



## 3Dドメインスワッピングに基づくタンパク質多量体の結晶構造解析

真島 剛史<sup>1</sup>, 緒方 英明<sup>2</sup>, 廣田 俊<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 奈良先端大, <sup>2</sup> 兵庫県立大

キーワード：ドメインスワッピング, タンパク質多量体, シトクロム c

### 1. 背景と研究目的

タンパク質は一般的に、アミノ酸配列によって決まる特定の立体構造にフォールディングして機能を発現する。しかし、タンパク質のミスフォールディングや変性などにより、本来分子内で形成される相互作用が分子間に置き換わり、分子間で構造領域を交換する3Dドメインスワッピング(3D-DS)により、会合体を形成する場合がある<sup>1</sup>。このとき、タンパク質は天然様の立体構造と機能を保持する場合と、タンパク質の立体構造が変化し、機能を喪失する場合とがあるが、3D-DSについて、依然その詳細な機構や生体内での影響は不明のままである。また、タンパク質が天然様の立体構造と機能を保持する場合、ナノ構造体の構築に有用と考えられるが、タンパク質の3D-DSを制御し、ナノ構造体を構築することは依然難しい。本研究課題において、これまでに報告している超好熱菌由来シトクロム c (Cyt c)を順列置換とヘリックスリンカー挿入により改変した環状3量体タンパク質の結晶構造を安定化するべく変異導入を行った人工 Cyt c を調製し、その結晶構造解析を試みた。

### 2. 実験内容

デザインした人工 Cyt c を大腸菌を用いて発現させ、イオン交換カラムならびにサイズ排除カラムを用いて精製した。その後、エタノールによる処理を行うことで、3量化させた。得られた人工 Cyt c 3量体を PEG3350 と LiCl を沈殿剤として結晶化を行い、20%グリセロールをクライオプロテクタントとして用いて X 線結晶構造解析を行った。

### 3. 結果および考察

測定した結晶から解析可能な分解能の回折が得られ、分解能 1.6Å で準備した人工 CytC 3量体の構造を決定できた(Fig. 1)。得られた構造は各残基まで精度良く決定できており、3D-DSによる環状3量体構造が確認された。変異導入部分の安定化作用については、引き続き解析をおこなっている。

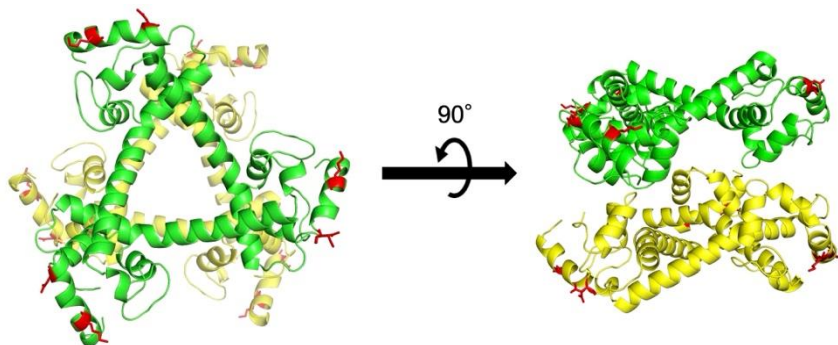


Figure 1. 今回の測定で得られた人工 CytC 3量体の結晶構造。最小繰り返し単位を表示。緑と黄色は同じ分子。赤色部分は変異導入部分。

### 4. 参考文献

1. S. Hirota, T. Mashima and N. Kobayashi, *Chem. Commun.*, **2021**, 57, 12074–12086.