

3D1a

B12 補酵素におけるコバラミンの役割-ラジカル機構か？協奏機構か？

(九大先導研、岡山大工) ○吉澤一成、蒲池高志、Pawel M. Kozlowski、虎谷哲夫

kazunari@ms.ifoc.kyushu-u.ac.jp

ビタミン B12 は生体内に取り込まれると、アデノシルコバラミンに変換されて十数種の酵素の補酵素として働く事が知られている。このうちジオールデヒドラターゼは、1,2-プロパンジオール等の主に炭素数 4 以下の vic-ジオールの脱水反応を触媒する酵素である。本酵素による反応は、Fig. 1 に示すように、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。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。その後、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。ジオールデヒドラターゼの X 線構造解析から基質 1,2-プロパンジオールはアデノシルコバラミン中の Co から約 11.7 Å の距離にある K⁺イオンに配位している(1)。我々はこの X 線構造に基づき、全原子(約 13,500 原子)を含む現実モデルを構築し、ONIOM-QM/MM 法を用いてこの反応の理論的解析を行った(2)。本研究では活性部位アミノ酸残基の反応への寄与を推定するため、活性部位残基のいくつかを置換することで変異体モデルを構築し、それらの触媒機能を考察した(3)。

コバラミンの関与する B12 依存型酵素の反応では、Co-C 結合がホモリティックに開裂することにより生成する炭素ラジカルがその反応において主役を演ずると考えるのが一般的である。いっぽう、Buckel らは B12 依存型酵素のひとつであるミューテースでは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(4)。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。基質のアルデヒドから水素原子が引き抜かれる遷移状態と極限的反応座標解析の結果により C-H 結合の解離とリボースへの移動が協奏反応として起こりうることを確認した。しかも、この遷移状態は、Co-C 結合が開裂後に生成した炭素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分かった(5)。

文献

(1) Toraya, T. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2095.

(2) Kamachi, T.; Toraya, T.; Yoshizawa, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16207.

(3) Kamachi, T.; Toraya, T.; Yoshizawa, K. *Chem. Eur. J.* submitted.

(4) Buckel, W.; Goldin, B. T.; Kartky, C. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 352.

(5) Kozlowski, P. M.; Kamachi, T.; Toraya, T.; Yoshizawa, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 980.

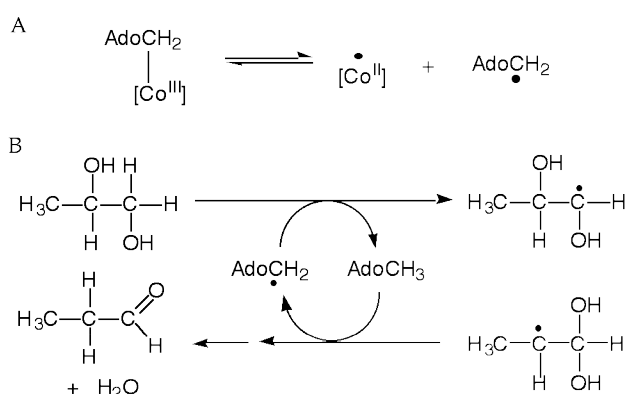


Fig. 1. The minimal reaction mechanism of diol dehydratase. A: Homolytic cleavage of the Co-C bond in the adenosyl-cobalamin. B: Dehydration by the enzyme. AdoCH₂, adenosyl group.