

## QM/MM 法によるジオールデヒドラターゼの ミュレーション解析

(<sup>1</sup>九大先導研・<sup>2</sup>岡山大工) ○土井富一城<sup>1</sup>・蒲池高志<sup>1</sup>・虎谷哲夫<sup>2</sup>・吉澤一成<sup>1</sup>

### Computational Mutation analysis for Diol Dehydratase using QM/MM Method

(<sup>1</sup>IMCS Kyushu Univ., <sup>2</sup>Okayama Univ.) Kazuki Doitomi<sup>1</sup>, Takashi Kamachi<sup>1</sup>,  
Tetsuo Toraya<sup>2</sup>, Kazunari Yoshizawa<sup>1</sup>

#### 【緒言】

ジオールデヒドラターゼ (DD) はアデノシルコバラミン由来の酵素であり、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。この酵素は本来の基質ではないグリセロール(GOL)の脱水反応を触媒する際に、不活性化されやすいことが知られている。GOLが結合した構造では本来の基質である1,2-プロパンジオールの場合と違い、GOLの3個目の水酸基がGln336とSer301の近傍に存在し、Ser301と水素結合するが、Gln336とは水素結合していない。虎谷らはこれらの残基が反応に与える影響を検討するために酵素に変異を導入しGln336Ala、Ser301Ala変異型を作製し、野生型よりも不活性化しにくいと報告した[1]。本研究では野生型が不活性化する原因と変異型が野生型よりも不活性化しにくい理由についてQM/MM法を用いて検討した。

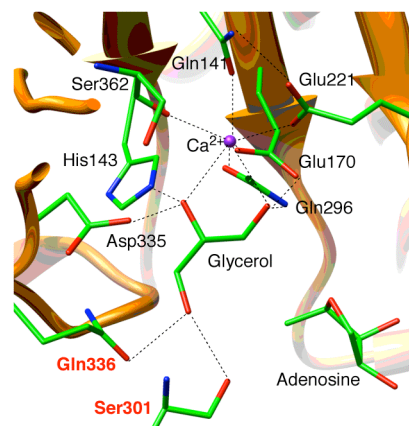


図 1. 活性中心近傍の構造

#### 【計算方法】

酵素の全原子計算を行うために QM/MM 法を用いた。QM/MM 法は高精度で計算負荷が大きい量子化学(QM)計算と安価で高速な分子力場(MM)計算を組み合わせた方法である。QM 領域の原子は反応に重要な 10 個のアミノ酸残基, 金属イオン( $\text{Ca}^{2+}$ ), GOL, アデノシルラジカルのリボース部位とした。変異型の計算においては Gln336、Ser301 をそれぞれアラニンに置換した。QM 領域では TURBOMOLE プログラムを用いて B3LYP 法で計算を行い、基底関数は SV(P)を適用した。それ以外の領域を MM 領域として力場に CHARMM を適用し、計算を DL\_POLY プログラムで行った。計算のインターフェイスとして ChemShell プログラムを用いた。

#### 【結果と考察】

図2に示すのはこれまで知られていた脱水反応と本研究により提案された不活性化に寄与する副反応の反応機構である[3]。始めにアデノシルラジカルがGOLの1位の水素を引き抜き、反応物ラジカルが生じる。この反応物ラジカルから水酸基転移反応

(脱水反応)と水素移動反応(副反応)が競争的に進行する。水酸基転移反応では2位の水酸基が1位に転移し、生成物ラジカルになる。一方、水素移動反応では3位の水酸基の水素が1位に移動する水素移動反応が進行し、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不安定なのでホルムアルデヒドとグリコールラジカルに分解される。紫外可視分光スペクトルはホルミル基とCoの相互作用の可能性を示しており、この副反応を支持する。

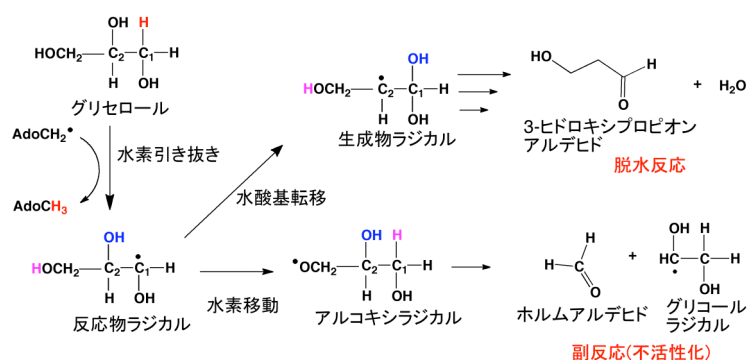


図 2. 脱水反応(上)と副反応(下)の機構

また、GOLがDDに結合した構造がふたつ存在すること(GS、GR)が知られており、GR構造では脱水反応のみが起き、GS構造では不活性化が進行しやすい[2]。野生型のGSとGR構造それぞれにおける水酸基転移反応と水素移動反応の活性化エネルギーを図3に示す。それらのエネルギー差はGS、GR構造でそれぞれ10.0、14.1 kcal/molである。GS構造はエネルギー差が小さく、水素移動反応が進行しやすく、不活性化しやすいことが明らかにされた[3]。

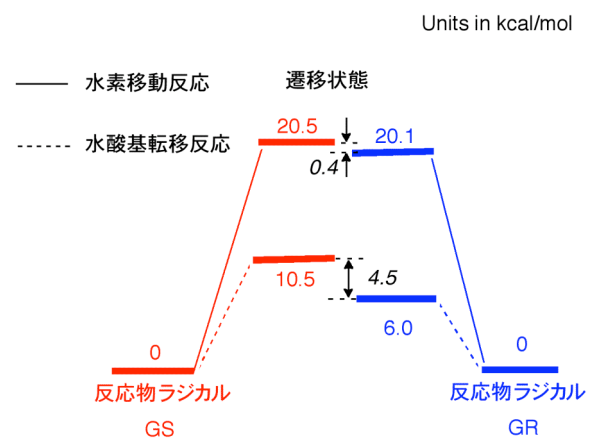


図 3. 不活性化と基質結合構造の関係

変異型の反応についても野生型と同様の機構で検討した。Gln336Ala変異型では水素移動反応と水酸基転移反応の活性化エネルギーはあまり変化しなかった。一方、GR構造で結合するGOLの割合が増えることが予測された[4]。GR構造は水素移動反応が進行しにくいので、不活性化が抑制される。この結果は実験による提案[1]と一致している。しかし、Ser301Ala変異型ではGS構造で結合するGOLの割合が多くなった。ところが、GS構造の水素移動反応の活性化エネルギーが高くなることによって、副反応が進行しにくくなることが判明した。当日はこれまでに得られた知見を基に野生型と変異型の反応について議論する。

[1] Yamanishi, *et.al. FEBS J.* **2012**, 279, 793.  
 [2] Bachovchin, *et.al. Biochemistry* **1977**, 16, 1082.  
 [3] Doitomi, K.; Kamachi, T.; Toraya, T.; Yoshizawa, K. *Biochemistry* **2012**, 51, 9202.  
 [4] Doitomi, K.; Kamachi, T.; Toraya, T.; Yoshizawa, K. *to be submitted*