

文章编号: 1004-0374(2009)01-0015-06

小角 X-射线散射法解析多结构域蛋白质 或复合物的溶液结构

刘 帅, 胡红雨*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

摘 要: 随着同步辐射装置的建设与发展及各种建模方法的产生与完善, 小角 X-射线散射 (small angle X-ray scattering, SAXS) 法已经逐渐成为结构生物学中的一种重要的工具。SAXS 可以用于研究溶液中生物大分子的结构及构象变化, 蛋白质的组装、折叠等动态过程。本文对 SAXS 的基本原理、常用的研究技术和建模方法及其应用进行了综述。

关键词: 小角 X-射线散射; 多结构域蛋白质; 蛋白质复合物; 从头计算; 刚体建模

中图分类号: Q503; Q506 **文献标识码:** A

Elucidating the solution structures of multi-domain proteins and complexes by small angle X-ray scattering

LIU Shuai, HU Hong-yu*

(State Key Laboratory of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract: Small angle X-ray scattering (SAXS) is becoming an important tool in structural biology, as the development of synchrotron radiation facilities and various modeling methods. SAXS can be applied to determine the solution structures of multi-domain proteins, protein complexes and their conformational changes. It can also be used to study the dynamic processes of protein folding and assembly. In this review, we survey the basic theory, techniques, modeling and application of SAXS.

Key words: small angle X-ray scattering; multi-domain protein; protein complex; *ab initio*; rigid body modeling

结构生物学是生命科学的重要组成部分。对蛋白质结构的研究是从分子水平认识其功能, 了解生命活动机制的基础和关键。在后基因组时代存在大量基因序列信息的情况下, 解析蛋白质的结构显得尤为重要。

目前, 分析蛋白质结构的技术主要有晶体 X-射线衍射、核磁共振 (NMR) 和冷冻电子显微镜等。在 PDB 数据库的五万多条结构信息中, 由晶体 X-射线衍射技术所提供的约占 85%, 由 NMR 所提供的为 15%。这些技术都有自己的特点和局限性 (表 1)。X-射线衍射和 NMR 都能够得到高分辨率的蛋白质结构, 其中 X-射线衍射技术需要首先得到蛋白质单

晶, 而 NMR 只能用于分析较小的蛋白质结构; 冷冻电镜技术只能得到较大的生物大分子颗粒的低分辨率结构。小角散射技术 (small angle scattering, SAS) 是另外一种可以获得低分辨率生物大分子结构的技术。它包括小角 X-射线散射 (small angle X-ray scattering, SAXS) 和小角中子散射 (small angle neutron scattering, SANS)。随着同步辐射光源的建设和发展, 小角散射技术在解析蛋白质结构方面的应用也取得了长足的进步。另外, SAXS 不仅能够提供蛋

收稿日期: 2008-10-14

*通讯作者: hyhu@sibs.ac.cn

表1 用于解析蛋白质空间结构的各种技术之比较

方法	状态	大小限制	分辨率	能否用于解析多结构域蛋白质及复合物
晶体 X-射线衍射	晶体	无	1~2Å	可以
NMR	溶液、动态	< 40 kDa	1~2Å	可以, 但较困难(可用于动态学研究)
SAXS	溶液、动态	无	5~10Å	可以(可用于动态学研究)
冷冻电镜	颗粒表面	大颗粒	5~10Å	可以

蛋白质的低分辨率三维结构信息, 而且还可以用于蛋白质折叠和构象变化等动态学方面的研究。在此我们综述用 SAXS 解析多结构域蛋白质及蛋白质复合物的溶液结构^[1-3]。

1 SAXS 的基本原理

自 20 世纪 60 年代以来, SAS 开始被用于获取蛋白质的结构信息。在过去的十几年里, 各种根据 SAS 数据构建蛋白质三维结构模型方法的出现和仪器的进步, 特别是高强度同步辐射光束线的建设与发展, 促使 SAS 在结构生物学领域得以复兴。用常规 X-光源散射来研究生物大分子的结构是很难的。同步辐射光源的强度比常规 X-光源高 $10^6 - 10^9$ 量级, 而且它还具有很好的准直性和光谱纯度, 这使得 SAXS 用于研究蛋白质结构成为可能。

