

## プレスリリース

公立大学法人兵庫県立大学

国立大学法人岡山大学

国立研究開発法人理化学研究所

平成 30 年 5 月 29 日

### 活性型ビタミン B<sub>12</sub> がラジカル酵素反応を制御する仕組みを世界で初めて発見

#### － 高品質衣料用繊維の原料生産への応用に期待 －

##### 【研究成果のポイント】

- ・ ビタミン B<sub>12</sub> の核であるコリン環のアミド側鎖の 1 つが、B<sub>12</sub> 酵素ジオールデヒドラターゼとエタノールアミンアンモニアリアーゼの触媒反応に直接関わり、ラジカル反応を制御しつつ進行させる機構を解明
- ・ ジオールデヒドラターゼは、丈夫さと高い伸縮性や肌触りの良さを併せもつ衣料用繊維ポリトリメチレンテレフタレートの原料である 1,3-プロパンジオールの合成に利用可能
- ・ コリン環アミド側鎖がその周囲にあるアミノ酸残基と連携してラジカル酵素反応を適切に制御する仕組みが明らかになり、1,3-プロパンジオールなどの有用物質の生産をより効率的に行えるようになる可能性

##### 【概要】

ビタミン B<sub>12</sub> の活性型の 1 つであるアデノシル B<sub>12</sub> は、化学的に達成が難しい反応を触媒するため、ラジカルという超活性種を利用して酵素反応を行います。酵素がラジカルを利用することによって、高い反応性が得られるというメリットがある反面、その代償として副反応を起こして不活性化され易くなります。これまでアデノシル B<sub>12</sub> 酵素には副反応を起こりにくくする仕組みがあると考えられていましたが、酵素とアデノシル B<sub>12</sub> との複合体の精密な立体構造が不明であったためにその詳細は明らかではありませんでした。今回、兵庫県立大学大学院生命理学研究科の柴田直樹准教授（理化学研究所客員研究員（研究当時））と岡山大学の虎谷哲夫名誉教授を中心とした共同研究グループは、アデノシル B<sub>12</sub> 酵素ジオールデヒドラターゼおよびエタノールアミンアンモニアリアーゼについて、アデノシル B<sub>12</sub> との複合体の原子レベルでの精密な立体構造を、大型放射光施設・SPRING-8 を利用して解析しました。その結果、アデノシル B<sub>12</sub> の核であるコリン環のアミド側鎖の 1 つが周囲のアミノ酸残基と連携し、アデノシル B<sub>12</sub> が活性化されて生成したアデノシルラジカルの構造を安定に保つことで副反応を起こりにくくする働きがあることを世界で初めて明らかにしました。

