提出日：平成 30 年　5 月　16 日

平成 29 年度　大阪大学蛋白質研究所　拠点事業

（２）研究成果の概要

課題名		DNP-NMR 法によるスピンラベルタンパク質の構造解析	
研究代表者	氏名	荒田敏昭	
	所属機関名・部局名	大阪市立大学・大学院理学研究科	
	職名	特任教授	
事業名 （該当の事業名の右欄に〇）		〇	共同研究員
			超高磁場ＮＭＲ共同利用研究課題
			クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
			客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		藤原敏道	

１）先ず、移設した CW-ESR 装置を整備した。DNP-NMR 用分極化剤（スピン標識化合物）を開発するため、その有用性を探索する研究を支援した。今回は、X バンド ESR を用い、Mn^{2+}錯体や有機ラジカルならびに藤原研究室が化学合成した新規化合物であるMn^{2+}錯体-有機ラジカル結合体の ESR スペクトルを測定した。次にソフトを用いたシミュレーションによるスペクトルフィットを行い、g 値や超微細相互作用定数の最適値を精度よく得ることができた。藤原研究室では、これらのパラメータと Q バンド-パルス ESR により別途にもとめた緩和定数 T_{1e}を用いて DNP-NMR 効率をシミュレーションし、効率向上を目指す研究が行なわれている。

２）生命活動を担っているタンパク質の立体構造がどのように機能を発現させているのかを原子レベルで明らかにすることを目的とし、心筋拍動の制御タンパク質や細菌のイオン輸送およびモーター蛋白質などの運動／輸送系ならびに遺伝子制御系の研究をおこなっている。ここでは、主に蛋白研で実験した後者の研究成果について述べる。エピジェネティクス制御に関与するヘテロクロマチンタンパク質（HP1）は、CSD と CD を２つのドメインをもち、それらの間に intrinsic disorder region (IDR)からなるヒンジドメイン(HR)があり，CD-HR-CSD 構造をとり、CSD 同士は結合して dimer を形成する。CD をスピンラベル標識して CW-ESR を測定したところ、その回転相関時間は CD 分子量から推定される自由回転相関時間にほぼ一致したので、CD は自由回転しており CD 同士の相互作用は小さいと考えられる。さらに CD 間距離はパルス-ESR(DEER/PELDOR)測定からは、測定できない程>6-7nm であるという preliminary データも得ている。つぎにメチル化ペプチドを添加して CD ラベルの CW-ESR 測定したところ、結合による CD の分子量増大と推定される僅かな回転相関時間の増大がおこった。同様に DNA 添加によっても CD の僅かな運動束縛がおこった。したがって、今回の研究により HP1 の立体構造とダイナミクスを解析することに成功し、HP1 がヒストン-DNA 複合体を不活性化する構造基盤を調べる枠組みが得られた。

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。
※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。　※提出期限：平成 30 年５月 18 日（金）　※提出の際は PDF 変換して下さい。
※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班　E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp