

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	アルコール脱水素酵素の基質特異性および立体選択性の制御および機構解明
Title(English)	Control and Mechanism Elucidation of Alcohol Dehydrogenase ' s Substrate Specificity and Enantioselectivity
著者(和文)	クスマアフィファ アユ
Author(English)	Afifa Ayu Koesoema
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11483号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:松田 知子,中村 聡,福居 俊昭,和地 正明,上野 隆史
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11483号, Conferred date:2020/3/26, 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

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	AFIFA AYU KOESOEMA	
論文審査 審査員		氏名	職名		
	主査	松田 知子	准教授	上野 隆史	教授
	審査員	中村 聡	教授		
		福居 俊昭	教授		
		和地 正明	教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Control and Mechanism Elucidation of Alcohol Dehydrogenase's Substrate Specificity and Enantioselectivity」と題し、英語で書かれ、6章より構成されている。

第一章「Introduction」では、酵素を有機合成反応の触媒として用いる反応について述べている。特に、生体触媒としてアルコール脱水素酵素を利用するケトンの不斉還元反応について詳しく説明し、酵素の構造、反応機構、基質特異性、立体選択性、変異体酵素の利用について概説している。*Geotrichum candidum* NBRC 4597 由来の Acetophenone reductase (*GcAPRD*) の有機合成の触媒としての有用性について説明し、本研究の目的と意義について述べている。

第二章「Enantioselective reduction by *GcAPRD* wild type」では、野生型 *GcAPRD* による還元反応について述べている。Acetophenone 誘導体, tetralone 誘導体, 脂肪族ケトンなどの幅広いケトンを基質として用いる反応を検討している。その結果、非常に高い立体選択性で対応する *S* 体のアルコールが得られる事を見出している。例えば、3-hexanone (ethyl propyl ketone) の還元反応では、>99% ee の対応する *S* 体のアルコールを得ている。つまり、本酵素は Ethyl 基と Propyl 基を区別する能力を有することが示されている。

第三章「Engineering of *GcAPRD* by rational design」では、*GcAPRD* の変異体による還元反応について述べている。Acetophenone 誘導体, tetralone 誘導体, 脂肪族ケトンなどを基質として用いる反応を検討している。1箇所のみのアミノ酸 (Trp288) の変異によって、自然界に多数存在する *S* 体合成酵素を、*R* 体のアルコールを合成できる希少価値の高い酵素へと改変している。本酵素の立体選択性の逆転現象は、butyl 基や pentyl 基を持つケトンを用いる時に特異的に起こる事を見出している。つまり、1箇所の変異により作り出した特殊な基質結合部位には、butyl 基および pentyl 基のみが結合することを見出している。このような基質結合部位は他には報告されておらず非常に稀であると述べている。さらに、より難しい嵩高い脂肪族ケトンを基質とする反応にも成功している。例えば、*GcAPRD* Trp288Val により 4-octanone (propyl butyl ketone) を還元し、87% ee の対応する *R* 体のアルコールを得ている。つまり、本酵素は Propyl 基と butyl 基を区別する能力を有することが示されている。

第四章「Mechanism elucidation of *GcAPRD* by structural analysis and docking」では、X線結晶構造解析により野生型 *GcAPRD* の構造を明らかにしている。さらに、基質と酵素の Docking シミュレーションにより、野生型や変異型 *GcAPRD* の広い基質特異性および高い立体選択性の発現機構を明らかにしている。本酵素は、全体的には既知の酵素と近い構造をしているものの、基質結合部位の Trp288 の方向が特異的であり、高い立体選択性に寄与している事を見出している。野生型 *GcAPRD* の高い立体選択性の発現機構を明らかにするために、結晶構造と種々の基質との Docking シミュレーションが行われ、Trp288 と基質との相互作用が pro-*S* binding pose を安定化していると考察している。さらに、変異体 *GcAPRD* の高い立体選択性の発現機構を明らかにするために、モデル構造が作成され、種々の基質との Docking シミュレーションが行われ、野生型では Trp288 の後にあり隠れていた Gly94 と基質との相互作用が、pro-*R* binding pose を安定化していると考察している。

第五章「General conclusion」では、本研究の結果を総括し、今後の展望について述べている。

第六章「Experimental Section」では、本研究の実験方法について述べている。

以上を要するに、本論文はアルコール脱水素酵素の基質特異性および立体選択性の制御に成功し、その機構を明らかにしたものであり、工学上ならびに工業上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。