

提出日：平成 30 年 5 月 18 日

平成 29 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

|  |                           |                   |  |
|--|---------------------------|-------------------|--|
| 課題名  | フラビン酵素の基質認識・反応メカニズムに関する研究 |                   |  |
| 研究代表者  | 氏名                        | 玉置 春彦             |  |
|  | 所属機関名・部局名                 | 熊本大学・生命科学研究部      |  |
|  | 職名                        | 助教                |  |
| 事業名<br>(該当の事業名の右欄に○)   | <input type="radio"/>     | 共同研究員             |  |
|  | <input type="radio"/>     | 超高磁場NMR 共同利用研究課題  |  |
|  | <input type="radio"/>     | クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題 |  |
|  | <input type="radio"/>     | 客員フェロー            |  |
| 蛋白研受入担当教員名   | 北條 裕信                     |                   |  |
| <p>筆者らは、フラビン酵素であるアシル CoA デヒドロゲナーゼ (ACD) を研究対象として、量子力学計算 (QM 計算) を用いて、フラビン-基質 (アナログ) 間の相互作用解析を行った。基質アナログ 3-チアアシル CoA を、基質反応を探るプローブとして利用した。QM 計算から、フラビン-基質アナログ間に働く分子軌道相互作用が、基質反応における遷移状態と高い類似性を持つことが示された。また、<sup>13</sup>C 化学シフトの実験値を十分な精度で再現できることが分かった。</p> <p>これまでの研究過程で、フラビンの <sup>13</sup>C 化学シフトの実験値と計算値の差 (数 ppm) に関して、分子運動 (特に分子振動) による影響が関与すると予想された。QM 計算と分子動力学計算 (MD 計算) を組み合わせる方法論の可能性を検討した。計算には、Gaussian09 および Amber プログラムを用いた。単純化した分子モデルを用いて、QM/MD 計算によって立体構造のサンプリングを行い、各構造における <sup>13</sup>C 化学シフトの計算値に統計処理を行った。300 K でのシミュレーションにおいて、分子運動による <sup>13</sup>C 化学シフトの振れ幅は、予想以上に大きく 10 ppm 以上に及んだ。MD 計算が、量子論的な分子運動の描像とは異なるシミュレーションであることに由来している。分子運動の影響を適切に扱うためには、量子論に基づく新規手法の開発が必要である。</p> <p>X 線立体構造に関して、ACD のアイソザイムの一つである中鎖 ACD (MCAD) と 3-チアアシル CoA 複合体 (アシル鎖 C8) の結晶化を行い、解析を進めた。構造最適化において、フラビンと基質アナログの構造パラメータを、理論計算によるパラメータに変更する作業を実施して、活性部位の構造をより厳密に解析している。解析途中ではあるが、MCAD・3-チアアシル CoA 複合体の立体構造を初期値として、QM/MM 計算によりエネルギー最適化を行い、分子軌道の解析を行った。約 200 原子を QM 計算に取り込んだ QM/MM 計算から、アミノ酸側鎖とフラビン環との相互作用が、反応過程に出現する負電荷の非局在化に重要であることが判明した。今後、周辺アミノ酸を段階的に加え、分子軌道相互作用の観点から分光データの解析を行い、関連する物理化学実験を進めていく予定である。</p> |                           |                   |  |

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 30 年 5 月 18 日 (金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp