

## 4E18 ビタミン B12 依存型酵素の反応機構に関する理論的研究

(九大先導研<sup>1</sup>・University of Louisville<sup>2</sup>・岡大工<sup>3</sup>) ○蒲池高志<sup>1</sup>,  
Pawel M. Kozlowski,<sup>2</sup> 虎谷哲夫<sup>3</sup>, 吉澤一成<sup>1</sup>

【序】ビタミン B12 はコリン環と呼ばれるテトラピロール様 4 座配位子の中心にコバルト原子を含む複雑な構造をもつ 6 配位コバルト(III)錯体である(Fig 1)。通常ビタミン B12 と呼ばれるシアノコバラミン(CN-Cbl)は、B12 類を生体から効率よく抽出する際にシアンを加えるために生じる人工産物であり、生体内では B12 のふたつの補酵素型であるアデノシルコバラミン(AdoCbl)またはメチルコバラミン(MeCbl)のいずれかに変換されて働く。これらふたつの補酵素はいずれも自然界には他には類例を見ない Co-C 結合を有する有機金属化合物である。メチルコバラミンはメチオニン生合成、嫌氣的酢酸生成、メタン生合成等におけるメチル基転移反応に補酵素として関与し、これらの反応はイオン機構で進行する。一方、アデノシルコバラミンは分子内基転移反応において補酵素として関与し、ラジカル機構で進行する。Fig 2 にこの分子内基転移反応の最小機構を示した。例えば、これまで我々が DFT 計算や QM/MM 法により解析してきた、ジオールデヒドラターゼによるプロパンジオールの脱水反応はアデノシルコバラミン中の Co-C 結合がホモリティックに開裂することにより始まる[1,2]。これにより生じたアデノシルラジカルが基質の 1 位の炭素から水素を引き抜き、1,2-diol radical が生成する。この後、水酸基の転移から 1,1-diol radical を経てアルデヒドと水分子に分解される。

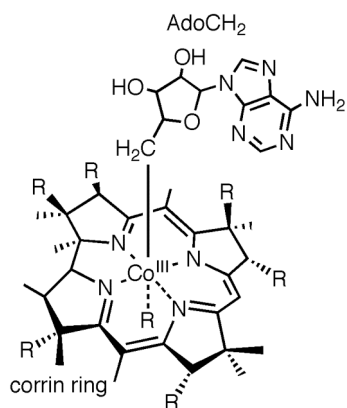


Fig. 1 Adenosylcobalamin

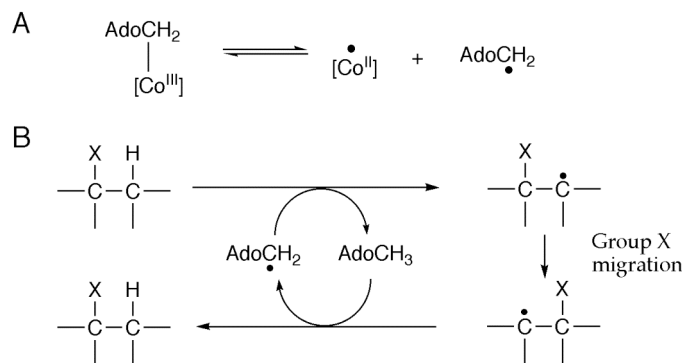
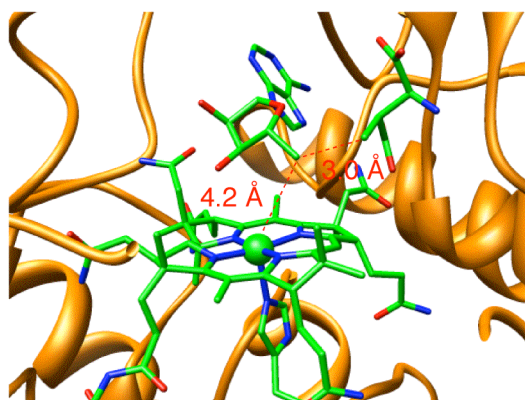


Fig. 2. The minimal reaction mechanism of B12-dependent enzymes. A: Homolytic cleavage of the Co-C bond in the adenosyl-cobalamin. B: Rearrangement reaction by the enzyme.

