

X線溶液散乱法による天然変性タンパク質の立体構造解析

Structural analysis of intrinsically disordered proteins by solution X-ray scattering

梶原朋子, 田代大祐, 林勇樹, 工藤恒, 河合秀信, 岡芳樹, 張マリ, 和田愛未, 新井宗仁*

東京大学大学院総合文化研究科, 〒153-8902 目黒区駒場 3-8-1

Tomoko Kuniyara, Daisuke Tashiro, Yuuki Hayashi, Hisashi Kudo, Hidenobu Kawai, Yoshiki Oka,
Mari Chang, Manami Wada, and Munehito Arai

Dept of Life Sciences, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro, Tokyo 153-8902, Japan

1 はじめに

「天然変性タンパク質」は、近年発見された新しいカテゴリーのタンパク質であり、高等生物が持つタンパク質の約4割を占めることから、その立体構造や機能発現機構の解明が重要課題となっている。天然変性タンパク質は、生理的条件下では特定の構造を持たないが、標的分子を認識・結合するという機能発現と同時にフォールディング（構造形成）する。しかし、天然変性タンパク質は単独では揺らいでいるため、その立体構造解析は困難であり、標的分子認識のメカニズムは未解明である。

我々はこれまでに、NMR法などを用いて様々な天然変性タンパク質の立体構造や分子認識機構を研究してきた [1-3]。しかし、NMRで得られるのは局所的な構造情報であり、天然変性タンパク質の立体構造を詳細に解明するためには、分子サイズや概形などのグローバルな構造情報が必要不可欠である。

本研究では、医療方面における応用が期待される次の2種類のタンパク質について、X線溶液散乱法により、分子サイズや概形といったグローバルな構造情報を獲得することを目的として研究を行った。

一つ目のタンパク質は HIV-1 由来の Tat タンパク質であり、HIV の増殖に関与する因子であることから、抗 HIV 医薬品開発のターゲットとなっている。しかし、Tat 単独での立体構造は未解明である。

もう一つのタンパク質は HER2 結合タンパク質 Herstatin であり、抗ガン剤の有力候補として知られている。しかし、その立体構造概形についての詳細は未知である。

2 実験

HIV-1 由来 Tat タンパク質と、ヒト由来 Herstatin タンパク質の Int8 ドメインは、それぞれ、大腸菌を用いた発現系で大量発現し、Ni アフィニティー・クロマトグラフィーとゲルろ過クロマトグラフィーによって高純度精製した。

X線溶液散乱の測定は、高エネルギー加速器研究機構・放射光科学研究施設 BL-6A で行った。カメラ長は 2 m、波長は 1.5 Å、検出器は PILATUS を用いた。得られた散乱曲線は SAnGLer や ATSAS パッケージ等を用いて解析した。

3 結果および考察

先行研究により、Tat 単独では酸性条件下での構造が調べられているが、中性 pH での Tat 単独の立体構造は未解明である。そこで、中性 pH での Tat 単独の構造、および、pH や亜鉛結合などの外的要因による構造特性の変化を、X線溶液散乱法、円二色性スペクトル、NMR法などによって詳細に調べた。その結果、Tat は中性 pH でわずかに α ヘリックスを形成し、遅い揺らぎを持ち、完全変性状態よりややコンパクトな構造をとっており、プレ・モルテン・グロビュール状態に相当することが明らかになった。また Tat の構造は亜鉛の有無や pH に依存して変化し、亜鉛非結合状態や酸性条件下ではランダムコイル状態であった。さらに pH 5-6 付近では、 α ヘリックスを保持したまま分子サイズが広がった中間的構造が観測された。したがって、Tat の構造特性は pH や亜鉛結合などの外的要因によって制御されており、外的要因による構造の多様性が、複数の標的分子を認識できるという結合様式の多様性を生み出す可能性が示唆された。

次に、抗ガン剤の候補分子である Herstatin の Int8 ドメインの立体構造を同様にして調べた結果、Herstatin が天然変性タンパク質であることが明らかになった。またその分子サイズは、完全なランダムコイル状態よりも少しコンパクトであることが示唆された。

4 まとめ

中性 pH における HIV-1 Tat 単独の構造、および、pH や亜鉛結合という外的要因による Tat の構造変化を解明した。また、抗ガン剤候補分子 Herstatin が天然変性タンパク質であることを明らかにした。

参考文献

- [1] M. Arai *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 3792 (2012)
- [2] M. Arai *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 9614 (2015)
- [3] P. Haberz *et al.*, *Protein Sci.* **25**, 2256 (2016)

* arai@bio.c.u-tokyo.ac.jp