

細胞内創薬標的蛋白質の PX-BioSAXS を用いた構造機能相関解析

藤間 様子

奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科

原子レベル分解能での生体高分子立体構造を基盤とした創薬(Structure based drug design: SBDD)はその特異性の高さ、および副作用の低さから非常に有効かつ効率的な手法である。細胞内の情報伝達蛋白質は様々な疾患に関与するため有望な創薬標的である。これらの蛋白質分子は細胞内で離合集散を繰り返しながら特定の情報を伝える。その分子間で形成される特異的な結合界面(蛋白質-蛋白質相互作用)を標的とした SBDD は、既存の酵素や低分子リガンド受容体のような『鍵と鍵孔』モデルとは異なるアプローチとして注目を浴びている。しかしながら、細胞内情報伝達蛋白質を標的とした SBDD には克服すべき課題が多くある。その1つとして、細胞内で機能する真の蛋白質複合体構造を原子レベル分解能で決定する方法が存在しないことがあげられる。これまで、我々は、アルギニンメチル化、アセチル化、脂質修飾などの翻訳後修飾に注目し、『細胞内で働く真の蛋白質複合体構造の決定』を目指し、X線結晶構造法(PX)、X線小角散乱法(SAXS)、生化学、細胞生物学を融合した構造機能相関研究を展開してきた。

X線結晶構造解析法は分子量の制限無く高分解能かつ高精度で蛋白質の立体構造を決定できる非常に有効な方法である。しかしながら、精製により蛋白質を純化および結晶化する過程において本来機能を有していた構造を変化させる可能性があるという問題も抱えている。また、結晶を得る為に本来保持していた構造を取って人工的に一部改変することも盛んに行われている。特に蛋白質-蛋白質複合体の構造研究においては分子自体が複数の結合面を持つ事も少なくなく、結晶化することにより本来有している構造とは異なる分子複合体状態を形成する、または、得られた結晶構造中から溶液中で機能する機能単位構造を抽出することが難しいケースも存在する。一方、X線小角散乱法は純化した蛋白質を用いて非常に簡単に分子の概形(envelope 構造)を決定できる手法である。また、機能構造を保持したまま結晶化し構造決定するための蛋白質の調製方法においても有効な指針を与えてくれる。細胞内での蛋白質-蛋白質複合体の機能構造解明を目的とする場合、高分解能結晶構造と生化学的に機能を発揮することが明らかである溶液中での分子概形の差異を慎重に評価することは非常に重要である。

本発表では、上記の課題に対する取り組みに焦点をあて、数年来取り組んできた PX-BioSAXS 相関解析の具体例を紹介したい^(1,2,3,4)。

- (1) Hasegawa, M., Toma-Fukai, S., Kim, J-D., Fukamizu, A., Shimizu, T. *FEBS Lett.* (2014)
- (2) Toma-Fukai, S., Kim, JD., Park, KE., Kuwabara, N., Shimizu, N., Krayuhina, E., Uchiyama, S., Fukamizu, A., Shimizu, T. (2016) *J. Mol. Biol.*
- (3) Shimizu, H., Toma-Fukai, S., Saijo, S., Shimizu, N., Kontani, K., Katada, T., Shimizu, T. (2017) *J. Biol. Chem.*
- (4) Shimizu, H., Toma-Fukai, S., Kontani, K., Katada, T., Shimizu, T. (2018) *P.N.A.S.*