

# Theoretical Studies on the Reactions of Diol Dehydratase by Large-Scale Quantum Chemical Calculations

井富, 一城

<https://hdl.handle.net/2324/1500681>

---

出版情報：九州大学, 2014, 博士（工学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 土井富 一城

論文題名 : Theoretical Studies on the Reactions of Diol Dehydratase by  
Large-Scale Quantum Chemical Calculations  
(大規模量子化学計算を用いたジオールデヒドラターゼの反応  
に関する理論的研究)

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

ジオールデヒドラターゼはアデノシルコバラミン依存の酵素で 1,2-ジオールを相当するアルデヒドへと変換する反応を触媒する。これまで、この酵素の反応機構は実験・理論の両面から研究が行われてきた。理論計算は実験では観測することができない不安定な中間体、遷移状態の探索や活性化エネルギーの予測に多くの寄与をなしてきた。本論文では大規模量子化学計算を用いてジオールデヒドラターゼによる 1,2-プロパンジオールと 1,2,3-プロパントリオール(グリセロール)の脱水反応の機構を解析し、金属イオン・アミノ酸残基の役割を分子レベルで明らかにした。

第1章では、本研究の対象であるアデノシルコバラミン依存のジオールデヒドラターゼの研究動向について概説した。また、変異型酵素の反応機構を解析する計算ミュレーションの意義についても確認した。

第2章では、本研究で用いた QM/MM 法について述べた。QM/MM 法は高コストな量子化学計算を活性中心に、安価な分子力場計算をそれ以外の領域に適用する方法である。この方法を用いることで、酵素などの数万原子から成る大規模な系に対しても量子化学計算を適用することが可能となった。

第3章では、活性中心に存在する金属イオンが 1,2-プロパンジオールの脱水反応に与える影響について議論した。最近、この金属イオンは  $K^+$  から  $Ca^{2+}$  へと修正されている。中心金属イオン  $K^+$  と  $Ca^{2+}$  のモデルにおける反応のエネルギーダイアグラムを求めると水酸基転移反応の活性化エネルギーに大きな違いが確認された。これは  $Ca^{2+}$  のモデルでのみ遷移状態の共鳴安定化がおきるためである。これまで中心金属イオン  $K^+$  は水酸基転移反応の活性化エネルギーに影響を与えないとされてきたが、中心金属イオン  $Ca^{2+}$  は活性化エネルギーを下げることに積極的な役割を果たすことが明らかにされた。また、Asp335 と転移する水酸基の静電反発は水酸基転移反応を阻害することが報告された。

第4章では、計算ミュレーションを用いてアミノ酸残基の置換が反応に与える影響について解析した。変異導入による活性の変化は酵素のコンフォメーションや複雑な反応機構の変化などにより引き起こされるため、実験のみからその結果を解釈することは非常に難しい。そこで、計算ミュレーションを行うことで、実験では明らかにできない変異導入の影響を理解することが可能になると期待される。本研究の結果、His143、Glu170 は水酸基転移反応の遷移状態の共鳴安定化に重要であり、反応を促進させる残基であることが明らかにされた。一方、Asp335 は転移する水酸基との間に生じる静電反発により、水酸基転移反応の活性化エネルギーを上昇させることが判明した。また、計算ミュレーションにより求められた変異型の野生型に対する相対活性は実験値を非常によ

く再現しており、計算ミュレーションにより酵素の活性の予測が可能であることを示した。

第5章では、本来の基質ではないグリセロールの脱水反応における酵素の不活性化について議論し、これまで未解明であった不活性化に寄与する副反応を明らかにした。副反応では反応物ラジカルの3位の水酸基の水素がC1ラジカルに移動する水素移動反応が起き、アルコキシラジカルが生じる。このアルコキシラジカルはグリコールラジカルとホルムアルデヒドに分解される。また、グリセロールと酵素の結合により得られるふたつの構造において不活性化の頻度が異なる理由についても検討した。その結果、不活性化が進行しやすい構造では水素移動反応とそれと競争的に進行する水酸基転移反応の活性化エネルギーの差がより小さく、相対的に不活性化が進行しやすいことが判明した。

第6章では、グリセロールの脱水反応においてGln336Ala、Ser301Ala変異型が野生型より不活性化しにくい理由について計算ミュレーションを用いて検討した。不活性化の抑制は基質の結合構造の選択性の変化と不活性化に寄与する副反応の活性化エネルギーの上昇により説明される。また、Val300が基質の結合構造の認識に重要な残基であることが明らかにされた。これらの結果から、計算ミュレーションを用いることで酵素を目的の反応に最適化できることを示した。

第7章では、本論文の成果を総括した。これらの研究によりジオールデヒドラターゼの反応機構の詳細を明らかにすることができた。また、計算ミュレーションの有用性も示すことができたと思う。

〔作成要領〕

1. 用紙はA4判上質紙を使用すること。
2. 原則として、文字サイズ10.5ポイントとする。
3. 左右2センチ，上下2.5センチ程度をあげ，ページ数は記入しないこと。
4. 要旨は2,000字程度にまとめること。  
(英文の場合は，2ページ以内にまとめること。)
5. 図表・図式等は随意に使用のこと。
6. ワープロ浄書すること（手書きする場合は楷書体）。  
この様式で提出された書類は，「九州大学博士学位論文内容の要旨及び審査結果の要旨」  
の原稿として写真印刷するので，鮮明な原稿をクリップ止めで提出すること。