造を取るかについて長らく議論されてきたが、最近、多次元NMRによる解析により溶液中ではGly-89を中心に10アミノ酸残基はほどけ、特定の構造を取っていないことが示された⁸⁾。基質認識機構がカルモジュリン^{9),10)}と似ているとすると、この結果はTnCが他のサブユニットと結合した状態では結晶構造図2とは異なる構造を取る可能性を示唆した。

TnCのN末端ドメインの構造変化について、最近多くの新しい知見が得られている。これまでも分子モデリングされていた¹¹⁾が、実際に骨格筋型TnCではカルシウム結合に伴い、B, C二本のヘリックスが他のN, AおよびDヘリックスから離れるように外側に開き、その結果それまで埋もれていた疎水性残基が露出するという構造の変化が明らかになった(図3)¹²⁾⁻¹⁴⁾。この構造変化が信号を次の分子に伝える重要な役割を果たすと考えられ、その

図2 トロポニンC単独の結晶構造 ニワトリTnCの立体構造(1TOP)で、ウサギ骨格筋TnCのGly-89に対応する残基の位置を表示している。N, A~Hはヘリックスを表す(以下の図ですべて共通)。(Crystal structure of troponin-C alone.)

図3 トロポニンCのNドメインのカルシウム結合に伴う構造変化。NMRによる立体構造¹¹⁾(1TNQ)を基に作製。カルシウム結合に伴い、BおよびCヘリックスが他の部分と相対的に離れるように移動し、その結果埋もれていた疎水性残基が露出する。(Structural changes associate with the calcium binding to the N-domain of TnC.)

相手方となる分子はアクトミオシンの相互作用を阻害するTnIであろうと考えられたが、¹⁵⁾どの部分がどのように相互作用するかは不明であつた。

3. トロポニン複合体の結晶化

筋肉から調製したトロポニンは複合体の状態で単離され、収量も、材料としてウサギ骨格筋を用いた場合、一羽あたり数百ミリグラムと高い。それにもかかわらずこれまで複合体として結晶を得たという報告はない。原因として、アイソマーの存在とトロポニン単独での構造的不安定さが考

えられる。TnTにはN末端部のオルタナティブ・スプライシングによる多くのアイソマーが存在し、その上、TnTおよびTnIの分子は一部リン酸化を受ける。また、トロポニンは細い繊維に組み込まれて機能を発揮する分子であり、単離された状態ではたして安定な状態をとっているかという疑問がある。事実、FRET (fluorescence resonance energy transfer)の測定でTnI内部の2残基間の距離が、筋繊維中と単離された状態と異なること¹⁶⁾や、ロータリーシャドー法によって電子顕微鏡観察されたトロポニンは、その大きさと形状にばらつきのあることが知られている。¹⁷⁾

最近では遺伝子工学的に機能発現に必要なドメインを得て構造解析することが容易にできるようになったが、どの部分を構造解析の対象に選ぶか、は非常に重要な問題である。目的の蛋白質の生理的機能を保持したドメインを見出し、調製法を確立し、結晶化に持ち込むというのが一般的な戦略である。以下に我々のトロポニン複合体の構造解析への取り組みを紹介する。

3.1 生理的機能を保持したドメインの検索

トロポニンの結晶化を進めるに当たって、上述した結晶化の妨げとなるであろう問題を解決する必要がある。アイソフォームの存在、構造的不安定さは、主にトロポミオシンと強く相互作用するTnTのN末端部に起因することが示唆され、この部分、および他の構造不安定な領域を取り除くことを試みた。さらに、さまざまな条件でトロポニン複合体の蛋白質分解酵素による分解を試み、どの部位が酵素的に切れやすいか、どの断片が複合体として残っているか、生じた部分複合体がどのような活性を保持しているか等を調べ、結晶化試料の候補となる部分複合体を得た(図4)。