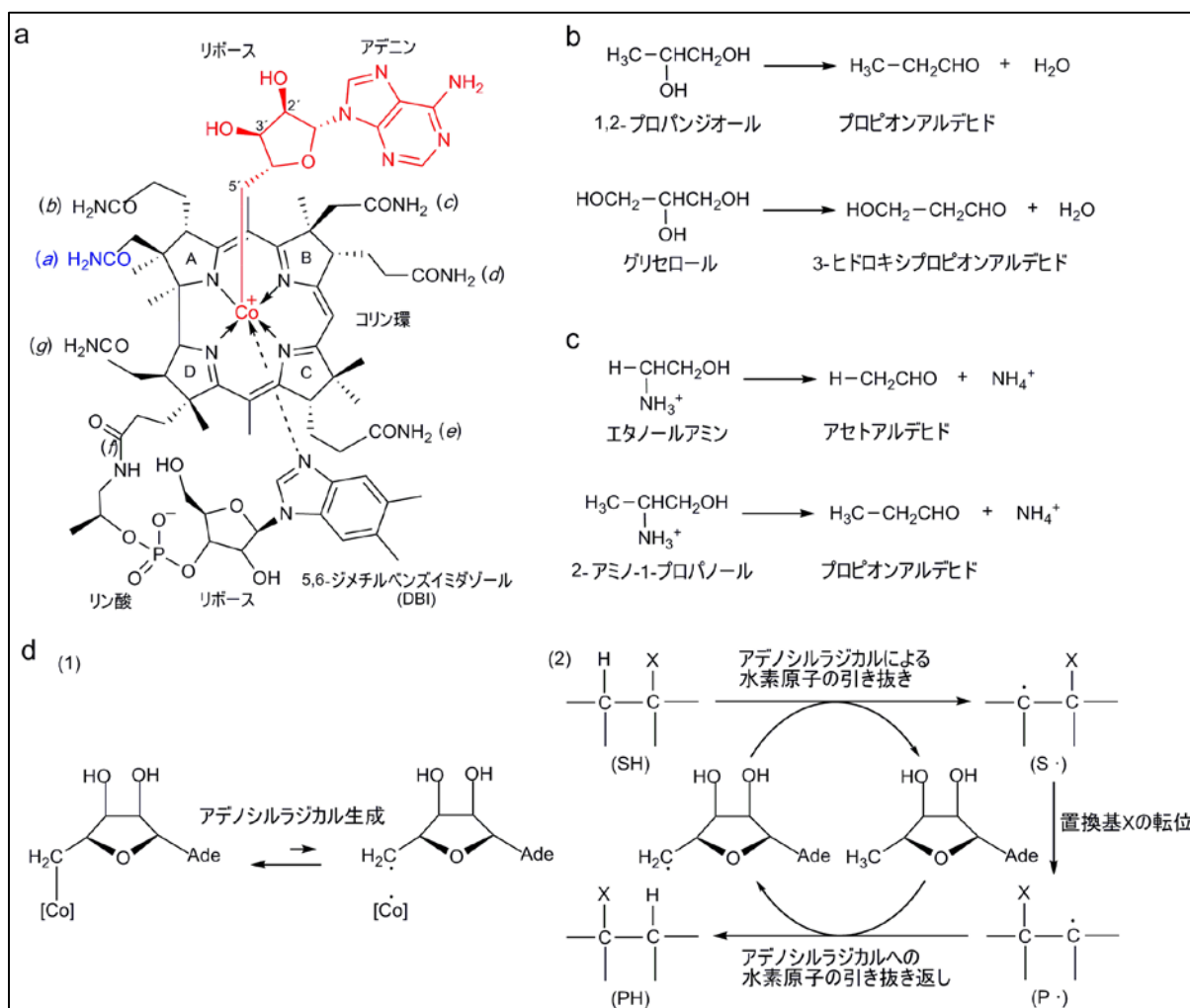
今後、アデノシル B<sub>12</sub> やその周囲に存在するアミノ酸残基の役割をより詳しく解析することにより、アデノシル B<sub>12</sub> 酵素を利用した有用物質の生産をより効率的に行えるようになる可能性があります。特に、ジオールデヒドラターゼはバイオディーゼル燃料の製造過程で発生する副生成物グリセロールから、丈夫さと高い伸縮性や肌触りの良さを併せもつ衣料用繊維ポリトリメチレンテレフタレートの原料である 1,3-プロパンジオールの生産への利用が期待されます。

## 1. 研究の背景

ビタミン B<sub>12</sub> はサプリメントや目薬の成分としてなじみのある栄養素の 1 つですが、体内ではアデノシル B<sub>12</sub> やメチル B<sub>12</sub> に変換され、補酵素として酵素反応に関わります (図 1)。アデノシル B<sub>12</sub> はラジカルという高い反応性を有する超活性種を発生し、化学的に困難な反応を行います。一般にラジカル反応は制御が難しく、副反応によってラジカルが消失したり、本来の生成物とは異なる物質が生じたりしやすいという欠点があります。アデノシル B<sub>12</sub> 酵素にはそのような副反応を起りにくくする仕組みがあると考えられてきましたが、これまでアデノシル B<sub>12</sub> が酵素内部に結合した状態での精密な立体構造が明らかではなかったためにその詳細はよくわかりませんでした。

一方、ビタミン B<sub>12</sub> にはその核となるコリン環にアミド基を有する側鎖が 7 つ存在しています (側鎖 (a)~(g)) (図 1)。それらのうち、ヌクレオチドが結合した側鎖(f)以外の 6 つのアミド側鎖は、これまで酵素の内部に取り込まれて結合するための錨のように働いているとしか考えられていませんでした。いわばマイナーな脇役として陰から酵素反応を支えているような役割です。

