

(様式 1-1)

提出日：2023 年 5 月 8 日

2022 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。)

超高磁場 NMR

(2) 研究代表者

氏名： 星野 大

所属機関名・部局名・職名：京都大学大学院・薬学研究科・准教授

(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。)

低酸素ストレス応答を引き起こす Mint3-FIH1 相互作用の NMR 解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入 洋平 (研究室名：高磁場 NMR 分光学)

(5) 研究成果の概要 (公開)

***背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。**

Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) は解糖系や血管新生を亢進する低酸素応答に関わる転写因子であるが、酸素存在下においては factor inhibiting HIF-1 (FIH-1) により厳密に抑制されている。一方、Munc18-1-interacting protein 3 (Mint3) が FIH-1 と結合することで間接的に HIF-1 の転写活性を促進することが示された。このことは、がん細胞などにおいて、通常酸素濃度下で低酸素ストレス応答と同様の代謝経路を活性化する「ワールブルグ効果」の主要因ではないかと考えられる。本研究では、Mint3 と FIH-1 の分子認識機構を明らかにすることを目的として、NMR を用いた相互作用解析を行った。

140 mM NaCl, 10 mM NaPi (pH 7.3), 5% D2O 4°C において Mint3(1-214) の ¹H-¹⁵N 相関スペクトルを測定したところ、観測されたピークは 7.5~8.5 ppm の領域に局在していた。よって、Mint3(1-214) は測定条件において高度に変性していることを確認した。つぎに、¹⁵N 標識 Mint3(1-214) に対して様々な濃度の非標識 FIH-1 を添加することで、スペクトルの変化を調べた。その結果、FIH-1 の添加により Mint3NT のピーク位置は変化せず、ピーク強度のみが減弱することが明らかとなった。ピーク強度比を残基番号順にプロットすると Mint3(1-214) の中央部の幅広い領域 (50-150 残基め) においてピークが減弱することが分かった。このことから、天然変性蛋白質である Mint3(1-214) が、球状蛋白質 FIH-1 と相互作用する際に、分子中央の幅広い領域を用いているのではないかというモデルが提唱された。