キモトリプシンによりTnTのTyr-159が切断を受け、TnTのC末端部約100アミノ酸残基とTnCおよびTnIから成る生理機能を保持した部分複合体が単離されることが知られていたが、^{18), 19)}同酵素によりTnIのC末端部も切断を受けることが新たに分かった。²⁰⁾しかもこのTnIの切断箇所はカルシウムイオン濃度によって異なる。カルシウムイオン存在下でMet-134のC末端、不在下でMet-116のC末端と、質量分析により同定された。より緩やかな反応条件で調べてみると、カルシウムイオン不在下でLeu-122とLeu-125も切断を受けることが分かり、カルシウムイオン存在下では117-134残基の領域が溶媒から遮蔽されていること、逆に不在下では溶媒に露出することが示唆された。さらにTnI₁₋₁₁₆およびTnI₁₋₁₃₄を含む部分複合体のアクチン・ミオシン(アクトミオシン)のATPを加水分解する活性を調べたところ、117-134残基がカルシウム調節に必須の領域であることがわかった。これまでTnIの96-116残基の部分(阻害セグメントTnI_{inh}として知られていた部分)はアクチンに結合してミオシンとの相互作用を阻害すると考えられていたので、すぐ近傍のこの

	Acto-S1 ATPase		Ac/Tm binding
	Activation	Inhibition	
TnT/TnC/TnI(intact)	+++	+++	+++
TnT ₁₅₉₋₂₅₉ /TnC/TnI	+/-	+++	++
TnT ₁₅₉₋₂₅₉ /TnC/TnI ₁₋₁₃₄	++	++	+
TnT ₁₅₉₋₂₅₉ /TnC/TnI ₁₋₁₁₆	-	++	+
TnT ₁₅₉₋₂₄₂ /TnC/TnI ₁₋₁₃₄	-	+/-	+/-
TnC/TnI ₁₋₄₃	N.D.	N.D.	-

図4 トロポニンの機能・構造ドメイン。上にTnT,TnCおよびTnIの各ドメインと蛋白質分解酵素による主要な切断箇所を模式的に示す。下に得られた部分複合体の機能をまとめる。(Structural and functional domains of the troponin complex)

領域がTnCのNドメインと直接相互作用し調節に重要なはたらきを担っている可能性が示唆された。

さらに分解を進めるとTnIのTyr-43の近傍がキモトリプシンの切断を受け、最終的にこのTnIのN末端断片とTnCから成る複合体を生じることが分かった。N末端57残基欠如TnIがTnTおよびTnCと弱い相互作用しか示さないことが示され、²¹⁾TnIのN末端部は三量体形成の要となる領域であることが示唆された。

このような生化学的知見を基に、我々はさまざまな複合体をデザイン、調製し結晶化を試みた。

3.2 試料の調製および結晶化

ここでは構造解析を行ったTnC/TnI₁₋₄₇複合体の試料調製法について述べる。上述したようにTnIのN末端約40アミノ酸残基がTnCと強く結合することが分かり、このTnI断片とTnCとの複合体を調製し結晶化を行った。試料調製にあたり、この複合体をトロポニン三量体から酵素的に切り出すのは効率が悪く、また切断箇所が均一でないことが質量分析により確かめられ、別の手法によりTnIのN末端断片を得ることにした。約40残基のペプチドを得るには、合成では結晶化試料として十分な純度が得られるか疑問があり、また大腸菌による直接発現ではたとうまく発現されても精製の困難が予想された。ウサギ骨格筋、速筋型TnIでは3つのシステイン残基を含んでいる。変異体TnI(C64A, C133S)を用い、分子内に唯一のCys-48を化学的に修飾・切断し、生じるN末端47残基

