

令和5年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

研究種目：新領域開拓研究 研究期間：令和5年10月～令和8年9月（予定）

研究課題名：マルチスケール時間分解 X 線結晶構造解析による酵素学 2.0 の開拓

ラボ長

所属：大学院基礎工学研究科物質創成専攻機能物質化学領域

職位 准教授 氏名：山元 淳平

研究成果：

(概要)

本年度は人的交流を主軸に取り組んだ。第61回日本生物物理学会年会（2023年11月、愛知）にてラボ長・山元がオーガナイザーを務めた新学術領域研究・高速分子動画共催シンポジウムにおいて、共同研究者の八木博士および Royant 博士を招待し、講演を行なって頂いた。また、大阪大学の学生を共同研究者の Maestre-Reyna 博士の研究室へ1ヶ月弱派遣し、DNA-タンパク質複合体の共結晶化および構造解析に成功した。

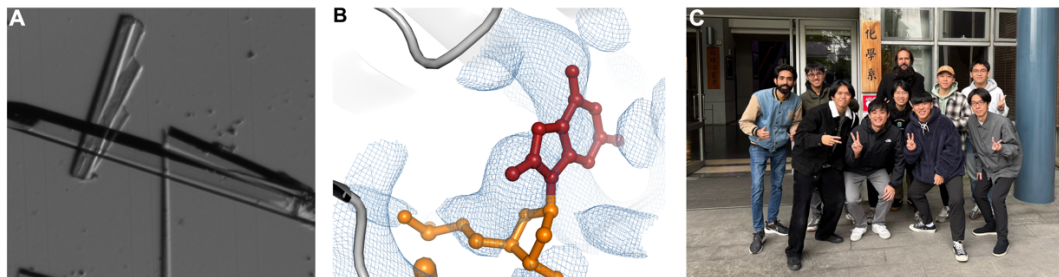
(本文)

さまざまな時間領域における時間分解 X 線結晶構造解析ならびそれを補完する計算科学研究を進めるため、共同研究者らと研究交流を行った。第61回日本生物物理学会年会にて山元がオーガナイザーを務めた新学術領域研究・高速分子動画共催シンポジウム「構造・計算・分光研究から解明する光受容性タンパク質の非平衡状態ダイナミクス」にて、共同研究者の八木博士と Royant 博士に招待講演を依頼した。また、第46回日本分子生物学会年会にて山元が共同オーガナイザーを務めた「化学修飾から読み解く DNA 修復とゲノム安定性維持機構」というシンポジウムにて、Maestre-Reyna 博士に招待講演を依頼した。加えて、共同研究者の Maestre-Reyna 博士と八木博士、山元の3者で定例オンライン会議を行っており、Maestre-Reyna・山元・Royant が Science 誌に報告した動的構造座標を用いた計算科学研究を開始した。さらに、Maestre-Reyna・山元・Royant の間でオンライン会議を頻繁に行っており、今後欧州シンクロトン放射光研究所における時間分解 X 線結晶構造解析について議論を進めた。

上記日本生物物理学会年会シンポジウムにて招待講演を依頼した名古屋大学・梅名泰史准教授が、X 線自由電子レーザー施設 SACLA の中でもフェムト秒～ピコ秒の時間領域で時間分解 X 線結晶構造解析が可能である BL3 にてビームタイムがあったため、2024年1月26～28日まで山元と Maestre-Reyna 博士が参加しビームタイムの運営補助を行った。SACLA における超高速時間領域の時分割シリアルフェムト秒 X 線結晶構造解析 (TR-SFX) 実験の進め方を学んだ。

従来光に応答しない酵素反応の時間分解 X 線結晶構造を目指し、DNA 修復酵素の一つである 8-オキソグアニン DNA グリコシラーゼとケージ修飾損傷 DNA の複合体共結晶を得るため、大阪大学大学院基礎工学研究科・修士2年の居村知己氏を台湾大学・Maestre-Reyna 博士の研究室に3週間派遣し、同大学修士2年の Kai-Chun Yang 氏とともに実験を行った。その結果、結晶を得ることができ、さらにシンクロトン放射光を用いた結晶構造解析に成功した (図)。今後、さらなる工夫が必要であることがわかったが、次年度以降の時間分解 X 線結晶構造解析に向けた準備は

着々と整いつつある状況であると言える。



図：(A)結晶の写真、(B)構造解析の結果、(C) Maestre-Reyna 研メンバーと居村氏（中央）の写真

研究経費（R5年度）の内訳：

備品費	消耗品費	旅費	謝金	その他	合計
0円	227,312円	341,708円	0円	30,980円	600,000円

共同研究者等：

(1) 共同研究者（氏名・所属）

Manuel Maestre-Reyna・台湾大学

八木清・理化学研究所

Antoine Royant・ESRF

(2) 研究協力者（氏名・所属・学年（学生の場合））

Kai-Chun Yang・台湾大学・M2

居村知己・大阪大学大学院基礎工学研究科・M2

発表論文等（令和5年3月31日現在）：

〔雑誌論文〕 (1) Hosokawa Y, Morita H, Nakamura M, Yamamoto J. A deazariboflavin chromophore kinetically stabilizes reduced FAD state in a bifunctional cryptochrome. *Sci. Rep.* 13, 16682 (2023).

(2) Maestre-Reyna M, (60名省略), Yamamoto J, Iwata S, Zhong D, Standfuss J, Royant A, Bessho Y, Essen LO, Tsai MD. Visualizing the DNA repair process by a photolyase at atomic resolution. *Science* 382, eadd7795 (2023).

〔著書〕 なし

〔学会発表〕 (1) 山元淳平, Manuel Maestre-Reyna, 別所義隆, Lars-Oliver Essen, Ming-Daw Tsai、時分割シリアルフェムト秒 X 線結晶構造解析による DNA 光回復酵素の全修復過程の原子分解能観測、日本放射線影響学会第 66 回年次大会、2023 年 11 月、東京（招待講演）

(2) Junpei Yamamoto, Manuel Maestre-Reyna, Yoshitaka Bessho, Lars-Oliver Essen, Ming-Daw Tsai. Visualizing the DNA repair process by DNA photolyase at atomic resolution via time-resolved serial femtosecond X-ray crystallography, S-FISNA2024, March 2024, Kobe, Japan

〔その他〕 なし

外部資金獲得状況・申請状況：JST 創発・フェーズ 2 継続認定（追加配分あり）

参考となる HP 等：<https://researchmap.jp/yamamotojunpei>