

金属イオンを用いた SAXS と NMR による マルチドメインタンパク質の動的構造解析

齊尾 智英

北海道大学大学院理学研究院

複数の構造ドメインから構成されるマルチドメインタンパク質は、水溶液中でドメインの配向が異なる複数状態間の平衡として存在し、その状態ごとの存在割合（構造分布）の制御が活性や機能の調節に重要である場合も多い。しかし、そのような構造分布を高分解能で観測することは必ずしも容易ではない。本研究では、マルチドメインタンパク質の構造分布を観測するために、金属イオン、特にランタノイドイオンの適用を試みた。3つのドメインから構成される48 kDaのマルチドメインタンパク質 MurD を対象とし、ランタノイドイオンを用いた NMR と SAXS によって、MurD の立体構造と構造分布を観測した。MurD の特定の部位にランタノイド結合タグ CLaNP-5 を用いてランタノイドイオンを固定し、NMR ならびに SAXS 測定を行った。NMR 測定においては、ランタノイドイオンを中心として約 5 nm 以内の範囲の観測核から、距離・角度の長距離情報を取得した。一方、SAXS 測定においては、コントラストマッチング測定により、MurD の 2 箇所固定したランタノイドイオン間の散乱干渉を選択的に観測し、ランタノイドイオン間の距離と分布を計測した。複数の構造状態間の平衡が存在する場合、NMR 信号は平均化されるが、DEER 測定においてはそれぞれの状態の存在割合を反映した距離分布が得られる。本発表では、NMR と SAXS のそれぞれから得られる情報を用い、MurD の構造分布と、リガンド結合に伴う変化について議論する。