

2023 年度年次報告書
植物分子の機能と制御
2021 年度採択研究代表者

佐藤 玄

山梨大学 大学院総合研究部
特任助教

計算化学を用いたテルペン環化酵素と酸化酵素の反応機構解析と機能改変

研究成果の概要

本年度は、前年度に引き続きテルペン環化反応の解析に取り組んだ。

1. Variexenol B 生合成の解析

テルペンの環化反応には多数のカルボカチオン中間体が関与する。いくつかの生合成経路では、これらのカルボカチオンは π 軌道との空間的相互作用によって安定化される。サチベン、サタレン、ベルガモテン、オフィオボリン、マンジコールなどのいくつかのテルペン/テルペノイドは、環化反応に関与しないプレニル側鎖を持っている。これらのプレニル側鎖の役割は部分的に調査されているが、環化カスケードにおいては未だに解明されていない。

本研究では、Dickschat とその共同研究者によって最近報告された iso-GGPP から合成された variexenol B に焦点を当て、DFT 計算を用いてプレニル側鎖との空間的相互作用の可能性を精査した。我々の計算は、(i)不安定な二次カルボカチオンがプレニル側鎖からのカチオン- π 相互作用によって安定化され、これにより活性化エネルギーが低下すること、(ii)四員環の形成がエキソメチレンからのブリッジングによって完了すること、(iii)エキソメチレンからの環化が障壁なしに進行することを示した。

2. Rosetta を用いた TaTC6 のドッキングシミュレーション手法の検討

テルペン環化酵素の設計を行うことを目的とし、タンパク質モデリングソフト Rosetta のパラメータの最適化に取り組んだ。今回は、trichobrasilenol 合成酵素 TaTC6 という酵素を対象とし、DFT 計算により得られた中間体を用いてドッキングシミュレーションを実施した。

まず初めに、各中間体のコンフォメーションライブラリーを spartan を用いて作成した。その後、TaTC6 の共結晶の構造を用いて Rosetta を用いたドッキングシミュレーションを実施したが、良い結果が得られなかった。そこで、MD 計算を用いて TaTC6 の結晶構造の最適化を行った。MD 計算の結果得られたタンパク質の構造を用いてドッキングシミュレーションを実施したところ、良い結果が得られた。また、trichobrasilenol 生合成は、8 つの中間体を経由して反応が進むが、6 番目の中間体で酵素との親和性が大きく低下することが今回の計算で示唆された。

今年度の研究成果から、Rosetta を用いたシミュレーションには、酵素の結晶構造をそのまま用いるのではなく、MD 計算で最適化した構造を用いた方が良いことが示唆された。また、Rosetta を用いたドッキングシミュレーションのパラメータの最適化も行うことができた。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Nakano, M.; Gemma, R.; Sato, H. Unraveling the Role of Prenyl Side-Chain Interactions in Stabilizing the Secondary Carbocation in the Biosynthesis of Variexenol B. *Beilstein J. Org. Chem.* **2023**, *19*, 1503–1510.
- 2) Sato, H.; Hashishin, T.; Kanazawa, J.; Miyamoto, K.; Uchiyama, M. DFT Study of a Missing Piece in Brasilane-Type Structure Biosynthesis: An Unusual Skeletal Rearrangement. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (47), 19830–19834.