

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 11 日

2020 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○)	○	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		
<p>1) 末武が転任先で実験準備中のため、ヘテロクロマチンタンパク HP1 のデータをまとめて論文執筆を行なった。しかし、新しい研究もスタートした。化学合成 (末武-北條の共同研究) により、HP1 の N-tail のペプチドバックボーンに組み込んだ TOAC スピンラベル標識した試料を作成し、HP1 本体と ligation した。準備的 ESR 測定により N-tail のバックボーンのゆらぎ運動が測定された。これまでのスピンラベルがアミノ酸側鎖に結合し、その運動性のみが測定されていたが (発表論文 1)、intrinsic disorder region (IDR) である N-tail のバックボーンの運動性という新しい知見が得られた。さらに、HP1 の CD ドメインを化学合成し、CD (円偏光二色性)、NMR 測定し、native と比較したところ、refolding していることが確認された。今後、本体と ligation して、リン酸化の数と位置を制御して、HP1 のバックボーンと側鎖のダイナミクスがどのように変化するかを ESR 並びに NMR で調べる予定である。またマルチサイト pulseESR 距離測定で全体像を調べる予定である (学会発表 1)。</p> <p>2) MnATP のモータータンパク質 (6 量体 x 2) への結合と加水分解に伴う CW-ESR スペクトルをすでに測定していたので、そのスペクトルをコンピューターで解析した。Mn が ATP に、さらにモータータンパク質に結合すると、異方性スペクトルになりゼロ磁場分裂(ZFS)が観測された。ZFS は MnATP が加水分解中は大きく、6 本吸収線の線幅も大きくなり、加水分解終了して MnADP になるとそれぞれ小さくなる傾向を示した。今後は、(a)配位構造の推定、(b)ESR 滴定による MnATP 結合モル数決定(c)マルチサイト pulseESR 距離測定を行いたい。</p> <p>3) DNP-NMR 用分極化剤 (スピン標識化合物) を開発するため、藤原研究室が化学合成した新規多重ラジカル化合物 (有機ラジカル)<sub>n</sub> (n=1,2,3,4) の ESR を測定し、スペクトルシミュレーションによって g 値、超微細相互作用、交換相互作用 J 値、双極子相互作用、パワー飽和 (相対 T<sub>2</sub>) を決定し、ラジカル間相互作用距離などを計算し、ラジカル化合物の動的構造を推測して論文にまとめた。</p> <p>【主な発表論文】◎1)先端的スピンラベル ESR 法によるタンパク質作動原理の探究. 荒田敏昭, 電子スピンスイエンシス, 18(通号 34), 4-11 (2020). (◎印は本事業の謝辞記載)</p> <p>【主な学会発表】1)先端的 ESR でみるタンパク質修飾による動的構造変化, 荒田敏昭 蛋白研セミナー「多角的な視点によるタンパク質修飾の機能解明」(阪大蛋白研) (2021. 2.5)</p>			