Fig 3に示すとおり、近年決定されたグルタミン酸ムターゼのX線構造からC-C間およびCo-C間の距離がそれぞれ3.0、4.2 Åと判明した。この結果から、BuckelらはFig 4のようにコバラミンが反応に直接関与するのではないかと興味深い考察を行っている[3]。もしこの提案が正しいとすれば、ラジカル酵素の代表と認識されている多くのB12依存型酵素の反応機構を見直す必要が生ずる。そこで我々はCo-C結合が開裂すると同時に基質の水素原子を引き抜くような遷移状態が存在するのではないかと予想し、詳細な反応経路解析を行った。



PDB ID 119C

Fig. 3 The X-ray structure of glutamate mutase

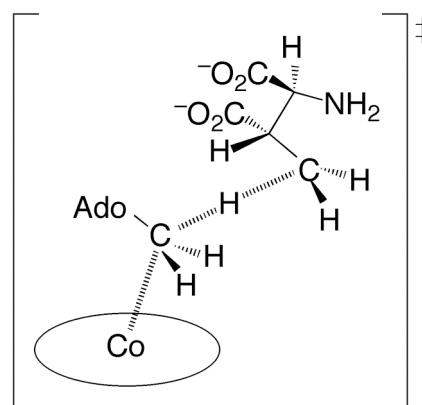


Fig 4. Schematic representation of the hydrogen abstraction step from 3-methylaspartate performed by adenosylcobalamin.

**【計算方法】**構造最適化および振動解析には密度汎関数法のひとつであるBP86法を用い、基底関数には6-31G(d)を用いた。全反応において電荷は+1とした。また多重度には開殻一重項状態を考慮した。すべての計算にはGaussian 03を用いた。

**【結果と考察】**Fig. 5はグルタミン酸のモデルであるアルデヒドから水素原子が引き抜かれる遷移状態の最適化構造を示す。この遷移状態におけるCo-C結合長は3.230 Åであった。Co-C結合の開裂の際に、アデノシル部位がラジカルの性質を有するのはおよそ2.7 Åからであり、4.2 Åではそのスピン密度がほぼ1.0となる。この遷移状態におけるコバルト原子のスピン密度は0.9であり、Co-C結合長が3.230 Åになる段階で、アデノシル部位が基質から水素原子を引き抜くのに十分な反応性を持つラジカル種になると判明した。また、極限的反応座標解析(IRC)によりCo-C結合の開裂と水素原子引き抜きが協奏反応として起こることを確認した。しかも、この遷移状態は、Co-C結合がホモリティックに開裂後に生成したアデノシルラジカルが基質の水素原子を引き抜く反応よりも7 kcal/molもエネルギー的に有利であることが明らかとなった[4]。このことはBuckel等が提案したとおり、この比較的短いCo-C間距離ではコバルト原子のd軌道やコリン環のπ共役系がアデノシルラジカルと依然相互作用しており、水素原子を引き抜く遷移状態の安定化に寄与しているためと考えられる。

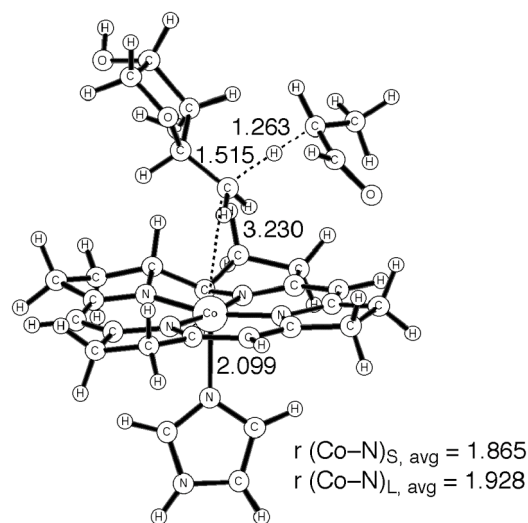


Fig 5. The transition-state structure of a homolytic Co-C bond cleavage concerted with a subsequent H-atom abstraction.

## 【参考文献】

- [1] Kamachi, T.; Toraya, T.; Yoshizawa, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16207.
- [2] Kamachi, T.; Toraya, T.; Yoshizawa, K. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 7864.
- [3] Buckel, W.; Kratky, C.; Golding, B. T. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 352.
- [4] Kozłowski, P. M.; Kamachi, T.; Toraya, T.; Yoshizawa, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 980.