

(様式 1-1)

提出日：2025 年 5 月 6 日

2024 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、ほかは削除してください。)

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ください。)

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

*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記載。

<背景・目的>

近年、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 DNA フォトリアーゼの機能(DNA の光修復)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 残基の天然変性領域(CTE)が付加された構造をもっているが、FAD の酸化還元状態 (即ち、暗状態と明状態の変化) に応じて、CTE 領域の構造分布が変化することが SAXS 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依然として不明である。本研究では、CraCRY の CTE 領域における暗状態・明状態での構造ダイナミクスと、PHR ドメインとの相互作用の解明を目的として、NMR 解析を進めている。これまでの研究では、CTE 領域に由来する ^1H - ^{15}N HSQC シグナルの一部が、明暗条件に応じて化学シフトを変化させることが観測されている。本年度は、三次元 NMR 測定に基づき、これらのシグナルの連鎖帰属を試みた。

<方法・結果>

^{13}C , ^{15}N でラベル化した CraCRY の発現、精製を行った。このサンプルについて、72 時間以上の NMR 測定に耐える温度条件として 10°C が適切であることを確認した後、明条件下で C_α 及び C_β を観測対象とした HNCACB/CBCA(CO)NH 測定、ならびに主鎖アミドを対象とした(H)N(CA)NNH 測定を行った。上記の測定で検出されたシグナルの解析を通して、CTE を構成する 99 残基のうち 31 残基を帰属することに成功した。さらに、帰属された残基の中で、CTE の C 末端側に近い Gly570 が明暗条件に応じて化学シフト値を変化させるシグナルであることが判明した。この残基の周辺 (Lys561~Arg581) には正電荷を有するアミノ酸残基が多く存在することから、明暗に応じて CTE の Gly570 及びその周辺領域と PHR との相互作用様式が変化している可能性が示唆された。