

天然変性タンパク質をターゲットとした新しい構造生物学
—将来光源を用いた1分子解析を目指して—

佐藤 衛

横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科

Intrinsically disordered protein: A new target for structural biology
—Towards a single molecule analysis with next generation light source—

Mamoru Sato

Graduate School of Nanobioscience, Yokohama City University

<Synopsis>

Intrinsically disordered proteins (IDPs) are characterized by a lack of stable tertiary structure when they exist as isolated polypeptide chains under physiological conditions. Their folding is coupled to binding, so that they adopt well-defined structures upon interacting with their targets. IDPs are mostly found in eukaryotes, and generally interact with several target proteins, playing important roles as hubs in intracellular networks. The highly dynamic structures of IDPs cannot be determined by such conventional methods as X-ray crystallography and electron microscopy. We have developed a novel method, named MD-SAXS, which combines small-angle X-ray scattering (SAXS) and molecular dynamics (MD) simulation to analyze protein dynamics in solution. Here we present a MD-SAXS method extended to analyze the dynamical structures of IDPs or multi-domain proteins with large ID regions in solution (Extended MD-SAXS method). Furthermore, we introduce SAXS analysis of a small number of proteins and a single molecule analysis of IDP with next generation light sources.

タンパク質結晶学の進展によりタンパク質の機能が原子レベルで詳細に理解できるようになった。同時に、生理的条件下ではタンパク質は結晶構造からイメージされるような静的で硬いものではなく、動的で軟らかく揺らいでおり、この軟らかさと揺らぎがタンパク質の機能発現に重要であることがわかってきた。さらに、近年、単独ではポリペプチド鎖が大きく揺らいだ変性状態として存在するが、ターゲット分子と相互作用するとターゲット分子に依存した特定の立体構造が誘起される天然変性タンパク質 (Intrinsically Disordered Protein, IDP) が次々と発見されるようになった。IDPは真核生物に多く存在するのが特徴で、細胞内ネットワークにおけるハブタンパク質として生体内で非常に重要な役割を担っている。このようなIDPの分子認識機構は従来のタンパク質の分子認識モデルである「鍵と鍵穴」や「誘導適合」

とは異なり、タンパク質の構造・機能研究にパラダイムシフトをもたらす新しいターゲットとして注目されている[1]。

このようなIDPやドメイン間に長大な天然変性 (Intrinsically Disordered, ID) 領域をもつマルチドメインタンパク質の動的構造解析は、従来のX線結晶構造解析や電子顕微鏡などの既存の手法だけでは困難で、新しい手法や方法論の開発が不可欠である。このようなことから、私たちはX線小角散乱 (SAXS) と分子動力的シミュレーション (MD) を融合させることにより、マルチドメインタンパク質や複数のサブユニットから構成されるタンパク質複合体の揺らぎを原子レベルで解析できる手法 (MD-SAXS法) を開発し、タンパク質の構造と機能と揺らぎとの関連を研究してきた[2]。

SAXS は、任意の溶媒条件下におけるタンパク質の分子形態やその変化を解析する手法として古くから用いられてきたが、近年になり溶液散乱パターンから直接構造モデルを構築できる手法が開発され、低分解能ではあるがタンパク質複合体やマルチドメインタンパク質のような複雑な形態の溶液構造解析が可能となった。一方、MD 法はニュートン運動方程式にしたがって原子の動きをシミュレーションする方法で、タンパク質の溶液中における動きを原子レベルで観察することができる。原子の動きを実験的に追跡することは困難なためにMDシミュレーションはタンパク質機能の理解に必要不可欠な研究手段となっている。

このように、SAXS と MD シミュレーションはそれぞれ溶液中での静的および動的な構造情報が得られる研究手法として注目されるようになったが、両手法を組み合わせることでさらに重要な知見を得ることが期待される (MD-SAXS 法)。しかし、この手法をそのまま IDP や長大な ID 領域含むマルチドメインタンパク質に適用しようとする、動的な挙動を呈する変性状態の初期構造数が莫大で、通常の MD では構造のサンプリングがきわめて困難となる。そこで、私たちは物理的に妥当な構造モデルを効率的に構築する方法を開発し、それを MD-SAXS 法に組み込むことでこの問題の解決を目指している (Extended MD-SAXS 法)。Extended MD-SAXS 法では、まず IDP または長大な ID 領域をもつマルチドメインタンパク質の構造集団モデルを作成する。次に、それぞれの構造集団モデルに対して MD-SAXS 強度を理論的に計算し、実測の SAXS 強度に合致するように構造集団モデルの頻度を精密化し、ドメイン間に長大な ID 領域をもつマルチドメインタンパク質の動的構造を解析する。

Extended MD-SAXS 法は照射体積中に存在する多数の IDP 分子 (約 10^{12} 個) の溶液散乱から個々の分子の揺らぎを解析する方法であるが、究極的にこのような IDP や長大な ID 領域をもつマルチドメインタンパク質の動的構造解析には次世代放射光光源を用いた少数タンパク質分子の溶液散乱解析、さらにはフェムト秒パルスレーザーによる原子分解能での1分子の溶液散乱解析が不可欠である。本講演では、Extended MD-SAXS 法を概説するとともに、このような将来光源からの異方的な溶液散乱パターンから高次のタンパク質構造情報が引き出せるかどうかについても考察する。

[1] <http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/IDP/index.html>

[2] Oroguchi *et al.* *Biophys. J.* **96**, 2808-2822 (2009)