から成るペプチド断片を得ることにした(図5). NTCB (2-nitro-5-thio-cyanobenzoic acid) を用いシステイン残基をシアノ化し, アミノ基側で切断するという方法²²⁾である. この方法の利点は酵素による分解と異なり, 反応性の高いアミノ酸による特異性の高い切断が行われる点にある. TnI (C64A, C133A) は, すでにワイルドタイプで確立された精製法で精製でき, また生じる TnI₁₋₄₇ 断片も高収量(モル計算で約60%以上の回収率)で回収することができた. このように化学的切断法を蛋白質への変異導入と結び付けることで, ペプチド合成には長すぎ, 大腸菌による直接発現が困難なペプチド断片を効率よく調製することが可能である. このような化学的切断法として他にはCNBrによるメチオニン残基の切断が上げられる. 我々は変異体 TnT (M124L) を用い, 分子内二個所のメチオニン残基の特異的切断により断片 TnT₁₅₆₋₂₅₉ を得, これと TnC および TnI との複合体を作製し結晶化に成功している.

このように得た TnI₁₋₄₇ 断片をカラムクロマトグラフィーによる精製を行った後, 同じく大腸菌による大量発現により得た TnC と複合体化し, 結晶を調製した. 結晶化条件の検索を行ったところ, さまざまな条件で異なる結晶を得た. 結晶はいずれも pH6.5 から8 ぐらいの中性域でのみ生じ, 大別するとクエン酸および酒石酸のカリウム塩, ナトリウム塩およびアンモニウム塩で生じる三方晶系ものと MPD およびポリエチレングリコール 400 もしくは 600 で生じる立方晶系ものがあつた. 解析には再現性, 結晶の質等を検討してクエン酸ナトリウムを沈殿剤として得た結晶を用いた.

図5 TnC/TnI₁₋₄₇ 複合体の調製法. (Summary of the preparation of the TnC/TnI₁₋₄₇ complex.)

4. TnC/TnI₁₋₄₇ の結晶構造

測定は, 結晶を凍結し, BM-14 (ESRF) で行った. 構造解析は水銀誘導体 PCMBs (p-chloro-mercuribenzenesulfonate) による重原子同型置換体結晶1個から得た吸収端近傍三波長の MAD データとネイティブ結晶1個からのデータを用いて2.3 オングストローム分解能での構造精密化を行った. 結晶化および構造解析について詳しくは原著論文を参考されたい.^{23), 24)}

さて, 得られた TnC/TnI₁₋₄₇ の立体構造(図6)であるが, 各ドメインを見てみると TnC 単独の構造と比べて末端数残基を除き違いがない. 特に C 末端ドメインは TnI₁₋₄₇ のアルファヘリックス(残基3-33の部分)を覆うように結合しているが, それ自体の主鎖構造に違いが見られない. しかし, 両ドメイン間の相対的關係は TnC 単独の結晶構造とは大きく異なり, 亜鈴型でなくコンパクトな構造を取っている. N, C ドメイン間には直接の水素結合があり, さらに双方のドメインに TnI₁₋₄₇ のアルファヘリックスが相互作用し, コンパクトな構造を安定化している. そのため, NMR の結果⁷⁾から予想されたように, Gly-89 を中心として5残基が解けてループとなり, D, E ヘリックス間が約90度で折れている. TnI₁₋₄₇ の両親媒性部分(残基17-26)は, TnC のC ドメインの疎水性残基で構成される溝に38のファンデルワールス相互作用で強く結合している. 特に, Met-21 と Leu-22 はこの2残基で16のファンデルワールス相互作用に関与し, 二つの分子間の結合に重要な役割を担っているようである.

TnC の両ドメインはともに2組の EF-hand から成り, 構

図6 TnC/TnI₁₋₄₇ 複合体の立体構造 黒丸はカルシウムイオンを表している. (Structure of the TnC/TnI₁₋₄₇ complex.)

