

(様式 1-1)

提出日：2026 年 5 月 7 日

2025 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、ほかは削除してください。）

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ください。）

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：松木陽

(研究室名：機能構造計測学研究室)

(5) 研究成果の概要

エピジェネティックな遺伝子発現制御に関わる HP1 は Ntail-CD-HR-CSD-Ctail 構造を持ち、CSD で二量体を形成し、HR と 2 tails は IDR である。HR に DNA, CD ヘメチル化ヒストンが結合する。我々は部位特異的システイン(Cys)側鎖に結合したスピンラベル(MSL)を用いた SDSL-ESR 法^{1,2}により、その回転ダイナミクスを報告してきた^{3,4}。PEG(濃密模倣剤)+メチル化ヒストン末端小片(H3K9me3)存在下で、強い液液相分離 LLPS を起こした状態では、Ntail リン酸化模倣またはリン酸化 HP1 のナノ秒運動をほぼ一様に運動制限され、分子全体の運動束縛が示唆された(学会発表 1-3)。IDR の運動は Ntail9 番ラベルの⁵では>50%が低速(1-2 ns)と非常に低速(10-50 ns)の 2 モードに明確にスペクトル分割され、残りの<50%は 0.3 M NaCl の場合(0.7 ns)と同じ高速運動した。HR110 番の運動低下も 2 モードだったが、CD, CSD は 2 モードへの分割は困難だった(各 20, 30ns)。Ntail9 番の主鎖を TOAC ラベル(昨年度報告)した場合には、リン酸化により Ntail 内のアミノ酸 Arg7 番と P-Ser11-14 番の相互作用によると考えられる低速モード(3-4 ns)が発見され、LLPS を起こすと低速 2 モード(3-4 ns; 10 ns)が MSL 同様に観測された。またラベル同士のスピン間相互作用(< 2 nm)は観察されず分子は分散または”ずれて(staggered)”多量体を形成すると考えられた。2 モードは高低密度の多重液滴または動的二量体と多量体の 2 状態を示唆した。なお、2 モードは HR110 番では遠心上清の non-LLPS 状態でも、低程度に観察されたため、LLPS はこれら 2 状態によって媒介されることが示唆された。Ntail9 番では遠心後の non-LLPS では、低速モードは全く観測できないので、液滴外に存在する Ntail 領域は局所濃度が低いか解けていると示唆された。非リン酸化で DNA の添加により強い LLPS を誘導した場合には、HR110 番では同様の 2 モードが観測されたが、Ntail9 番では非常に低速モード運動は観測されず 1 モードのみであった。リン酸化と異なり DNA 結合の場合には Ntail と HR では束縛が異なり、DNA が結合する HR でのみ 2 モードの非常に強い束縛がおきることが示唆された。【文献】 1) Arata, T. *IJMS*. **21** 672 (2020). 2) Suetake I. et al. (eds.) *Analytical ...*, Wiley (2023). 3) Suetake I, Arata, T. *BBRC*. **567** 42-48 (2020). 4) Suetake I, Arata, T. *Appl. Mag. Reson.* **54**(1) 119 (2023). 【謝辞】 学振 JP22K06174 (IS), 蛋白研拠点事業 CR-25-01 & -02 (IS, TA).