

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 STANFIELD Joshua Kyle

**Characterisation and Crystallisation of CYP102 Family Enzymes:** New Function for Decoy Molecules in Protein Crystallisation to Explore Model Compounds of Transient Species in the P450 Catalytic Cycle

(CYP102 酵素群の特性評価及び結晶化 : P450 の触媒回路に於ける遷移状態の解明に向けた、擬似基質の蛋白質結晶化への新規応用手法の創生)

### 論文審査担当者

主 査 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士(工学) 荘司 長三

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士(理学) 唯 美津木

委 員 理化学研究所 専任研究員 博士(理学) 杉本 宏

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

申請者は、CYP102 酵素群に属する P450BM3 (CYP102A1) に結合し、非天然基質の水酸化反応を促進する「擬似基質」の応用範囲拡大を目指して様々な擬似基質を設計・合成・評価し、P450BM3 以外の CYP102 酵素の CYP102A5 と CYP102A7 による擬似基質存在下での非天然基質の水酸化に成功した。また、同じ CYP102 酵素群であっても酵素ごとに最適な擬似基質が異なることを見出した。さらに、P450BM3 以外では達成されていなかった CYP102 酵素群の結晶構造解析を CYP102A5 によって達成し、基質結合部位の特定にも成功している。

新規擬似基質の開発においては、擬似基質を結合した P450BM3 の構造解明によって、その効率的な設計が可能になるが、擬似基質ごとに蛋白質の結晶化条件が異なる為、結晶構造解析に多大な時間と労力を要するだけでなく、必ずしも良質な結晶が得られるわけではなかった。申請者は、新規合成した擬似基質を検討する過程で、P450BM3 の結晶化を大きく促進する植物ホルモン由来の擬似基質である *N*-Abietoyl-L-tryptophan (AbiATrp) を発見し、P450BM3 の共結晶を種結晶として利用した新規結晶作成法を開発した。これにより、従来困難であった擬似基質との共結晶や、P450BM3 変体の結晶化を達成した。この新規結晶化法を利用し、酸化活性種の類似構造を解析することで、P450BM3 の触媒回路における動的变化を結晶構造に基づき考察することが可能となった。従来困難であった様々な P450BM3 の結晶構造解析にも成功し、その構造学的観点からの理解を大幅に推進することに貢献した。

CYP102 酵素群による非天然基質の高効率な水酸化を可能とする新規擬似基質の分子設計に関する本研究での取り組みにより、擬似基質の結合や酸化活性種の生成に伴う活性部位の構造変化を考慮した真の酵素反応場設計が可能になった。これらの研究成果により、CYP102 酵素群を用いるバイオ触媒開発が飛躍的に進展するものと期待する。

以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。