造的に互いに似ていること、TnI₁₋₄₇がCドメインに結合することを考えると、調節を担うNドメインがカルシウムイオンを結合して開いた時(図3参照)に、もう一つ別の両親媒性アルファヘリックスが結合するであろうと推測される。これまでの研究でTnI_{inh}とそのC末端側近傍がその候補として考えられていたが、実際、残基117-127が両親媒性アルファヘリックスを形成するであろうこと、この部分と残基17-27(Cドメインと結合する)がよく似た疎水性残基の分布を持つこと(図7)が分かり、TnI残基96-127(調節セグメント、TnI_{reg}と呼ぶことにする)とTnCの結合モデルを構築した(図8)。疎水性残基の内でも、特に、種間で良く保存されているMet-121およびLeu-122が、Met-21およびLeu-22と同様、TnCとTnI間での分子認識に最も重要な役割を果たしていると考えられる。2つのPro残基(109-110)はTnI_{reg}の方向を変え、それよりN末端側がTnCのC末端側に向かってそこでの相互作用を可能としている。

図7 TnIの機能ドメインとTnC結合部位のアミノ酸配列。(Functional domains within TnI and amino acid sequences of TnC-binding regions.)

図8 TnC/TnI₁₋₄₇/TnI_{reg}モデル構造。(TnC/TnI₁₋₄₇/TnI_{reg} model structure.)

TnI₁₋₄₇とTnI_{reg}の間には64残基のペプチド鎖の空白があるが、最近、この領域を含むTnI₅₇₋₁₀₇残基がHR (heptad repeat)を持ち、同じくHR配列を持つTnTのC末端領域(184-240残基)とのアルファヘリカルコイルドコイルの形成を示唆する結果が得られている。²⁵⁾TnT₁₈₄₋₂₄₀の両側(70-159および243-259残基)にはトロポミオシン結合領域があり、今後、TnIとTnT間の相互作用の極性が分かれば、FRETによる距離測定²⁶⁾等と合わせて、トロポミオシン上にどのようにトロポニン各サブユニットが配置しているか、ある程度推測することが可能になると思われる。

5. 筋収縮調節の仕組みは？

さて、筋収縮はどのように調節されるか、得られたTnC/TnI₁₋₄₇の結晶構造(図6)およびTnC/TnI_{reg}モデル(図8)から考えてみよう。TnCのNドメインへカルシウムイオンが結合すると、BおよびCヘリックスが動くが、これらのヘリックスはCドメインあるいはTnIのN末端とも直接相互作用をしていないため、全体としてコンパクトな構造を変えることはない。TnIについては、これまで、二つのProを含む104から115残基のセグメントがアクトミオシンATPase阻害活性を示す最小領域であること、²⁷⁾C末端側の134から181残基が第二のアクチン結合領域であることが示されている。^{15), 20), 28)}カルシウムイオンを結合したTnCはそれら二つの領域に挟まれた両親媒性領域(116から127残基)に結合し、TnIのアクチンへの結合を解除するのではないかと考えられる。逆に弛緩時には、TnCの閉じた構造(図5)により両親媒性領域は外側に押し出され、溶媒に露出し、その結果アクチンと相互作用するようになるのであろう。

この「TnCとTnI_{reg}の結合がTnIによるアクトミオシン相互作用の阻害を解除する」という仮説を支持する実験結果として、ペプチドTnI₁₁₅₋₁₃₁がTnCのNドメインの疎水性残基により形成される溝に結合するとNMRの結果、²⁹⁾さらにペプチドTnI₉₆₋₁₄₈のMet-121とLeu-122をそれぞれAlaに置換したものではTnIの阻害作用をTnCが解除できなくなる³⁰⁾との結果、が報告されている。

ところで、筋収縮調節におけるTnTおよびトロポミオシンの役割は何か？ 筋肉の細い繊維中では、アクチン7分子に対しトロポニンおよびトロポミオシンが1分子ずつの割合で存在している。TnIのアクチンへの結合だけでは、すべてのアクチンとミオシンの相互作用を制御することは不可能であり、トロポミオシンがトロポニンの情報を伝達する重要なはたらきを担っているものと考えられる。電子顕微鏡と三次元再構成法により、カルシウムイオン濃度の違いによるトロポミオシンの位置変化が観察された。³¹⁾しかし、FRETによる距離測定ではトロポミオシンの位置変化は観察されず、³²⁾トロポミオシンがアクチン上を動くかどうかについて結論はいまだ出ていない。