SAXS 几乎不受粒子大小的限制, 实验的时间很短, 在第三代同步辐射光源上进行实验可以达到毫秒甚至微秒的数量级。用于 SAXS 实验的样品处于溶液状态, 更接近于生理条件下蛋白质的状态。SAXS 实验对样品的要求不高, 用于结构分析的样品要求其单分散性(monodispersity)高于 90%, 不存在聚集现象。样品的单分散性需要在实验前用动态光散射或分析超速离心进行验证。通常样品的浓度范围为 0.5 - 20mg/mL。浓度要尽可能精确, 用以估计蛋白质的分子质量。通常需要多种浓度的样品, 以消除分子间的干扰。实验对样品的 pH 和离

子强度没有特殊要求, 例如高达 4.0mol/L 氯化钠也是可以接受的。每次用于 SAXS 实验的样品体积大约 50 - 100 μL , 即一个完整的结构分析实验大概需要 2 - 10mg 纯蛋白样品(图 1)。

SAXS 能够得到蛋白质的低分辨率结构信息。准直 X-射线照射到蛋白质溶液样品上, 散射后的强度 I 被检测器记录, 便得到了 SAXS 的原始数据。对于稀溶液(mmol/L 量级)来说, I 是入射光和散射光之间的散射角 2θ 的函数(这里只考虑弹性散射, 且辐射波长 λ 不变)。对于单分散溶液来说, 由于粒子位置和取向的随机分布, 散射强度 I 是各向同性的, 并与单个粒子在各个方向散射强度的平均成比例。所测量的散射强度在减去溶剂散射的影响后, 为:

$$I(s) = \langle |A_p(s) - \rho_s A_s(s) + \delta\rho_b A_b(s)|^2 \rangle_\Omega$$

其中 $A_a(s)$ 、 $A_s(s)$ 和 $A_b(s)$ 分别代表粒子在真空、溶剂不可及部分和水化层中的散射幅度。溶剂和水化层的电子密度 ρ_s 和 ρ_b 可能不同, 使得 $\delta\rho_b = \rho_b - \rho_s \neq 0$ 。散射向量 $S = (s, \Omega)$, 其中动量转移 $s = 4\pi \sin\theta / \lambda$, 2θ 为散射角, λ 为射线波长, $\langle \rangle_\Omega$ 表示倒易空间立体角 Ω 的平均。所需信号的强度与样品中粒子的数目(即浓度)成比例, 并与粒子和溶剂散射长度密度(scattering length density)差的平方成比例(对 X-射线来说是电子密度)^[1, 3]。

从理论上来说, 任何结构都可以用一些直径足

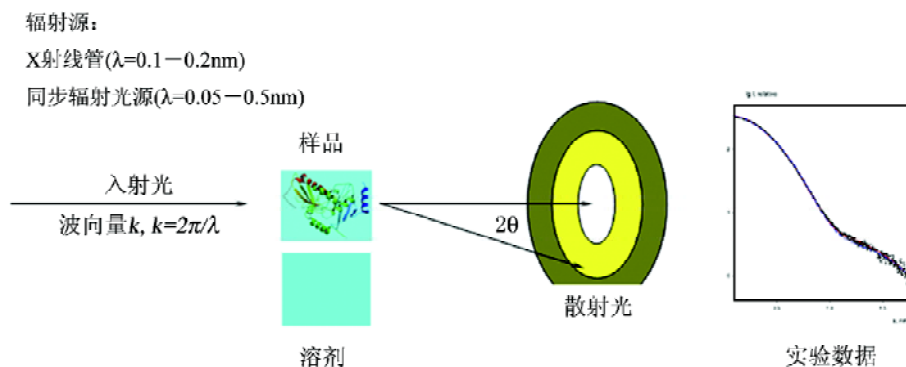


图 1 SAXS 实验流程图

够小的球体在任何分辨率上进行模拟, 该结构模型的溶液散射谱可以用德拜公式(debye formula)来进行计算。在过去, 很多结构模型的散射谱都是通过这种计算方法得到的^[4]。现在, 出现了快速计算散射谱的一些方法^[5]。

