

別紙 1 - 1

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 佐藤 竜馬

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

### 論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	准教授	博士 (理学)	倭 剛久
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	Ph. D.	岡本祐幸
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	理学博士	野口 巧
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士 (理学)	宮崎州正
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	准教授	博士 (理学)	榎 亘介

## 論文審査の結果の要旨

## 別紙 1-2

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互いに類似しているにもかかわらず、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、シクロブタンピリミジンダイマー (CPD) 光回復酵素 (PHR) は、DNA 中に生じた損傷部位 CPD を基質として認識し、光誘起電子移動反応によって修復する。

PHR 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、計算機実験および電子状態計算を用いて PHR の反応機構を研究した。PHR の活性部位において、メチオニン (M 部位) とグルタミン酸 (E 部位) が機能上重要な部位であると言われている。E 部位-CPD 間には安定な水素結合が存在しており、また、類似構造を持つ DASH 型クリプトクローム (CRY-DASH) の M 部位はグルタミン置換されているため、二重鎖 DNA 中の CPD を修復することができない。申請者は、PHR と CRY-DASH 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。さらに、活性部位の非経験的電子状態計算を行って、電子移動反応の機構を解析した。

申請者は、まず PHR と CRY-DASH、及びそれらの変異体モデルの活性部位の構造を比較した。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。また、マーカス理論に基づいた電子移動反応速度定数の計算では、実験による測定値が再現された。そして、電子受容体と供与体を囲むアミノ酸残基が効率的な電子移動に関与しており、それらを経由する多数の経路の量子力学的な干渉によって有効な電子移動反応経路が形成されているという描像を得た。

本研究の結果、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 を活性部位に補足して水素結合で安定化させていることを示した。そして、PHR の 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。また、PHR の効率的な電子移動反応に対するアミノ酸残基の寄与を明らかにした。

これらの結果は、複雑な生体高分子がアミノ酸配列を最適化して機能を獲得する機構について、計算生物物理的な理解と新しい方法を与えるものである。以上の理由により、申請者は博士 (理学) の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。