

# X線・中性子溶液散乱によるマルチドメインタンパク質の溶液構造解析

井上倫太郎

京都大学複合原子力科学研究所

マルチドメインタンパク質(MDP)は複数のドメインから構成されるタンパク質であり、高等真核生物に数多く含まれる。生理条件下である溶液状態でMDPの内部運動が観測され、その内部運動[1-3]がMDPの多様な構造及び生物学的な起源となっている。そのような内部運動により、結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡のような高空間分解能手法を用いたMDPの平均構造を決定することは未だ非常に困難である。そこで、溶液構造解析法がMDPの構造決定において重要な役割を果たすと考えられる。溶液構造を捉える手法としてX線小角散乱法(SAXS)が挙げられ[4, 5]、特に計算機解析と組み合わせることで詳細な溶液構造の解明が可能となってきている。一方、MDPのような振幅の大きい内部運動の寄与が無視できないタンパク質からの溶液散乱はドメイン間の距離相関に対応するピークが観測されず、散乱強度に対して散乱ベクトルの単調減少となるような散乱関数が観測される場合が多い。このような散乱曲線のみから任意性なく溶液構造を解明することは、現状の計算機解析を駆使しても非常に困難である。より信頼度の高い溶液構造の解明には、SAXSに加え「別の実験結果による拘束条件」が必要である。近年のドメインライゲーシオン技術の劇的な向上により[6]、個別に調製されたMDPの構成ドメインを繋げ合わせてMDPを再構成することが可能となってきている。また、中性子小角散乱法(SANS)では75%重水素化したタンパク質は100%重水中で散乱的に不可視化できる[7]。そこで、ドメインライゲーシオンとタンパク質重水素化技術を組み合わせにより75%重水素及び軽水素化ドメインから構成されるヘテロ重水素化MDPを作成し、本試料に対して100%重水中でSANS測定を実施することで軽水素化ドメインのみからの散乱曲線を取得であり、この散乱曲線が、新たな拘束条件となる。本研究では、2つのド

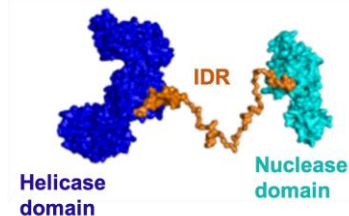


図1 Hefの構造の模式図。緑、黄色、青で示した領域がそれぞれ Helicase domain, IDR, Nuclease domain に対応する。

メイン(Helicase domain と Nuclease domain)と天然変性領域(IDR)から構成される Hef [8] (図1参照)に注目し、SAXS、SANS 及び計算機解析の連携により Hef の溶液構造解析を行った。

[1] R. Inoue, et al., *Biophys. J.* **99**, 2309 (2010).

[2] R. Inoue, et al., *Phys. Rev. Res.* **5**, 043154 (2023).

[3] H. Nakagawa, et al., *Biophys. J.* **120**, 3341 (2021).

[4] A. Okuda, et al., *Sci. Rep.* **11**, 5655 (2021).

[5] M. Shimizu et al., *Sci. Rep.* **12**, 9970 (2022).

[6] A. Okuda, et al., *Angew. Chem. Int. ed.* **62** e202214412 (2022).

[7] A. Okuda, et al., *Biophysics and Physicobiology*, **18**, 16 (2021).

[8] S. Ishino et al., *J. Biol. Chem.* **289**, 21627 (2014).