

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 2 日

2019 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		ヘリックスを基本モチーフにする蛋白質の構造変化と熱力学量との 相関解析	
研究代表者	氏名	織田 昌幸	
	所属機関名・部局名	京都府立大学・大学院生命環境科学研究科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		<input type="radio"/>	共同研究員
		<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題
		<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		<input type="radio"/>	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		中川 敦史	
<p>転写因子 c-Myb の DNA 結合ドメイン R2R3 と DNA との結合を、イオン強度の異なるバッファ 中で、等温滴定熱量計 (ITC) を用いて解析した。その結果、イオン強度上昇とともに、結合エンタル ピー変化量が絶対値として小さくなり、静電相互作用の寄与の低下が示唆され、さらに興味深いこと に、結合力は 140 mM NaCl 中で最も高く、イオン強度を高める場合だけでなく、低めた場合でも、結 合力が低下した。熱安定性解析や NMR 解析の結果を踏まえると、低イオン強度下では R2R3 内の疎 水性相互作用が弱まることで、分子の運動性が高まり、DNA 結合に伴うエントロピー損失が大きくな り、DNA 結合力が低下したと考えられる。なお一連の成果は、Biophys. Chem.誌にて論文発表した (Kawasaki <i>et al.</i>, 2020)。</p> <p>二価金属イオンがペプチド中の His に配位結合することで、ヘリックスバンドル構造を形成するよ うにデザインした人工蛋白質 HA、および同構造形成時の疎水性コアに位置する Ala を、Val や Leu、 Ile で置換した HV や HL、HI を調製し、各ペプチドの結晶構造解析と、Zn²⁺結合に伴う熱力学解析を 行った。HA をマルトース結合タンパク質の C 端部に繋げ、ヘリックスを安定化することでの結晶化 を目指しているが、現時点で良好な結晶は得られていない。一方、Zn²⁺との結合の ITC 解析の結果、 結合力は、HL > HI > HA > HV、結合エンタルピー変化の絶対値は、HI > HV > HL > HA となった。 他の解析結果も踏まえると、個々に Zn²⁺結合前後での構造柔軟性を反映しており、定量的な熱力学量 との相関結果として、現在、論文投稿準備中である。</p>			