2 SAXS 解析蛋白质结构的策略和计算方法

SAXS 谱图能直接提供的参数只能给出粒子结构的一些有限信息, 包括分子质量(MM)、回转半径(R_g)、水化体积(V)和最大直径(D_{\max})。

过去, 从 SAXS 谱图分析蛋白质的三维结构只能局限于简单的几何体(如椭球体、圆柱体等), 在电镜等技术提供的信息的约束下使用试误法(trial-and-error)来构建模型^[4, 6]。近来 SAXS 数据的分析方法取得了一些突破, 大大提高了模型的分辨率和可靠性。现在可以根据 SAXS 数据从头计算(*ab initio*)蛋白质的低分辨率三维结构。如果已经得到蛋白质不完整的高分辨率三维结构模型, 可以用 SAXS 来分析缺失片段的近似结构。对于大的蛋白质或蛋白质复合物来说, 当蛋白质各结构域或亚基的结构已知时, SAXS 的最大用处就在于用刚体建模(rigid body modeling)的方式来构建蛋白质或蛋白质复合物的整体结构。

2.1 从头计算法(*ab initio*) 根据各向同性的散射数据从头构建三维结构只能应用于没有相互作用的单分散溶液, 且只能得到 1 – 2 nm 的低分辨率模型。对散射数据的球形平均会导致一些结构信息的丢失, 也就是说根据散射数据构建的三维结构是不精细的。随着建模方法的发展^[7], 出现了第一个用于 *ab initio* 法的公用程序 SASHA^[8]。这里需要提出的一个问题是: 在低分辨率下结构完全不同的两个蛋白质会不会在误差范围内产生相同的散射谱? 后来证明, 在一定条件下可以根据 SAXS 数据得到唯一的三维结构模型(对映异构体除外)^[9]。

随着计算机技术的进步, 蒙特卡罗搜索(Mont-Carlo search)被引入到 *ab initio* 分析中。首次采用该思想的是一种“遗传算法”(genetic algorithm, GA)^[10, 11], 程序 DALAI_GA 采用的就是该算法。DALAI 程序使用的是基于德拜公式的算法^[12], 而 GA 是一种搜索和优化工具, 两者的结合被用于 *ab initio* 分析中。该方法假设存在一个直径为 D_{\max} 的球体, 它由大量 $n \gg 1$ 的紧密小球组成。每个小球要么属于蛋白质粒子(值为 1), 要么属于溶剂(值为 0)。因此, 蛋白质的形状就可以用一个长度为 n 起点随机的字符

串来表示, GA 就搜索出来跟该数据相符的模型。GA 的优点在于, 该算法及其实施很简单, 其搜索方式的随机性又保证了建模的分辨率和客观性。

后来, 出现了一种基于“模拟退火”^[13](simulated annealing, SA)算法的 *ab initio* 方法。该方法给定一个直径为 D_{\max} 由大量小球(也称 dummy atom, 直径 $d \ll D_{\max}$)组成的球体, 即一 DAM (dummy atom model), 给定一组 $M \geq 1$ 的对比差异曲线(contrast variation curves) $I_{\exp}^{(i)}(s)$, $i=1, \dots, M$ 要找到一个结构形态 X 使得差异值 χ^2 减小,

$$\chi^2 = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^{N(i)} \left[\left(I_{\exp}^{(i)}(S_j) - I^i(S_j) \right) / \sigma(S_j) \right]^2$$

其中 $N(i)$ 是第 i 条曲线上点的数目, $\sigma(s)$ 代表实验误差。对于一个给定的 DAM, 要找到一个 X 使得目标函数 $f(X) = \chi^2 + \alpha P(X)$ 变小, 其中 $P(X)$ 为一个与组成 DAM 的小球之间的紧密性和连通性相关的一个函数, $\alpha > 0$ 为松弛的修正值; 从任意变量 X 开始对系统进行随机修正以使 $f(X)$ 变小, 有时候需要使 $f(X)$ 增大; 在该减小的过程中, 接受最后一次修正的可能性也在减小, 称系统被“退火”, 即系统的“最初温度”较高, 到最后寻找到一个结构形态使得目标函数最小, 即系统被“冷却”。DAMMIN 程序中使用的就是 SA 算法。

另外一种 *ab initio* 算法被设计在 SAXS3D 程序中^[14]。该算法事先不给定搜索空间, 而是通过向种子添加和去除小球来构建结构模型, 最终使模型与实验数据吻合。该算法的优点就是允许目标结构存在各种拓扑构造。还有一个程序 GA_STRUCT 使用的算法与 GA 相似, 只是没有事先限定搜索空间^[15]。另外, 可以用 *ab initio* 方法来重建结构域的结构^[16, 17], 该方法引入了一种肽链兼容虚拟残基模型(chain-compatible dummy residue model), 使用的是 SA 算法, 可以达到 0.5nm 的分辨率。已经有文献对这些算法进行了比较^[18, 19], 并有很多应用实例证明 *ab initio* 构建蛋白质低分辨率三维结构的可靠性。

2.2 刚体建模法(rigid body modeling) 在研究蛋白质或蛋白质复合物的过程中, 很多情况下是可以知道各结构域或亚基的高分辨率三维结构, 蛋白质或复合物整体的结构却不清楚。在这种情况下, 可以根据 SAXS 数据利用刚体建模法构建蛋白质或复合物整体的低分辨率三维结构。

虽然可以用 *ab initio* 法构建蛋白质或复合物的

三维结构,然后将高分辨率的结构域或亚基结构装配进去来得到整体结构,但是*ab initio*法得到的结构模型是低分辨率的,不能准确地定位结构域或亚基。刚体建模法采用的策略则是直接根据 SAXS 的数据来装配各结构域或亚基,以得到蛋白质或复合物整体的结构。该方法的基本思路是将蛋白质或复合物的各个结构域或亚基进行各种可能取向的组装,然后将组装后的整体的 SAXS 谱图与实验测得的数据进行比较,两者相吻合时的各个亚基或结构域的组装方式就是蛋白质或复合物整体的结构。这就提出一个要求,即需要根据结构模型迅速地模拟计算 SAXS 谱图。*CRYSO*^[20]和 *CRYSON*^[21]程序使用了一种球谐函数算法(spherical harmonics algorithm)分别可以迅速地得到 SAXS 和 SANS 谱图。

ASSA^[22]和 *MASSHA*^[23]程序可以用来展示和优化结构模型,使之与散射数据相吻合,既可以人工修正又可以自动对结构进行改进。后来,又出现了几种自动建模工具^[24, 25]。其中, SASREF 程序使用的是“模拟退火”(SA)的算法来寻找各结构域或亚基的位置和取向,以构建各结构域或亚基相互紧密联系但不存在空间冲突的结构模型。在建模的过程中,可以引入一些已经知道的信息作为约束条件,比如结构的对称性,根据定点突变实验等得到的各结构域或亚基之间的相互作用,利用 NMR 中的残存偶极耦合(residual dipolar coupling, RDC)实验得到的各结构域或亚基之间的取向等信息。近来,还有几种刚体建模的算法得到了应用^[26-28]。

刚体建模法需要知道蛋白质或复合物各个结构域或亚基的结构,在实际应用中往往会缺失一些环状(loop)结构域等的结构。此时,需要结合 *ab initio* 和刚体建模法来重建缺失肽段的三维结构。基本思想是其未知肽段的结构用虚拟残基来代替^[16],采用 SA 算法寻找各结构域或亚基间最合适的位置和取向。*CREDO*程序采用的便是该方法^[29],后来又发展出了 *BUNCH*程序^[24]。需要提醒的是,虽然刚体建模法是基于结构域或亚基高分辨率的三维结构来重建蛋白质的整体结构,但得到的结构模型仍然是低分辨率的。

