

## 29-0092 W131-3

蛋白質複合体モデルの構築を目指した新規 NMR 法の開発

○五十嵐 俊介<sup>1</sup>, 竹内 恒<sup>1,2</sup>, 大澤 匡範<sup>1</sup>, 嶋田 一夫<sup>1,3</sup> ( <sup>1</sup>東大院薬, <sup>2</sup>学振・特別研究員, <sup>3</sup>産総研・生物情報解析セ )

**【背景・目的】** 蛋白質複合体の立体構造モデルの構築は、その生物学的機能の解明や、三次元構造に基づく薬物設計に有効である。当研究室にて開発された転移交差飽和法(TCS 法)は複合体の分子量にかかわらず、観測分子(リガンド)上における相手分子(レセプター)への結合界面全体を決定できる。よって複合体の相互作用解析に広く適用可能であるが、分子間にまたがる残基同士の位置関係を明らかにできないために、単独での複合体モデルの構築は困難である。そこで、我々はこの問題の克服を目的としてアミノ酸選択的 TCS 法を考案した。これは特定のアミノ酸残基以外を重水素化したレセプターを用いて TCS 実験を行うことで、重水素化されていない残基の近傍に位置するリガンド原子を同定する手法である。本手法において交差飽和に関わった残基を両者の単体構造にマッピングし、照合することでレセプター上のリガンド結合部位の同定、複合体モデルの構築が可能となる。

**【結果・考察】** レセプターは、目的のアミノ酸以外を重水素標識した M9 培地中で大腸菌により発現した。大腸菌は様々なアミノ酸代謝酵素を保持し、発現した蛋白質のラベル状態が培地のラベル状態とは異なる可能性がある。そこで発現蛋白質のラベル状態を確認した結果、Arg, Tyr, Leu, Met は選択標識が可能である一方、Gln, Asp は本手法には不適格であることが明らかとなった。次に、本手法を K<sup>+</sup>チャンネル KcsA とその阻害ペプチド Agitoxin 2 の相互作用系に適用した。Arg ラベル KcsA を用いた実験より得られた結果を、既に提唱されている KcsA-Agitoxin 2 複合体モデル上にマッピングした結果、交差飽和に関わった残基同士は互いに近接していた。よって、本手法は複合体モデルの構築に有用であることが示された。