

2024 年度
創発的研究支援事業 年次報告書【公開版】

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	2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日

研究成果の概要

DNA 修復およびシグナル伝達の二元機能性を示す青色光受容タンパク質であるクラミドモナス由来動物型クリプトクロム (CraCRY) の光応答に伴うタンパク質の構造変化を観測するため、X 線自由電子レーザー施設 SACLA を用いた時分割シリアルフェムト秒 X 線結晶構造解析 (TR-SFX) を行った。異なる FAD 酸化状態を有する CraCRY の三次元構造を SACLA にて明らかにしたところ、酸化状態 (FAD_{ox}) および二電子還元状態 (FADH⁻) を有する CraCRY では全体構造が概ね一致した一方で、一電子還元状態中性ラジカル (FADH[•]) を有する CraCRY では、C 末端領域において電子密度の喪失が認められたことから、FAD_{ox} から FADH[•] への変化に伴うタンパク質構造変化が光応答機能発現の鍵となることを見出した。続いて、FAD_{ox} を有する CraCRY 結晶を用いて、光励起後 10 ナノ秒から 233 ミリ秒における反応中間体の三次元構造を TR-SFX によって明らかにしたところ、(i) FAD 近傍、(ii) FAD に隣接する溶媒露出部位、および (iii) C 末端領域の三箇所が異なる時間領域で構造変化することがわかった。これらのデータから、クリプトクロムが光に応答して下流因子へとシグナル伝達を担う構造へと遷移する分子機構を解明した。

その他、ターゲット核酸に結合するタンパク質を網羅的に濃縮する指紋標的濃縮法を開発し、i-motif と呼ばれるシトシン四重鎖 DNA 高次構造に特異的に結合するタンパク質として、核小体構成タンパク質であるヌクレオリンを同定した。ヌクレオリンは結合に伴って DNA 複製の障害となりうる i-motif 構造を緩める機能を持つことを明らかにした。