

(様式 1-1)

提出日：2024 年 5 月 4 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。)

超高磁場 NMR

(2) 研究代表者

氏名：久保 稔

所属機関名・部局名・職名：兵庫県立大学・大学院理学研究科・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。)

二機能クリプトクロムの構造ダイナミクスに関する溶液 NMR 解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入 洋平

(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。

<背景・目的>

近年、緑藻クラミドモナスの動物型クリプトクロム(CraCRY)が、「時計遺伝子発現の光制御」機能に加えて「損傷 DNA の光修復」機能も備えていることが報告された。CraCRY は光受容部位 (FAD) を有する DNA フォトリアーゼ様の構造領域 (PHR) の C 末端に 99 残基からなる天然変性領域(CTE)が付け足された構造をもっているが、光受容(暗状態-明状態間の変換)に起因する FAD の酸化還元に応じて CTE 領域の構造分布が変化することが、SAXS 実験により明らかとなっている。CraCRY の二機能は CTE 領域の構造変化によって制御されていることが予想されるが、アミノ酸残基レベルの構造動態については現状ほとんど不明である。そこで本研究では NMR 測定を通して、暗状態・明状態それぞれの CTE 領域の構造ダイナミクス、及び PHR-CTE 領域間の相互作用の解明を目指した。

<方法・結果>

CTE 領域の主鎖アミドの構造情報を得るために、 ^{15}N でラベル化した全長試料および CTE 領域を欠損させた試料の発現・精製を行った。これら試料の明状態に対して HSQC 測定を行い、スペクトルを比較したところ、CTE 由来のシグナルの検出が 99 残基の内の 63 残基に留まった。このことから、CTE 領域の約 1/3 は PHR との相互作用もしくは部分的な二次構造形成によって運動性が制限されている可能性が浮上した。検出されたシグナルの連鎖帰属は課題を残した状態にあるが、一方でアミノ酸側鎖メチル基を特異的に ^{13}C でラベル化した試料を調製し、同様の条件で HMQC 測定を行うことで、メチル基をプローブに PHR-CTE 間の相互作用を一部検出することに成功した。さらに、暗状態に対しても HSQC・HMQC 測定を行うことで、明暗に依存して化学シフト値が変化する CTE 由来のシグナルを複数検出したところである。