

部位特異的スピンラベル ESR 法を用いたヘテロクロマチンタンパク質のローカル構造

(阪市大院理¹・中村学園大²) ○二宮優世¹・平居永名¹・豊田和男¹・塩見大輔¹・末武勲²・荒田敏昭¹・工位武治¹・佐藤和信¹

Local structure of heterochromatin protein by site-directed spin-labeling ESR spectroscopy (¹Graduate School of Science, Osaka City University, ²Nakamura Gakuen University) ○Yusei Ninomiya,¹ Ena Hirai,¹ Kazuo Toyota,¹ Daisuke Shiomi,¹ Isao Suetake,² Toshiaki Arata,¹ Takeji Takui,¹ Kazunobu Sato¹

Heterochromatin protein 1 (HP1) has two functionally distinct domains, chromodomain (CD) and chromo-shadow domain (CSD). The CD and CSD are connected by a hinge region (HR) intrinsically disordered. And the CSD is known to be dimerized. In this study, we have applied site-directed spin-labeling ESR spectroscopy to HP1 in order to study local structure including the hinge region. Spin distances between nitroxide spin-labels have been measured based on the analysis of pulsed electron-electron double resonance (PELDOR/DEER) spectra, discussing the local structure of HP1 related to the hinge region.

Keywords : *site-directed spin-labeling ESR, PELDOR, DEER, heterochromatin protein*

パルス電子 - 電子二重共鳴 (PELDOR/DEER) 法は、1.8 nm 以上の離れた弱いスピン間双極子相互作用を観測し、分子内の二つの電子スピン間の距離を測定する方法として有用であることが知られている。本研究では、この DEER 法を部位特異的にスピンラベルしたヘテロクロマチンタンパク質 HP1 に適用し、構造に関する知見を得ることを目的とした。HP1 は、ヒストン H3 の 9 番目のリシンがメチル化されたものを認識し、転写を不活性化させる機能を持つ[1]。また、HP1 はクロモドメイン(CD)、クロモシャドウドメイン(CSD)、CD と CSD をつなぐヒンジ部位(HR)で構成されるが、CSD が二量化していることが分かっている。HP1 α の構造に関して、CD、CSD(二量体)については構造が明らかとなっているが、ヒンジ部位の構造は明らかになっていない。そこで、部位特異的にスピン標識化した HP1 α に DEER 法を適用し、構造解明に至っていないヒンジ部位を含む構造情報を得るためにスピン間距離を調べた[2]。

本研究では、HP1 α の 103 番目(S103C、HR)と 160 番目(C160、CSD)のアミノ酸に着目し、システインを導入することによりスピン標識化した HP1 α の単量体、或いは二量体を測定試料として用いた。溶媒にグリセリン溶液を用いて 60K の凍結状態で DEER スペクトルを観測した。HP1 α (C160/S103C)単量体の DEER スペクトルから得られたスピン間距離分布を示す。CSD の C160 と HR の S103C の標識した電子スピン間の距離は、3.1 nm を中心に広く分布し、HR が決まった構造をとらない柔らかい部位であることを示した。HP1 α (C160/S103C)二量体試料の DEER 測定においては、標識スピンのサイト数が 4 つとなるため、複数のスピン間距離分布が重なったスペクトルを示す。S103 部位や、C160 部位のみにスピンラベルを導入したタンパク質二量体のスピン間距離の測定を行うことにより、HP1 α (C160/S103C)二量体の構造について知見を得た。

1) Y. Mihsima, I. Suetake et al. *Nucl. Acids Res.*, **2015**, 43, pp.10200-10212.

2) I. Suetake, T. Arata et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2021**, 567, pp.42-48.