

2021 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	山元 淳平
研究機関名	大阪大学
所属部署名	大学院基礎工学研究科
役職名	准教授
研究課題名	DNA 修復反応の動的構造解析基盤の創出
研究実施期間	2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日

### 研究成果の概要

DNA 修復酵素の一つである(6-4)光回復酵素による DNA 修復過程は、酵素の発見から 30 年弱が経過する現在でも議論が絶えない。特に、中間体の化学構造が明らかになっておらず、それゆえ中間体の存在そのものが疑問視されていた。現在、(6-4)光回復酵素と DNA の複合体共結晶を作成し、時分割シリアルフェムト秒 X 線結晶構造解析 (TR-SFX) によって中間体を捉える試みを進めている。しかし、この実験において、どの程度の時間領域で反応が進行するのかを事前に決定しておく必要がある。そこで、(6-4)光回復酵素による光依存的 DNA 修復反応にて過渡的に形成する中性セミキノン型フラビン補酵素の寿命を、時間分解過渡吸収測定にて調べた。その結果、中間体形成反応は 40 マイクロ秒の時定数で進行することを明らかにした。これは、中間体の時間分解構造解析において重要なインプットパラメータとなることが大いに期待される。

(6-4)光回復酵素による DNA 修復反応の量子収率は 10%以下と低く、TR-SFX にて反応の進行に伴う電子密度変化を捉えることは難しい可能性がある。一般に、光回復酵素はフラビン補酵素のほかに、光をより効率よく吸収してフラビンへとエネルギーを供給する集光アンテナ分子と呼ばれる発色団を保有する。集光アンテナ分子を保有する酵素を TR-SFX に用いることで、効率よく修復反応が検出できることを期待し、まずは(6-4)光回復酵素がどのように集光アンテナ分子を認識・利用しているのか、詳細に調べた。その結果、集光アンテナ分子の結合に伴い、タンパク質の構造変化を引き起こし、適切に認識することを見出した。一方で、集光アンテナ分子によって量子収率そのものは変化しないことがわかり、TR-SFX 測定において集光アンテナ分子を用いた改善は期待できないことが明らかになった。