我々のTnC/TnI_{reg}のモデルは、筋収縮時のトリガーがどのようにしてなされるかを良く説明するが、収縮調節機構の全貌を理解するためには、今後、より大きな複合体単位でX線結晶構造解析を行うことが望まれる。

6. おわりに

本稿では、最近のトロポニン研究を概説するとともに、結晶化試料の検討から、TnC/TnI₁₋₄₇複合体の構造解析にいたるまでの、我々のトロポニン構造解析への取り組みを紹介した。構造解析を始めるに当たり、はたしてTnC/TnI₁₋₄₇のような部分複合体からどれほどの情報が得られるだろうか、との不安があったが、得られた分子間相互作用の詳細な情報はトロポニンの機能発現を理解する上で非常に有用であった。我々は、さまざまな複合体をデザイン・調製し結晶化に取り組んでいるが、結晶化しやすい部分複合体を調製することが結果として構造解析への近道であったように思う。現在、トロポニン三量体から成る結晶の改良に取り組んでおり、近い将来筋収縮調節のしくみがより明らかになることを期待したい。

文 献

- 1) S. Ebashi, and M. Endo: *Prog. Biophys. Molec. Biol.* **18**, pp.123-183 (1968).
- 2) S. S. Lehrer: *J. Muscle Res. Cell Motil.* **15**, pp.232-236 (1994).
- 3) I. Ohtsuki and K. Maruyama and S. Ebashi: *Adv. Protein Chem.* **38**, pp.1-67 (1986).
- 4) A. S. Zot and J. D. Potter: *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **16**, pp.535-559 (1987).
- 5) O. Herzberg and M. N. G. James: *Nature* **313**, pp.653-659. (1985).
- 6) M. Sundaralingam, R. Bergstrom, G. Strasburg, S. T. Rao, P. Roychowdhury, M. Greaser, and B. C. Wang: *Science* **227**, pp.945-948 (1985).
- 7) Y. S. Babu, J. S. Sack, T. J. Greenhough, C. E. Bugg, A. R. Means, and W. J: *Nature* **315**, pp.37-40 (1985).
- 8) C. M. Slupsky and B. D. Sykes: *Biochemistry* **30**, pp.7089-7096 (1995).
- 9) M. Ikura, G. M. Clore, A. M. Gronenborn, G. Zhu, C. B. Klee, and A. Bax: *Science* **256**, pp.632-638 (1992).
- 10) W. E. Meader, A. R. Means, and F. A. Quiocho: *Science* **262**, pp.1718-1721 (1993).
- 11) O. Herzberg, J. Mount and M. N. G. James: *J. Biol. Chem.* **261**, pp.2638-2644 (1986).
- 12) S. M. Gagne, S. Tsuda, M. X. Li, L. B. Smillie and B. D. Sykes: *Nat. Struct. Biol.* **2**, pp.784-789 (1995).
- 13) N. C. Strynadka, M. Cherney, A. R. Sielecki, M. X. Li, L. B. Smillie and M. N. G. James: *J. Mol. Biol.* **273**, pp.238-255 (1997).
- 14) A. Houdusse, M. L. Love, R. Dominguez, Z. Grabarek and C. Cohen: *Structure* **5**, pp.1695-1711 (1997).
- 15) C. S. Farah, C. A. Miyamoto, C. H. Ramos, A. C. da Silva, R. B. Quaggio, K. Fujimori, L. B. Smillie and F. C. Reinach: *J. Biol. Chem.* **269**, pp.5230-5240 (1994).
- 16) Y. Luo, J. L. Wu, J. Gergely and T. Tao: *Biophys. J.* **74**, pp.3111-3119 (1998).
- 17) I. Ohtsuki, Y. Onoyama, and F. Shiraishi: *J. Biochem.* **103**, pp.913-919 (1988).

