

2023 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：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 (公開)

ヒストンメチル化修飾を読み取り結合するヘテロクロマチンタンパク質 1(HP1)は、HR によって接続された 2 つのドメイン CSD と CD を持っており、N, C tail, HR は IDR であるが、IDR の動態に関する研究はほとんど報告されていない。N-tail のリン酸化による分子内/分子間相互作用を知るため、システインの側鎖に結合したスピンラベル(MSL)を用いた部位特異的スピンラベル(SDSL)ESR 分光法により、HP1 の各領域の回転ダイナミクスを研究した(協力者末武らと共同, 学会発表 1-9)。N-tail 上のリン酸化模倣 SD 変異は、強力な相分離を引き起こす未修飾またはメチル化 H3 ペプチドの存在下で、N-tail のサブナノ秒側鎖スピンラベル(MSL)のダイナミクスをわずかに制限した。次に、スピンラベル(2,2,6,6-tetramethyl-piperidine-1-oxyl-4-amino-4-carboxylic acid, TOAC)をリン酸化主鎖に強固に固定して合成した N-tail ペプチドを HP1 後部に連結することにより、全長 HP1 を半合成した(北條・武居らと共同, 学会発表 6)。非リン酸化 HP1 と比較して、リン酸化 p-HP1 は、非メチル化またはメチル化 H3 ペプチドの存在下で N-tail 主鎖 TOAC のナノ秒ダイナミクスを強く抑制した。同一の測定条件下では、MSL で標識された CD ドメインのナノ秒ダイナミクスも、非メチル化またはメチル化ペプチドによるリン酸化によって大幅に抑制された。したがって、我々は、H3 のリジンメチル化と HP1 のセリンリン酸化という二重制御システムを提案します。すなわち、非メチル化ヒストン H3 が p-HP1 をオリゴマー化し、p-HP1 をヌクレオソーム領域にエスコートして、相乗的および/または段階的にメチル化ヒストン H3 に結合させる。また、化学合成を利用した TOAC による主鎖スピンラベルは、まずリン酸化と H3 ペプチド依存性の IDR ダイナミクス抑制を検出し、DNA およびヒストンペプチド、または統合されたヌクレオソームを操作することによって HR および tails の主鎖ダイナミクスを調査する道を拓きます。また、HP1 のリン酸化残基の数と位置、また他の多くの生物学的システムで機能する IDP/IDR の動態を調べることもできます。

$\alpha$  シヌクレインアミロイドとスピンラベルペプチドの ESR 測定し共同研究論文を公表した(雑誌論文 1)。T.Ikenoue, M.Oono, M.So, H.Yamakado, T.Arata, R.Takahashi, Y.Kawata, H.Suga, A RaPID macrocyclic peptide that inhibits the formation of  $\alpha$ -synuclein amyloid fibrils, *ChemBioChem* e202300320 (2023).