

## HIV-1 逆転写酵素における酵素活性についての密度汎関数計算

(筑波大院化) ○倉野尾和広, 守橋健二

## 【序論】

HIV-1 逆転写酵素は HIV-1 が DNA 鎖を伸長する過程で関与する酵素であり、その反応機構を解明することは重要であると考えられる。HIV-1 逆転写酵素は DNA ポリメラーゼの一種であり、その酵素活性は、活性部位に含まれる二つの Mg イオンが重要な役割を演じることが知られている。また、ほぼ全ての DNA ポリメラーゼにおいて活性部位は同一であると知られており、反応機構も同一であると考えられている。

本研究は、HIV-1 逆転写酵素が関与する反応機構と、その際の Mg イオンの働きを量子化学計算により解明することを目的とする。我々は、活性部位構造が類似しており、分子サイズが小さい DNA ポリメラーゼ  $\beta$  [1] (PDB file: 2fmp) を計算対象とした。

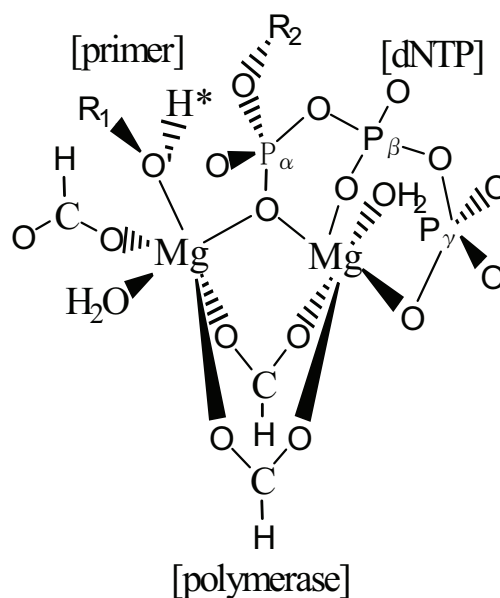
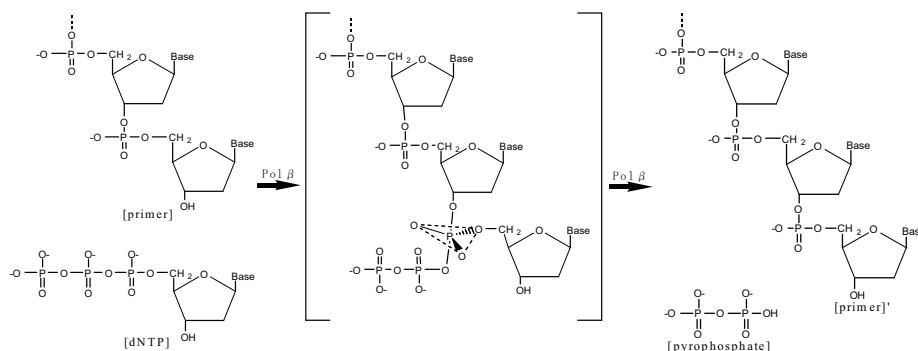


図1 モデル化した反応系



Scheme 1

## 【計算方法】

活性部位を 43 原子のモデルにした簡略型と、66 原子のモデルにした拡張型 (図 1) の二つのモデル反応系を考えた。簡略型では、 $R_1$  と  $R_2$  をメチル基で、拡張型では一つの糖五員環構造で置換している。拡張型においては塩基部位を水素原子で置換した。二つの Mg イオンには、アスパラギン酸をモデル化した三つの  $-COOH$  と二つの水分子が配位している。反応系の全電荷は  $-3$  である。本反応は、図 1 における  $O'H$  のプロトン (\*で示した) の移動が重要になる。これらモデルにてプロトン移動を段階的に考えた反応について初期構造から生成物までの構造を、B3LYP/6-31G(d,p)を用い、それぞれ構造最適化を行った。最適化によって得られた構造を B3LYP/6-31G++(d,p)にて一点エネルギー計算を行い、各構造の相対エネルギーを求めた。また、プログラムには ABINIT-MP を用いた。

## 【結果と考察】

計算の結果、二つのモデル間で求められた中間体構造・相対エネルギーに大きな違いは見られなかった。図3において、拡張型モデルにおける各中間体構造と、B3LYP/6-31++G(d,p)にて求めた、各構造の相対エネルギーを示した。また、反応の際に移動したプロトン ( $H^*$ ) を矢印で示した。初期構造の最適化構造 a はX線で得られた活性部位の Mg 配位結合距離[1]をほぼ再現する構造である。 $H^*\cdots O_{\alpha_2}$ の水素結合を作るように再配向した構造 b でも、X線で得られた活性部位の Mg 配位結合距離をほぼ再現している。その後、 $O'-P_{\alpha}$ 結合が作られた構造 c はリン五配位構造を含んでおり、本反応中で最もエネルギーが高い中間体となっている。