- 18) I. Ohtsuki: *J. Biochem.* **86**, pp.491-497 (1979).
- 19) E. P. Morris and S. S. Lehrer: *Biochemistry* **23**, pp.2214-2220 (1984).
- 20) S. Takeda, T. Kobayashi, H. Taniguchi, H. Hayashi and Y. Maeda: *Eur. J. Biochem.* **246**, pp.611-617 (1997).
- 21) J. D. Potter, Z. Sheng, B. S. Pan and J. Zhao: *J. Biol. Chem.* **270**, pp.2557-2562 (1995).
- 22) C. A. Swenson and R. S. Fredricksen: *Biochemistry* **31**, pp.3420-3429 (1992).
- 23) Y. Saijo, S. Takeda, A. Scherer, T. Kobayashi, Y. Maeda, H. Taniguchi, M. Yao and S. Wakatsuki: *Protein Sci.* **6**, pp.916-918 (1997).
- 24) D. G. Vassilyev, S. Takeda, S. Wakatsuki, K. Maeda and Y. Maeda: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 4847-4852 (1998).
- 25) R. Stefanicsik, P. K. Jha and S. Sarkar: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **95**, pp.957-962 (1998).
- 26) M. Miki, T. Kobayashi, H. Kimura, A. Hagiwara, H. Hai, Y. Maeda: *J. Biochem.*, **123**, pp.324-331 (1998).
- 27) J. A. Talbot and R. S. Hodges: *J. Biol. Chem.* **256**, pp.2798-2802 (1981).
- 28) J. R. Pearlstone, B. D. Sykes and L. B. Smillie: *Biochemistry* **36**, pp.7601-7606 (1997).
- 29) R. T. McKay, B. P. Tripet, R. S. Hodges and B. D. Sykes: *J. Biol. Chem.* **272**, pp.28494-28500 (1997).
- 30) B. P. Tripet, J. E. Van Eyk and R. S. Hodges: *J. Mol. Biol.* **271**, pp.728-750 (1997).
- 31) W. Leman, R. Craig and P. Vibert: *Nature* **368**, pp.65-67 (1994).
- 32) M. Miki, T. Miura, K. Sano, H. Kimura, H. Kondo, H. Ishida and Y. Maeda: *J. Biochem.* **123**, pp.1104-1111 (1998).

プロフィール

武田壮一 Soichi Takeda

科学技術振興事業団さきがけ研究21研究員

松下電器産業(株) 国際研究所

〒619-0237 京都府相楽郡精華町光台3-4

email: soichi@crl.mei.co.jp

最終学歴: 名古屋大学大学院理学研究科生物学専攻
博士課程修了

専門分野: 蛋白質の生化学

現在の研究テーマ: トロポニンの構造と機能の解析

Dmitry G. Vassilyev

松下電器産業(株) 国際研究所

〒619-0237 京都府相楽郡精華町光台3-4

(現) 理化学研究所 播磨研究所 細胞情報伝達研究室

〒678-5143 兵庫県佐用郡三日月町三原323-3

最終学歴: モスクワ国立大学, ソ連科学アカデミー
大学院課程

専門分野: 蛋白質結晶学

前田雄一郎 Yuichiro Maeda

松下電器産業(株)国際研究所

京都府相楽郡精華町光台3-4

理化学研究所 播磨研究所 構造生物化学研究室

〒678-5143 兵庫県佐用郡三日月町三原323-3

最終学歴: 名古屋大学大学院 理学研究科 分子生
物学専攻博士課程修了

専門分野: 筋収縮と調節の分子機構

現在の研究テーマ: 筋肉細いフィラメントの構造
と機能