

（様式 1-1）

提出日：2026 年 4 月 10 日

2025 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。

近年、緑藻クラミドモナスにおいて、二つの機能を有し、それらを使い分ける新奇なクリプトクロム（CraCRY）が発見された。CraCRY の二つ機能は、(1) クリプトクロム本来の時計遺伝子発現の光制御と (2) 紫外線により損傷した DNA の光修復である。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（Photolyase Homology Region; PHR）に天然変性領域（C-terminal Extension; CTE）が付加された構造を有しており、光依存的に二機能をスイッチングしている。CTE が CraCRY の二機能性の制御に重要な役割を果たしていると考えられるものの、その構造動態は未だ不明である。そこで本研究では、CraCRY の光受容時や相互作用パートナー（時計タンパク質および損傷 DNA）結合時における CTE の構造ダイナミクスの解明を目的とした。

本研究では NMR と SAXS を主たる手法として用いており、NMR 共同利用課題では ^{15}N 標識 CraCRY を用いた ^1H - ^{15}N HSQC 測定により、CTE 主鎖アミド由来シグナルを観測した。PHR 由来のシグナルと CTE 由来のシグナルは、全長 CraCRY と CTE 欠損体 CraCRY の比較によって識別した。これまでに、CTE を安定に保持した全長 CraCRY の調製条件を確立し、CTE 全残基のうち約 3 分の 1 についてシグナル帰属に成功している。

以上の準備研究を踏まえて、昨年度は光受容前後の CraCRY のスペクトルを SN 比を改善した条件で比較した。その結果、二機能性の制御と関連し得る顕著な化学シフト変化は観測されなかった。そこで次に、損傷 DNA を添加した際のスペクトル変化を調べたところ、CTE 領域に微小な化学シフト変化が検出された。今後はそれらのシグナル変化を詳細に解析し、損傷 DNA 結合に対する CTE 領域の役割を明らかにする。