

2022 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。）

超高磁場 NMR

(2) 研究代表者

氏名：長尾 聡

所属機関名・部局名・職名：兵庫県立大学・大学院理学研究科・特任助教

(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。）

膜結合や酸化還元反応に応答したタンパク質構造の動的変化の溶液 NMR 解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入洋平 先生（研究室名：高磁場 NMR 分光学研究室）

(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。

タンパク質は、アミノ酸配列に従って特定の立体構造をとることで機能すると考えられている。一方で、近年例外も見つかっており、特定の立体構造を持たない領域をもつ天然変性タンパク質（以下 IDP）もその 1 つである。IDP 領域をもつタンパク質は真核生物において約 3 割と多く、疾患に関連したタンパク質にも IDP 領域が存在することから、その構造と機能の動態を明らかにすることはタンパク質科学における重要な目標となっている。溶液 NMR では、ディスオーダーした構造のアンサンブル状態が NMR スペクトルとして観測可能であり、アミノ酸残基レベルでの構造情報を得ることが出来る。

緑藻クラミドモナス由来の動物型クリプトクロム（以下 CraCRY）は FAD を補因子として有し、概日リズムの制御と損傷 DNA の光修復という 2 つの機能を有するタンパク質である。CraCRY は約 500 残基のフォトリアーゼに類似した構造領域と、約 100 残基の IDP 領域から成っている。CraCRY の機能は、FAD の光還元状態によって IDP 領域の構造が変化することで制御されていると予測されている。本研究では、CraCRY における IDP 領域の動態を知るために光還元前後の二次元 HSQC スペクトルを測定し、比較を行った。光還元された CraCRY は光照射後に酸素があるとすぐに酸化されてしまうが、酸素濃度 0.01% 以下のグローブボックス内でシゲミ社の対称型ガスタイトミクロサンプルチューブに試料を封入することで、少なくとも 1 週間は光還元状態を保持することが出来た。光還元前後の CraCRY の HSQC スペクトルでは、いずれも IDP 領域のアミノ酸残基に由来する約 80 本のシグナルが観測され、ほとんどのシグナルの化学シフトは一致していたが、一部のシグナルにシフト変化とブロードニングが観測された。現在、三次元 NMR スペクトルの帰属を行っており、どのアミノ酸領域が光還元により変化しているのかを解析中である。