3 SAXS 在解析蛋白质的溶液结构和动态变化中的应用

SAXS 在分析多结构域蛋白质及蛋白质复合物三维结构的领域得到了广泛的应用。在实际应用中, SAXS 通常是与其他技术相结合进行研究的。

3.1 多结构域蛋白质 因为 X-射线晶体衍射和 NMR 技术在研究蛋白质结构中有着各自固有的局限性,结合 SAXS 技术后便可以更全面深入地研究多结构域蛋白质的结构。在研究多结构域蛋白质的过程中,利用 X-射线晶体衍射和 NMR 往往只能得到几个结构域的结构^[30]。此时,利用 SAXS 数据,采用 *ab initio*的方法可以构建缺失的结构域的结构^[16, 29]。同时,在得到各结构域的结构的情况下,可以利用刚体建模法来构建蛋白质的整体结构。

Grb2 是一种重要的接头蛋白,在细胞膜受体和 Ras/MAP 激酶信号通路之间起连接作用。它由一个 SH2 结构域和两侧各一个 SH3 结构域组成。Yuzawa 等^[31]用 NMR 和 SAXS 技术相结合研究了溶液状态下 Grb2 的结构,发现与 Grb2 的晶体结构是不同的。先前得到的 Grb2 晶体结构是一个紧密的结构,其两个 SH3 结构域之间存在相互作用。Yuzawa 等先用 NMR 研究发现,在溶液状态下 Grb2 的两个 SH3 结构域之间不存在相互作用。再用 SAXS 结合 NMR 技术证明溶液状态下的 Grb2 是一个柔性蛋白,其 C-端的 SH3 通过一个柔性连接区(Linker)与 SH2 结构域相连接。

Cullin-RING 连接酶(CRLs)是 E3 酶家族中的最多一种,由 Cullin 结构域、结合 E2 的 RING 结构域和底物结合结构域组成。类泛素蛋白 NEDD8 共价连接到 CRL 的 C-端保守赖氨酸上时,会激活 CRL 的泛素化活性,并阻止抑制物 CAND1 的结合。Duda 等比较了 Cu15^{ctd}-Rbx1 被 NEDD8 修饰前后的晶体结构的变化,并用 SAXS 分析了 Cu11^{ctd}-Rbx1 被 NEDD8 修饰前后的构象变化^[32]。他们的研究发现,CRL 在被 NEDD8 修饰的前后构象有明显的变化。Cullin WHB 和 Rbx1 RING 结构域的取向都有明显的不同,使得 CAND1 结合位点消失,并更利于与 E2 结合。生化分析也证明其结构的柔性对 CRL 被 NEDD8 修饰和其泛素化活性都很重要。

3.2 蛋白质复合物的结构 SAXS 法的优点是对于研究对象没有分子量大小的限制,故而在研究蛋白质复合物的结构方面有着更广泛的用途。

Neurologin 是突触后细胞黏连蛋白,与突触前的 neuroligin 相互作用。Neurologin 和 neuroligin 的突变与抑郁症等精神疾病相关。Comoletti 等^[33]利用 SAXS 方法研究了 neurologin 和 neuroligin 之间的相互作用情况。他们研究了几种 neurologin 的胞外部分在溶液状态下的结构和二聚化形式,发现 neurologin 之

间通过四股螺旋相互作用, 与在胆碱酯酶中发现的形式相似。两个 neurexin 单体之间相距 107Å 对称地结合在 neuroligin 二聚体上。他们使用 *ab initio* 和刚体建模方法构建了 neuroligin 和 neurexin 之间相互作用的模型, 为研究 neuroligin 和 neurexin 的突变与精神疾病的关系提供了结构依据。

RNA 降解过程中的关键一步是去除 5' 帽子结构, 该过程是由 Dcp1-Dcp2 复合物催化的。在研究了 Dcp1p-Dcp2n 复合物的晶体结构后, 结合 SAXS 证实 Dcp2p 存在开放和关闭两种构象, 分别对应着复合物无活性状态和催化活性状态^[34]。这表明该复合物的开放与关闭可能控制着去帽过程。Dcp1p 与 Dcp2p 结合通过稳定复合物的催化活性状态来激活 Dcp2p。