図 1. アデノシル B<sub>12</sub> の構造とアデノシル B<sub>12</sub> 酵素が触媒する反応



a: アデノシル B<sub>12</sub> の構造

(a)~(g) はアミド側鎖 (青色は側鎖 (a))、赤はアデノシル基、コバルト (III)、コバルト-炭素共有結合を表す。

b: ジオールデヒドラターゼが触媒する反応

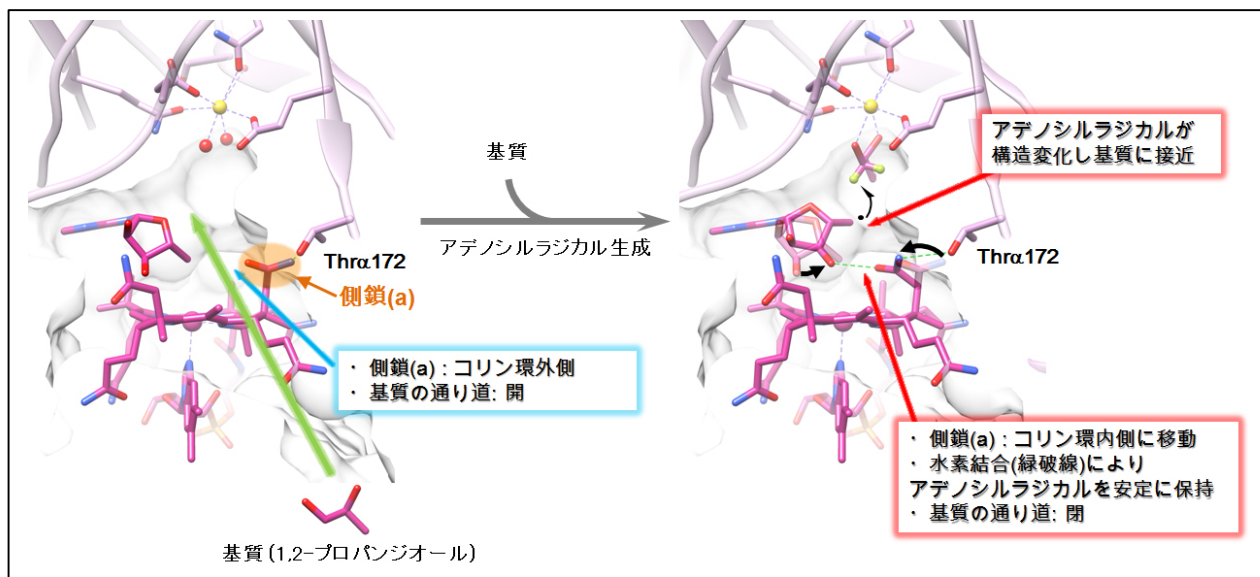
c: エタノールアミンアンモニアリアーゼが触媒する反応

d: アデノシル B<sub>12</sub> による触媒反応の概略

## 2. 研究内容と成果

今回、アデノシル B<sub>12</sub> 酵素ジオールデヒドラターゼとエタノールアミンアンモニアリアーゼについて、アデノシル B<sub>12</sub> との複合体の精密な X 線結晶構造（立体構造）を大型放射光施設・SPring-8 を利用することで決定しました。その結果、触媒反応を受ける基質の有無に応じて、アミド側鎖の 1 つである側鎖 (a) がアデノシルラジカルの動きと連携しながら構造変化することを見出しました（図 2）。活性部位に基質が存在しない場合、側鎖 (a) は周囲のアミノ酸残基と水素結合することでコリン環の外側を向いています。基質が結合するとコリン環の内側に移動し、アデノシル B<sub>12</sub> が活性化されて生成したアデノシルラジカル（図 1）の構造を安定に保つように直接的に働きかけます。また、側鎖 (a) は基質の通り道を開閉する役割があり、コリン環の外側に存在する場合は基質が活性部位に入ることが出来るように通り道が開いた状態になっているのに対し、基質が活性部位に結合すると閉じた状態になり、正常なラジカル反応を妨害する恐れのある物質が外部から侵入するのを防ぐと考えられます。このように側鎖 (a) はマイナーな存在ではなく主役級の役割を果たしていることが分かりました。

図 2. アデノシル B<sub>12</sub> のアデノシル基（アデノシルラジカル）と側鎖 (a) の構造変化



(左) 側鎖 (a) は基質が存在しない場合ではコリン環の外側に存在し、基質の通り道を開いた状態に保つ。この時、アデノシル基はコバルトイオン側（下方）を向いている。

(右) 基質が活性部位に結合すると、アデノシルラジカルが基質に接近する。側鎖 (a) はこれと同期してコリン環の内側に移動し、隣接するアミノ酸残基 (Thra172) と連携して、基質に接近したアデノシルラジカルの構造を安定に保つ働きを担う。同時に基質の通り道が閉じた状態となり、外部から反応を妨害する物質が侵入することを防ぐ。

## 3. この研究の社会的意義と今後の展望

ジオールデヒドラターゼはグリセロールとも反応し 3-ヒドロキシプロピオンアルデヒドを生成します。これを還元すると、丈夫さと高い伸縮性や肌触りの良さを併せもつ衣料用繊維ポリトリメチレンテレフタレート原料である 1,3-プロパンジオールとなります。一方、グリセロールは植物油からバイオディーゼル燃料を製造する際に副生成物として大量に生成するため、その有効利用が求められています。今回の研究で、これらのアデノシル B<sub>12</sub> 酵素には側鎖 (a) と周囲のアミノ酸残基が連携して副反応を防ぐ仕組みがあることが世界で初めて発見されました。このような仕組みを理解することで天然の酵素よりも副反応による失活が起きにくい酵素を設計し、より効率的にグリセロールから 1,3-プロパンジオールを生産できる可能性があります。

