

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## 研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：荒田敏昭

所属機関名・部局名・職名：大阪公立大学・大学院理学研究科・特任教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

DNP-NMR 法によるスピンラベルタンパク質の構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：藤原敏道

(研究室名：機能構造計測学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

ESR のスピン標識技術と蛋白研の DNP-NMR 法を組み合わせた研究を提案している。ここでは HP1 タンパク質についての成果を述べるが、他にモータータンパク質の構造解析、DNP 分極剤開発支援を行っている。末武、武藤博士とともに、エピジェネチクスで重要な働きを担う HP1 dimer の CD、CSD ドメイン運動ならびにヒストンメチル化ペプチドの効果、isoform の違いを解析し論文発表した (Suetake et al., BBRC 2021, 雑誌発表-1)。今年度は、HP1 の天然変性タンパク領域(IDR)のダイナミクスを調べた。IDR であるヒンジ領域(HR)の正電荷領域の側鎖に結合させたニトロキシスピンラベルは高速拡散回転運動し、DNA 結合の効果は観測されない fuzzy complex であった。一方、CD、CSD では CD の方が高速回転だが、DNA 添加によりどちらも遅くなり、両者ほぼ同じ回転拡散運動となった。HP1 の CD と CSD は、DNA の上を同じダイナミクスで動き、HR で「DNA 上を弱い結合で滑走拡散」と考えられる(学会発表-1~6)。グリセリン添加により HR 側鎖スピンラベルの運動を遅くし、domain truncation を用いて詳しく解析すると、HR-C-tail と HR-N-tail の弱いダイナミックな相互作用が monomer 間で働くような「分子自己休止状態」が考えられた。このようなゆるく構築された構造は、パルス ESR 4 点スピンラベル間マルチ距離分布測定による、HR のラベルが monomer では広範囲にゆらぎ、dimer では定点に有るという事実と合致する(学会発表-7)。側鎖だけでなく主鎖のダイナミクスを知るため、TOAC アミノ酸アナログの NO ラジカルを HP1 の N-tail の主鎖に化学合成で固定し (北條研と共同、学会発表-3)、今年度全長 HP1 の N-tail に 4 つのリン酸基を半化学合成で導入したので「リン酸化による主鎖長軸ねじれ回転運動の変化」を ESR で捉えられると期待している。最近、DNA 添加による液相分離 (液滴形成) を観測しており、リン酸化による影響の詳細とともに、今後調べる計画である。【主な発表論文】◎ Structural dynamics of the chromo-shadow domain and chromodomain of HP1 bound to histone H3K9 methylated peptide, as measured by site-directed spin-labeling EPR spectroscopy, I. Suetake, and R. Mutoh, Y. Mishima, T. Kawakami, T. Takei, M. Watanabe, N. Sakai, T. Fujiwara, T. Takui, M. Miyata, A. Shinohara, H. Hojo, T. Arata, Biochem. Biophys. Res. Commun. 567 42-48 (2021) (◎印は本事業の謝辞記載)