3.3 蛋白质结构的动态变化 因为在第三代同步辐射光源上进行 SAXS 实验, 时间上可以达到微秒的数量级, 所以在时间尺度上研究蛋白质结构的动态变化成为了可能。

Arai 等^[35]用 SAXS 在微秒时间尺度研究了大肠杆菌的二氢叶酸还原酶在折叠过程中的动态变化。结合利用连续流混合装置, 将系统中的尿素迅速稀释后, 二氢叶酸还原酶的旋转半径 R_g 在 300ms 内由 30Å 下降到 23.2Å, 而后在更长的时间尺度上进行进一步折叠。将蛋白质的折叠过程与其二级结构进行比较, 发现疏水塌陷模型 (hydrophobic collapse model) 比框架模型 (framework model) 更与实验数据相吻合。二氢叶酸还原酶是一种 α/β 型蛋白, 其折叠方式处于 α -螺旋型和 β -折叠型之间, 表明蛋白质的初始结构决定其折叠形式。

总之, 随着同步辐射光源和 SAXS 数据处理方法的发展和改进, SAXS 特别是在与 X-射线晶体衍射和 NMR 等技术结合后, 将在结构生物学领域, 特别是研究多结构域蛋白和复杂复合物的溶液结构及功能调节中发挥着更大的作用。

[参 考 文 献]

- [1] Koch MH, Svergun DI. Small-angle scattering studies of biological macromolecules in solution. *Rep Prog Phys*, 2003, 66(10): 1735-82
- [2] Schuck P. Protein interactions. US: Springer, 2007: 317-65
- [3] Feigin LA, Svergun DI. Structure analysis by small-angle X-ray and neutron scattering [M]. New York: Plenum Press, 1987: 3-55
- [4] Glatter O, Kratky O. Small angle x-ray scattering [M]. London: Academic Press, 1982: 3-51
- [5] Pantos E, van Garderen HF, Hilbers PAJ, et al. Simulation of small-angle scattering from large assemblies of multi-type scatterer particles. *J Mol Struct*, 1996, 383(1-3): 303-8
- [6] Tardieu A, Vachette P. Analysis of models of irregular shape by solution X-ray scattering: the case of the 50S ribosomal subunit from *E. coli*. *EMBO J*, 1982, 1(1): 35-40
- [7] Svergun DI, Stuhrmann HB. New developments in direct shape determination from small-angle scattering. 1. Theory and model calculations. *Acta Cryst A*, 1991, 47(6): 736-44
- [8] Svergun DI, Volkov VV, Kozin MB, et al. Shape determination from solution scattering of biopolymers. *J Appl Cryst*, 1997, 30(5-2): 798-802
- [9] Svergun DI, Volkov VV, Kozin MB, et al. New developments in direct shape determination from small-angle scattering. 2. Uniqueness. *Acta Cryst A*, 1996, 52(3): 419-26
- [10] Chacon P, Morán F, Díaz JF, et al. Low-resolution structures of proteins in solution retrieved from X-ray scattering with a genetic algorithm. *Biophys J*, 1998, 74(6): 2760-75
- [11] Chacon P, Díaz JF, Moán F, et al. Reconstruction of protein form with X-ray solution scattering and a genetic algorithm. *J Mol Biol*, 2000, 299(5): 1289-302
- [12] Pantos E, Bordas J. Supercomputer simulation of small angle X-ray scattering, electron micrographs and X-ray diffraction patterns of macromolecular structures. *J Pure Appl Chem*, 1994, 66(1): 77-82
- [13] Kirkpatrick S, Gelatt CDJ, Vecchi MP. Optimization by simulated annealing. *Science*, 1983, 220(4598): 671-80
- [14] Walther D, Cohen FE, Doniach S. Reconstruction of low-resolution three-dimensional density maps from one-dimensional small-angle X-ray scattering data for biomolecules. *J Appl Cryst*, 2000, 33(2): 350-63
- [15] Heller WT, Abusamhadneh E, Finley N, et al. The solution structure of a cardiac troponin C-troponin I-troponin T complex shows a somewhat compact troponin C interacting with an extended troponin I-troponin T component. *Biochemistry*, 2002, 41(52): 15654-63
- [16] Svergun DI, Petoukhov MV, Koch MH. Determination of domain structure of proteins from X-ray solution scattering. *Biophys J*, 2001, 80(6): 2946-53
- [17] Petoukhov MV, Svergun DI. New methods for domain structure determination of proteins from solution scattering data. *J Appl Cryst*, 2003, 36(3-1): 540-4
- [18] Takahashi Y, Nishikawa Y, Fujisawa T. Evaluation of three algorithms for *ab initio* determination of three-dimensional shape from one-dimensional solution scattering profiles. *J Appl Cryst*, 2003, 36(3-1): 549-52
- [19] Zipper P, Durchschlag H. Modeling of protein solution structures. *J Appl Cryst*, 2003, 36(3-1): 509-14
- [20] Svergun DI, Barberato C, Koch MH. *CRYSOLOG*- a program to evaluate X-ray solution scattering of biological macromolecules from atomic coordinates. *J Appl Cryst*, 1995, 28(6): 768-73
- [21] Svergun DI, Richard S, Koch MH, et al. Protein hydration in solution: experimental observation by x-ray and neutron scattering. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(5): 2267-72
- [22] Kozin MB, Svergun DI. A software system for rigid body modeling of solution scattering data. *J Appl Cryst*, 2000, 33