#### 4. 論文情報

掲載誌：Angewandte Chemie International Edition (ドイツ化学会誌国際版)

DOI: 10.1002/anie.201803591

題名：Direct Participation of a Peripheral Side Chain of a Corrin Ring in Coenzyme B<sub>12</sub> Catalysis

著者：Naoki Shibata, Yui Sueyoshi, Yoshiki Higuchi, Tetsuo Toraya

#### 5. 問い合わせ先

兵庫県立大学大学院生命理学研究科 准教授 柴田直樹

電話：0791-58-0178

岡山大学 名誉教授 虎谷哲夫

#### 6. 機関窓口

兵庫県立大学播磨理学キャンパス経営部 次長兼総務課長 中谷忠彦

TEL: 0791-58-0101, FAX:0791-58-0131

岡山大学 総務・企画部 広報・情報戦略室

TEL: 086-251-7292, FAX: 086-251-7294

理化学研究所 広報室 報道担当

TEL: 048-467-9272、FAX: 048-462-4715

#### 【用語解説】

##### アデノシル B<sub>12</sub>

ビタミン B<sub>12</sub> の生体内における活性型の 1 つで、アデノシルコバラミンとも呼ばれる。B<sub>12</sub> 類にはコリン環と呼ばれるヘムに似たテトラピロール様骨格が含まれ、その中心にコバルトイオンが結合している。コリン環の外周には 7 つのアミド側鎖 (側鎖 (a)~(g)) が存在する。これらのうち、側鎖 (f) にはコバルトイオンに配位した 5,6-ジメチルベンズイミダゾール基を含むヌクレオチドが連結している。アデノシル B<sub>12</sub> はリボ核酸 (RNA) の構成要素の 1 つであるアデノシンに良く似たアデノシル基が含まれる。アデノシル基にはリボースという糖が存在し、その 5' 炭素原子がコバルトイオンに結合する (コバルト-炭素共有結合)。アデノシル B<sub>12</sub> が活性化されるとコバルト-炭素共有結合が開裂し、アデノシルラジカルが発生するが、ラジカルはリボースの 5' 炭素原子に存在する。

##### ジオールデヒドラターゼ

アデノシル B<sub>12</sub> が活性化されて発生したアデノシルラジカルを利用して、1,2-プロパンジオールの 2 位の水酸基 (-OH) を 1 位に転位させた後、脱水反応が起こりプロピオンアルデヒドを生成する酵素である。グリセロールやエチレングリコールとも良く反応し、前者は 3-ヒドロキシプロピオンアルデヒド、後者はアセトアルデヒドを生成する。類似酵素にアデノシル B<sub>12</sub> 依存グリセロールデヒドラターゼがある。

##### エタノールアミンアンモニアリアーゼ

ジオールデヒドラターゼと類似の反応を触媒するが、2-アミノエタノールを基質としてアミノ基 (-NH<sub>2</sub>) の転位・脱離反応によってアセトアルデヒドが生成する。2-アミノ-1-プロパノールとも反応し、その場

合、生成物はプロピオンアルデヒドとなる。

## ラジカル

通常、原子や分子中の電子は 2 つずつペアになって同じ軌道に存在するが、光や熱などのエネルギー吸収をきっかけに電子が移動したり、結合が開裂したりすることによって同一軌道に電子が 1 つとなる（不対電子）状態を指す。一般にラジカルは反応性が高い反面、不安定で反応の制御が難しいという特徴がある。

## ポリトリメチレンテレフタレート (PTT)

ポリエステル的一种で、飲料などのボトルの材料としてなじみの深いポリエチレンテレフタレート (PET) に似ているが、PET の原料の 1 つであるエチレングリコールの代わりに 1,3-プロパンジオールを利用して生産される。PTT を衣料用繊維として利用すると、PET に比べて丈夫さと高い伸縮性や肌触りの良さに優れた製品が得られる。

## 1,3-プロパンジオール

グリセロールの中央 (2 位) に位置する水酸基 (-OH) が水素原子に置き換わったものに相当する。ジオールデヒドラターゼやグリセロールデヒドラターゼは、グリセロールから 3-ヒドロキシプロピオンアルデヒドを生成するが、これを還元すると 1,3-プロパンジオールが得られる。

## 大型放射光施設 SPring-8

兵庫県にある大型共同利用施設。光速にほぼ等しい速度まで加速された電子が、磁石などによってその進行方向を変えられた時に細く強力な電磁波を発生し、これを放射光という。電子のエネルギーが高く、進行方向の変化が大きいほど、X線などの短い波長を含むようになる。