

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	In silico 解析によるキノノイドジヒドロプテリジン還元酵素の基質結合様式と反応機構の解析
Title(English)	
著者(和文)	河野はるか
Author(English)	Haruka Kono
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12615号, 授与年月日:2023年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:一瀬 宏,林 宣宏,北尾 彰朗,清尾 康志,関嶋 政和
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12615号, Conferred date:2023/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

## 論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	河野 はるか	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	一瀬 宏	教授	関嶋 政和	准教授
	審査員	林 宣宏	教授		
		北尾 彰朗	教授		
清尾 康志		教授			

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「*In silico* 解析によるキノノイドジヒドロプテリジン還元酵素の基質結合様式と反応機構の解析」と題し、不安定なキノノイド型ジヒドロピオプテリン (*q*BH2) を基質とするキノノイドジヒドロプテリジン還元酵素 (QDPR) について、*in silico* 解析を利用して酵素-基質複合体の解析を行った結果について述べており、6章より構成されている。

第一章「序論」では、テトラヒドロピオプテリン (BH4)がモノアミン系神経伝達物質の生合成を担う芳香族アミノ酸水酸化酵素の補酵素であり、反応により生じる *q*BH2 を再び BH4 に還元するリサイクル経路を QDPR が担っていることについて説明している。short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) ファミリーに属する QDPR に関するこれまでの酵素化学/構造生物学的知見を概説してから、本研究の目的を述べている。

第二章「本研究で用いた主な手法」では、本研究で主に用いた手法であるドッキングシミュレーション、分子動力学 (MD) シミュレーション、量子力学シミュレーションの3種類について、それらの基盤理論や本研究における各手法の位置づけ、計算手法の概要や使用したツールおよびパラメータ等について述べている。

第三章「QDPR-NADH-*q*BH2 複合体の結合様式解析」では、初めにドッキングシミュレーションを行い、ヒト QDPR (hQDPR)-NADH 複合体構造の取得を試みたことを述べている。この際、レセプター分子である hQDPR-NADH 複合体については、結晶構造 (PDB ID: 1HDR) 由来そのものを用いた場合結合領域が狭く、基質である *q*BH2 が結合できなかつたため、induced-fit docking と MD シミュレーションを組み合わせたレセプター分子の構造最適化を行うといった工夫をしている。構造最適化後のレセプター分子と *q*BH2 のドッキングシミュレーションにより、基質のプテリン環上のカルボニル酸素である O4 原子と側鎖の配向によって異なる4種類の結合様式に分類可能なドッキングポーズを取得している。続いて、MD シミュレーションと重原子レベルのコンタクト頻度解析を組み合わせることで、最も妥当な結合様式を推定している。また、基質結合領域における cavity に着目し、*q*BH2 よりもかさ高い側鎖を持つキノノイドジヒドロ葉酸 (*q*DHF) に対する hQDPR の還元活性が認められたことから、推定した結合様式が妥当であると述べている。

第四章「酵素-基質相互作用・反応機構解析」では、本研究から明らかとなった hQDPR が有するユニークな性質について述べている。まず、コンタクト頻度解析から明らかになった性質として、他の SDR ファミリー酵素では活性部位モチーフを構成する Lys 残基は基質と直接の相互作用をしないにも関わらず、hQDPR においては対応する K153 の末端アミノカチオンが基質の O4 および N3 原子と高頻度で相互作用していることを明らかにしている。また、hQDPR-NADH の MD シミュレーションを行い、基質結合時と Distance Matrix の比較を行ったところ、substrate-binding loop よりも N 末端側に位置するループ領域が特に大きく構造変化を起し、基質結合に伴う closed コンフォメーション形成に寄与していることを述べている。

第五章「QDPR と葉酸代謝」では、上述の解析から *q*DHF が QDPR の生理学的基質になり得る可能性について述べ、QDPR と葉酸代謝の関連がより明確になったと述べている。また、ジヒドロ葉酸還元酵素と QDPR が構造化学的に全く異なる性質を有しているにも関わらず、同様の代謝経路を担っているという興味深い性質についても述べている。

第六章「結論」では、各章で得られた結果について総括し、本研究により得られた知見が BH4 代謝異常を伴う疾患メカニズムの解明や創薬応用などにつながるという展望を述べている。

以上を要するに、本論文はこれまで解析が困難であった QDPR の酵素-基質複合体について分子シミュレーションを活用した解析を行い、基質結合様式および同一ファミリーの酵素群ではみられないユニークな相互作用やコンフォメーション変化について明らかにしたものであり理学的に貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があると認められる。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。