



Title	Mechanistic Studies on Photoinduced Reduction of a Flavin Cofactor in (6-4) Photolyase
Author(s)	細川, 雄平
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/88110
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (細川 雄平)	
論文題名	Mechanistic Studies on Photoinduced Reduction of a Flavin Cofactor in (6-4) Photolyase ((6-4) 光回復酵素中のフラビン補因子の光誘起還元機構に関する研究)
論文内容の要旨	
<p>生物の進化の歴史は太陽光に対する適応の歴史でもある。本論文で着目する光回復酵素は、太陽光に含まれる紫外線により損傷したデオキシリボ核酸 (DNA) を光依存的に修復する酵素であり、進化的に古くから生物のゲノム恒常性に関与している。この修復反応は、補因子であるフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) の光依存的な還元反応と還元状態のFADから損傷DNAへの光誘起電子移動反応の二種類の光反応過程から構成される。前者は光還元や光活性化と呼ばれる反応であり、光回復酵素中の複数のトリプトファン残基を介した電子移動反応により達成される。この際、FADとトリプトファンの間には電荷分離状態が生成する。本論文では植物由来の(6-4)光回復酵素と呼ばれる光回復酵素の光還元機構を分子動力学シミュレーションと精製タンパク質を用いた実験を組み合わせることで、光誘起電荷分離状態の安定化機構に対して新規の分子機構を明らかにした。</p> <p>本論文では、トリプトファン残基の周辺環境が光誘起電荷分離状態を安定化し、光還元反応に関与している可能性について検討した。その結果、トリプトファンはバルク中の水分子からのランダムな水和を受けない一方で、位置と配向が固定された水分子による水和を受けることで、光還元反応を独自の機構で進行させていることを明らかにした。これにより、トリプトファン上に生じたラジカルカチオンが脱プロトン化を受けることなく安定化されることが光還元の進行に有利であるという新奇な知見を得た。また、これまで(6-4)光回復酵素の光還元過程において重要性が指摘されてこなかった光誘起構造変化についても研究を展開した。その結果、光誘起構造変化と光還元過程との関連を示唆し、具体的なアミノ酸の動きをモデル化した。提唱したモデルは光回復酵素だけでなく近縁のタンパク質であるクリプトクロムにおいても適用できる可能性が高いモデルである。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (細川 雄平)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	岩井 成憲
	副 査	教 授	中西 周次
	副 査	教 授	松林 伸幸
	副 査	准教授	山元 淳平
論文審査の結果の要旨			
<p>本論文は、紫外線によりDNA中に形成された2量体損傷塩基を青色光を使って直接修復する光回復酵素が有するフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) の光還元反応を詳細に研究してその機構を明らかにし、光回復酵素と類似したクリプトクロムと呼ばれるタンパク質群で知られている光還元反応に伴って起こるタンパク質の構造変化を光回復酵素でも見出したことを報告している。</p> <p>本論文の著者は、植物の(6-4)光回復酵素中のFADの光還元において連続的な電子移動に関与する3つのトリプトファンうち、FADから最も離れたトリプトファンの側鎖近傍に結晶構造中で水分子が存在することに着目し、周辺のアミノ酸を置換した変異体タンパク質を使った分子動力学計算と光還元活性評価により、この水分子がFADの光還元反応に重要な役割を果たしていることを見出した。</p> <p>次に著者は、植物の(6-4)光回復酵素は動物の同酵素よりトリプトファンが一つ少なくとも機能することから上記の水分子周辺のアミノ酸側鎖の比較を行い、N末端から382番目のヒスチジンが重要ではないかと考えた。このアミノ酸の変異体を使った分子動力学計算、光還元活性評価ならびにナノ秒時間分解過渡吸収測定から、上記の水分子は外部の水とは隔離されてタンパク質に結合しているという結論を得た。</p> <p>最後に著者は、水素重水素交換質量分析により植物の(6-4)光回復酵素においてFADの光還元に伴う立体構造の変化を検出し、それに関与すると推定されるアミノ酸を置換した変異体中での還元型FADの安定性評価ならびに光還元活性評価を行って実際の動きをモデル化した。FADの光還元による立体構造の変化はクリプトクロムと呼ばれるタンパク質群の機能に重要であり、その分野への応用が期待される。</p> <p>以上のように、本論文は計算化学、機器分析化学、分子生物学等の知識と技術を活用して電子移動反応やタンパク質の構造変化の解析を行ったものであり、得られた成果は分子細胞生物学研究の今後の発展につながるものであるため、博士(理学)の学位論文として価値のあるものと認める。</p>			