

発表番号が
入ります。

プロリン異性化酵素Pin1の天然変性領域が制御する過渡的な
ドメイン間相互作用による機能調節 (12point)

○東京太郎¹, 首都花子² (10.5 point)

1 首都大学東京・大学院理工学研究科

2 首都大学東京・都市環境科学研究科

Intrinsically disordered region-mediated transient inter-domain contacts regulates the enzymatic activity of proline isomerase, Pin1 (12point, Times, Times New Roman)

○Taro Tokyo¹, Hanako Syuto² (以下, すべて10.5 point)

¹ Department of Chemistry, Graduate School of Science, Tokyo Metropolitan University

² Department of Physics, Graduate School of Science and Engineering, Tokyo Metropolitan University

Pin1 is a phosphorylation-specific peptidyl prolyl *cis/trans* isomerase (PPIase). Pin1 is composed of two independently moving domains connected by the unstructured linker, intrinsically disordered region: the phosphor peptide binding WW domain and the catalytic PPIase domain. Pin1 specifically recognizes and isomerizes the pSer/pThr – Pro motif where is the target site for both the WW and PPIase domains. In this study, we investigated the changes of the domain-specific binding affinity and the isomerase activity for a series of the mutants with the different linker length or stiffness. Consequently, we found that the Pin1 isomerase activity was regulated by the stochastic dynamics of the WW domain through its intrinsically disordered region.

Pin1はリン酸化特異的異性化酵素であり、pSer/pThr – Proモチーフを認識/異性化することで、細胞周期など様々な生物イベントのシグナル伝達に関与している。Pin1は特定の立体構造をもたないリンカーによって結ばれたそれぞれ独立して運動する2つのドメイン、リン酸化ペプチド結合能を有するWWドメインと異性化酵素活性を担うpeptidyl propyl isomerase (PPIase)ドメイン、で構成されている(Fig. 1)。2つのドメインはどちらもPin1の標的配列であるpSer/pThr – Proモチーフを認識する。そのため、リン酸化ペプチド結合能の高いWWドメインは、全長Pin1の標的配列への結合能の向上を担っていると考えられた。一方で、WWドメインを含む全長Pin1よりむしろWWドメインを含まない単独のPPIaseドメインの方が高い異性化活性を示した^{1, this study}。この一見相反するような結果については未だ十分な説明はなされていない。

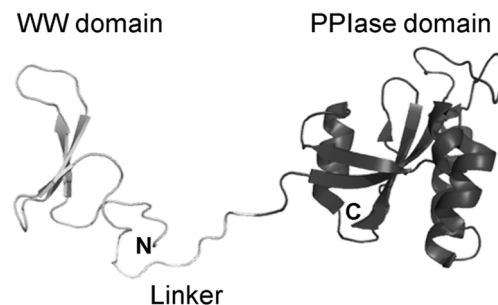


Fig. 1. Ternary structure of Pin1.

WW domain shown as light a grey; PPIase domain as dark grey (PDBID: 1NMW).

本研究では、リンカーの長さの異なった複数の変異体を作成し(Fig. 2)、WWドメインとPPIaseドメイン各々のドメイン選択的に結合する非天然アミノ酸を含んだ二価性ペプチドとの結合実験を行った。二価性ペプチド添加に伴ったPin1のNMRシグナルの軌跡は曲線的であり、単純な結合 – 非結合の2状態変化ではない(Fig. 3)。化学シフト変化の主成分分析の結果は、この系が少なく

プロリン異性化酵素, 同位体効果 (今回はキーワードを索引として掲載しませんが, 検索で利用されることを想定しますので, 適切なキーワードを記載してください。)

とも1つの中間状態を含んでいることを示した。そこで、3状態を仮定してフィッティングを行ったところ、曲がったシグナルの軌跡をよく再現でき解離定数の異なる2つの結合過程を見出した。リンカー変異体についても解析を行ったところ、弱い結合過程では大きな変化はなく、強い結合過程で違いが見られた。各変異体での強い結合過程における変化の傾向は、リガンド非存在下での変異体と野生型での化学シフト値の変化の傾向と一致したことから(Fig. 2)、特定の構造をもたないリンカー領域を介したWWドメインの確率的な動態が結合に影響を与えていることが示唆された。Pin1の標的配列を含んだモデルペプチドを用いた異性化活性実験を行ったところ、野生型が最も活性が低く、先に示したリンカー変異体で変化が観測された強い結合過程において、その結合が弱くなるに従って活性の向上が見られた。WWドメインの確率的な動態による結合状態の変化が、機能調節を行っていると考えられる。



Fig. 2. $^1\text{H},^{15}\text{N}$ HSQC spectra of a series of Pin1 mutants.



Fig. 3. NMR titration experiments of the bivalent peptide against the wild type Pin1.

References

- (1) Wilson, K. a, Bouchard, J. J., and Peng, J. W. (2013) Interdomain Interactions Support Interdomain Communication in Human Pin1. *Biochemistry* 52, 6968–6981.

第6 2回NMR討論会の要旨は1 ページもしくは2 ページでお願いします。

若手ポスター賞に応募する方は2 ページでお願いいたします。