- (3-1): 775-7
- [23] Konarev PV, Petoukhov MV, Svergun DI. *MASSHA*-a graphic system for rigid body modelling of macromolecular complexes against solution scattering data. *J Appl Cryst*, 2001, 34(4): 527-32
- [24] Petoukhov MV, Svergun DI. Global rigid body modeling of macromolecular complexes against small-angle scattering data. *Biophys J*, 2005, 89(2): 1237-50
- [25] Petoukhov MV, Svergun DI. Joint use of small-angle X-ray and neutron scattering to study biological macromolecules in solution. *Eur Biophys J*, 2006, 35(7): 567-76
- [26] Nollmann M, Stark WM, Byron O. A global multi-technique approach to study low-resolution solution structures. *J Appl Cryst*, 2005, 38(6): 874-87
- [27] Augustus AM, Reardon PN, Heller WT, et al. Structural basis for the differential regulation of DNA by the methionine repressor MetJ. *J Biol Chem*, 2006, 281(45): 34269-76
- [28] Fernando AN, Furtado PB, Clark SJ, et al. Associative and structural properties of the region of complement factor H encompassing the Tyr402His disease-related polymorphism and its interactions with heparin. *J Mol Biol*, 2007, 368(2): 564-81
- [29] Petoukhov MV, Eady NA, Brown KA, et al. Addition of missing loops and domains to protein models by x-ray solution scattering. *Biophys J*, 2002, 83(6): 3113-25
- [30] Li SJ, Hong XG, Shi YY, et al. Annular arrangement and collaborative actions of four domains of protein-disulfide isomerase: a small angle X-ray scattering study in solution. *J Biol Chem*, 2006, 281(10): 6581-8
- [31] Yuzawa S, Yokochi M, Hatanaka H, et al. Solution structure of Grb2 reveals extensive flexibility necessary for target recognition. *J Mol Biol*, 2001, 306(3): 527-37
- [32] Duda DM, Borg LA, Scott DC, et al. Structural insights into NEDD8 activation of cullin-RING ligases: conformational control of conjugation. *Cell*, 2008, 134(6): 995-1006
- [33] Comolletti D, Grishaev A, Whitten AE, et al. Synaptic arrangement of the neuroligin/ β -neurexin complex revealed by X-ray and neutron scattering. *Structure*, 2007, 15(6): 693-705
- [34] She M, Decker CJ, Svergun DI, et al. Structural basis of dcp2 recognition and activation by dcp1. *Mol Cell*, 2008, 29(3): 337-49
- [35] Arai M, Kondrashkina E, Kayatekin C, et al. Microsecond hydrophobic collapse in the folding of *Escherichia coli* dihydrofolate reductase, an α/β -type protein. *J Mol Biol*, 2007, 368(1): 219-29