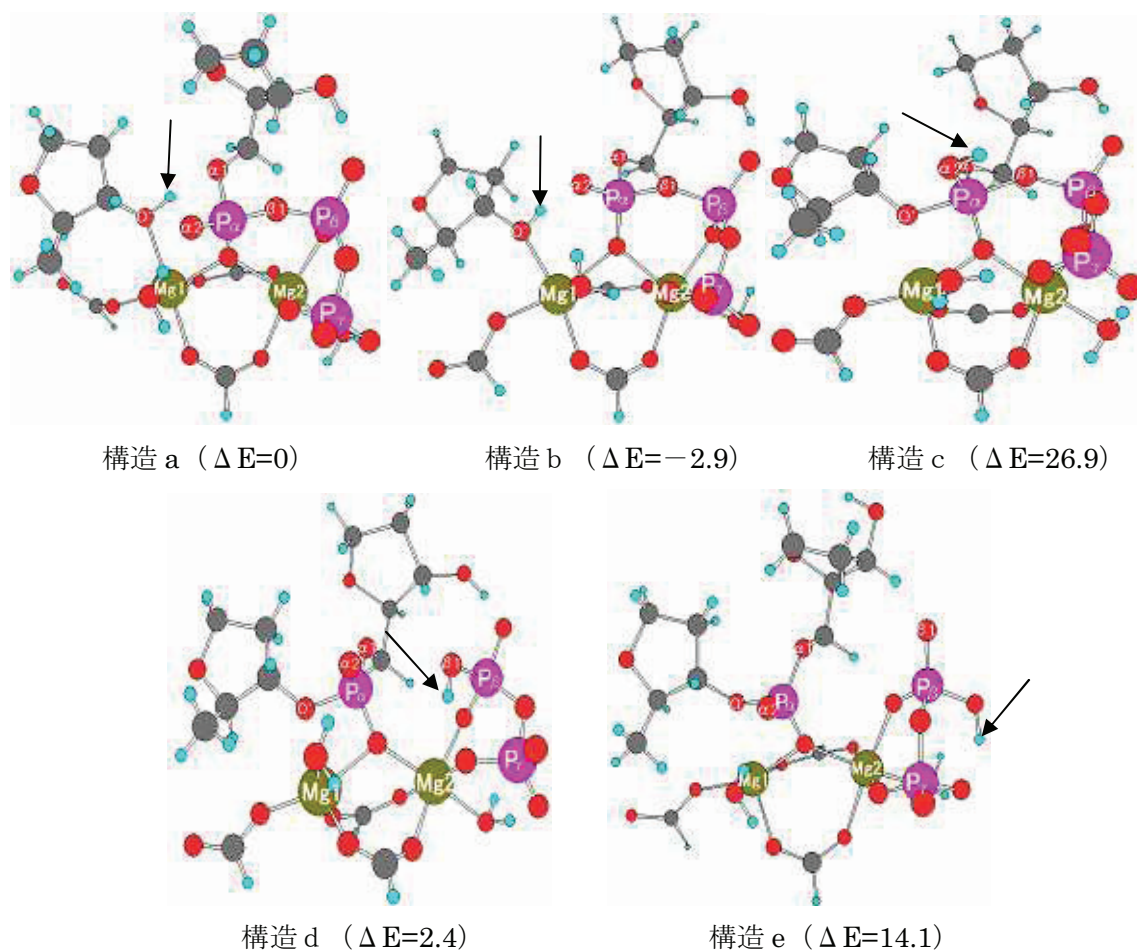


図2 各反応段階の構造と相対エネルギー (kcal/mol)

構造 b と構造 c 間のエネルギー差が 29.8 kcal/mol と最も大きいことからプライマー酸素原子  $O'$  によるリン原子  $P_{\alpha}$  への求核攻撃が律速段階であると考えられる。その際、プライマー酸素原子上の負電荷が強められることで、リン原子  $P_{\alpha}$  への求核攻撃が容易に行われている。よって、Mg イオンは求核攻撃を起しやすくする役割があることが、計算により確かめられた。

本反応における活性化エネルギーは 30 kcal/mol と見積もられ、これは生体内反応としてはエネルギー的に高い。また、構造 e は本反応の最終生成物を含んでいるが、反応物を含んでいる構造 a よりもエネルギーが高い。これらは活性部位の外部環境を取り込んでいないためと考えられる。

## 【参考文献】

- [1] V. K. Batra et al., *Structure*, **14**, 757 (2006).
- [2] M. D. Bojin and T. Schlick, *J.Phys.Chem.B*, **111**, 11244 (2007).