

Title	1H-15N2次元NMRによるヒトリゾチームの分子内運動の解析
Author(s)	佐藤, 充則
Citation	
Issue Date	1999-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10119/2591">http://hdl.handle.net/10119/2591</a>
Rights	
Description	Supervisor:大久保 忠恭, 材料科学研究科, 修士

# $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ 2次元 NMR による ヒトリゾチームの 分子内運動の解析

佐藤 充則 (大久保研究室)

タンパク質の立体構造の揺らぎは、主鎖や側鎖の安定構造を中心とした局所的な揺らぎからドメインを単位とした大きな動きまであり、その時間スケールはピコ秒から秒、分単位まで及んでいる。このような分子内運動は、酵素反応や基質認識等におけるタンパク質の機能発現と本質的な関係があるものと考えられている。NMR を用いた $^{15}\text{N}$  核緩和時間測定による分子内運動の解析では、タンパク質内部の主鎖のピコ秒オーダーの揺らぎについての知見が得られる。 $^{15}\text{N}$  核は緩和機構がアミド基の $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  だけを考えればよいから、単純で解析が容易である。本研究では、溶菌酵素であるヒトリゾチームのアミノ酸残基の緩和時間の解析を行い、分子内の運動性についての知見を得た。 $^{15}\text{N}$  核の緩和時間測定は、2次元 NMR の HMQC 法と 1次元 NMR で通常用いられる縦緩和時間  $T_1$  に対しては inversion recovery 法を、横緩和時間  $T_2$  に対しては CPMG 法を組み合わせたパルス系列を用いて行った。HMQC 法と組み合わせることによりスペクトルの感度と分解能の向上が達成され、タンパク質中のアミノ酸残基に由来する $^{15}\text{N}$  核の緩和時間が個別に観測可能となる。 $T_1$ 、 $T_2$  緩和時間は、得られた相関ピーク強度の時間  $t$  に対する変化を最小二乗法によって求めた。ピーク強度の値として個々にピークの積分値を用い、今回の解析ではヒトリゾチーム 130 残基中 127 残基の $^{15}\text{N}$  核が個々に解析できた。ヒトリゾチームのアミノ酸ごとの  $T_1$  値、 $T_2$  値を図 1、図 2 に示す。C 末端近傍にところどころ長い  $T_1$  時間を持つ部分が観測され、同様な傾向は  $T_2$  にも見られる。さらに他の領域に比べ  $T_2$  時間の短い領域も C 末端に存在することがわかった。ヒトリゾチームの 2 次構造と  $T_1$  値、 $T_2$  値を比較すると、2 次構造を形成する領域は全体的に  $T_1$  値、 $T_2$  値とも小さい値をとる傾向にあった。それに対して Ser61 ~ His78 で構成される  $\beta$ シートと  $\alpha$ ヘリックスを結ぶ大きなループ構造領域では、 $T_1$  値、 $T_2$  値とも大きな値を示した。このような局所的に  $T_1$  値、 $T_2$  値が大きな領域は、他よりも分子内運動が大きい領域であることを示している。

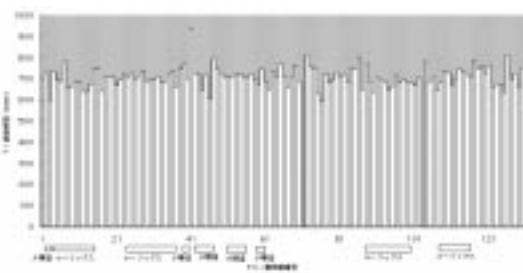


図 1:  $T_1$  の分布

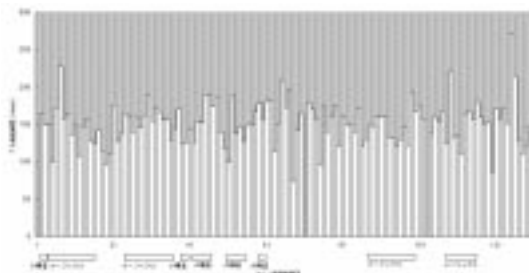


図 2:  $T_2$  の分布

keywords

ヒトリゾチーム, 分子内運動, 緩和, NMR