

## 別紙 4

報告番号

※ 甲 第 号

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 光回復酵素・青色光受容体ファミリーにおける DNA 修復  
メカニズムの理論的研究

氏 名 佐藤 竜馬

## 論 文 内 容 の 要 旨

青色光受容体ファミリーに属する一群の蛋白質は、分子内に結合したフラビンが太陽光中の青色光を吸収し生物学的な機能を果たす。これらの蛋白質群の遺伝子配列や三次元立体構造はお互いに類似しているにも関わらず、機能は多岐にわたっており、生命科学分野において関心を集めている。その一例として、CPD 光回復酵素は、DNA 中に生じた損傷部位（シクロブタンピリミジンダイマー (CPD))を青色光を用いて修復する。

CPD 光回復酵素の光反応始状態において、活性部位にフラビンと基質 (CPD)が埋め込まれている。活性部位が提供する蛋白質反応場は、多自由度複雑系であり、その反応場はアミノ酸配列の変異に応じて複雑に変化する。従って、計算物理的な方法を活用して立体構造モデルを構築し、研究を遂行することが有効となる。

申請者は、CPD 光回復酵素の反応機構を計算機実験を用いて研究した。CPD 光回復酵素と類似の構造を持つ DASH 型クリプトクロムでは、活性部位のメチオニン (M 部位)がグルタミンに置き換わっていることが知られているが、二本鎖 DNA 中の CPD を修復することができない。さらに、この M 部位のメチオニン残基は、CPD 光回復酵素においては、100%保存されていることが分かっている。一方、CPD 光回復酵素の活性部位のグルタミン酸 (E 部位)と CPD との間には安定な水素結合が存在しており、そのグルタミン酸をアラニンに置換すると、光補修反応の量子収率が 40%に落ちてしまうとの実験的報告がある。これらのことから、CPD 光回復酵素の M、E 部位の機能的重要性が示唆される。申請者は、CPD 光回復酵素と DASH 型クリプトクロムの M 部位のアミノ酸置換体の立体構造モデルを分子動力学的手法により系統的に計算した。そして、アミノ酸置換の E 部位-CPD 間の水素結合に対する影響を評価した。

申請者は、まず CPD 光回復酵素と DASH 型クリプトクロム、及びそれらの変異体モデルの活性部位の構造を相互に比較した。その結果、いずれの蛋白質の場合でも、M 部

位のアミノ酸がメチオニンであるときに、E 部位-CPD 間の水素結合が最も安定に形成されていることを見いだした。さらに申請者は、非経験的分子軌道法を用いて活性部位の電子状態計算を遂行し、各々のアミノ酸と CPD との間の相互作用エネルギーを計算した。その結果、M 部位のアミノ酸がメチオニンの場合には、他のいずれの場合よりも E 部位-CPD 間相互作用エネルギーが 12kcal/mol 以上安定化されていることが分かった。

これらの研究結果から、申請者は青色光受容体ファミリーに属する蛋白質において、E、M 部位が協力的に作用して、基質である CPD を活性部位に捕捉して水素結合で安定化させていることを示した。そして、CPD 光回復酵素に於いて M 部位にメチオニン残基が保存されている生物学的事実に対して、計算物理的な観点から理由付けを行った。