

(様式 1-1)

提出日：2024 年 月 日

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：藤間 祥子

所属機関名・部局名・職名：奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・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。)

蛋白質アルギニンメチル基転移酵素 1 の希薄溶液中での会合状態の評価

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：中川 敦史 (研究室名：超分子構造解析学研究室)

(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。

蛋白質のアルギニンメチル化は生体内でリン酸化と同様の頻度で起こり、がんをはじめとする様々な疾患に關与する創薬標的として重要な翻訳後修飾である。本修飾は、蛋白質アルギニンメチル基転移酵素 (PRMT) ファミリー蛋白質が担う。中でも PRMT1 は細胞内での蛋白質アルギニンメチル化反応の 85% に關与する主要な酵素であるが、細胞内基質との複合体構造の報告は 1 例も無く、アルギニンメチル化シグナルの実体は未解明である。申請者は hPRMT1 を研究対象とし、基質認識、メチル化機構の構造生物学的および蛋白質科学的な解明を目指し研究を進めている。

これまでに、申請者は、hPRMT1 が濃度依存的に幅広い分子量分布を持つ自己集合状態(分子量 240k-900k)を持つことを明らかにし、メチオニン代謝産物の 1 つでメチル基供与体として働く SAM およびメチル基転移後の反応産物である SAH が活性部位に結合することで、自己集合構造が幅広い分子量分布をしながら変化すること、自己集合構造がメチル化活性に必要であることを明らかにしている [Toma-Fukai, S., et al., J. Mol. Biol. (2016)]。これまでの申請者および他グループの研究から、自己集合および WT における 2 量体存在の有無は、hPRMT1 の担うメチル化活性機構の理解において必要不可欠である。

これまで分子量決定のために行ってきた様々な分析では、いずれも数 mM~数十 mM の濃度範囲の PRMT1 を用いており、より希薄溶液内での分子集合状態については評価できていない。

そこで、本研究では、mass photometry (MP)法を用い、nM の濃度下における hPRMT1 の分子量分布の評価を目的とする。

活性部位を完全に持つ PRMT1 のスプライズバリエント 3 種類 (V1, V2, V3) および活性コア構造のみを持つ N 末端欠損体を高純度精製し、MP 測定を行った。結果、最小単位と予測されていた 2 量体の存在を確認した。また、2, 4, 6, ... と 2 の倍数となる分子の存在も確認したことから、2 量体を 1 つのユニットとして集合構造を形成していることを明らかにした。