

# 1P080

## 分子動力学法による

### ナイロンオリゴマー分解酵素の分子認識機構の研究

(兵庫県大)○馬場剛史、神谷克政、重田育照、根来誠司

**[序]** ナイロンオリゴマー分解酵素は、触媒中心残基として Ser112, Lys115, および Tyr215 を有する、6-アミノヘキサン酸直鎖状オリゴマーを分解する加水分解酵素である。本酵素は、非天然合成化合物の環境浄化や微生物の環境適応を調べるためのモデル酵素として注目されている。最近の研究として、リジン ε 位 2 量体に対し、本酵素の活性が光学異性体ごとに異なる、つまり光学異性体を識別する (L 体、D 体) ことが示された (Fig. 1)。この光学異性体の認識機構としては、6-アミノヘキサン酸 2 量体 (Ald) 結合型酵素の X 線構造 (PDBID:2ZMA) より、鏡像関係にあるアミノ基と酵素との立体障害に起因すると示唆される (Fig. 2) が、その詳細は未だ不明である。そこで本研究では、Ald、リジン ε 位 2 量体 (L 体、D 体) それぞれに対する酵素—基質複合体の水溶液中における 1 気圧、温度 300K の熱平衡構造を分子動力学法により決定し、酵素—基質間の相互作用を解析することで分子レベルでの基質認識機構の解明をめざした。

**[計算手法]** 本研究は AMBER8 を利用して計算を行った。刻み幅を 2 fs とし、MD 計算を 18ns 行った。温度制御、圧力制御はモデルの大きさから Weak coupling algorithm を採用した。

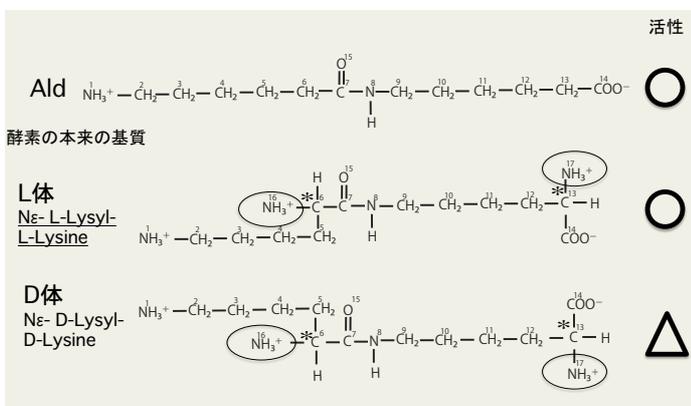


Fig. 1 新規基質リジン ε 位 2 量体

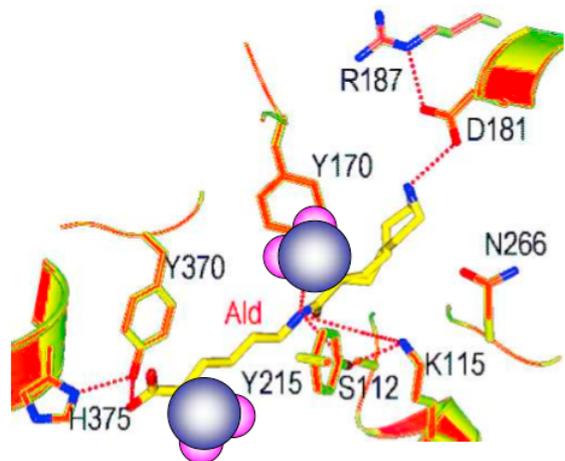


Fig. 2 D 体における触媒中心構造

Force Field は amber 力場を利用した。また、本研究で使用している水素結合は Amber の付属プログラムの ptraj を使用した。なお水素結合の条件としては、水素結合間距離が 3.4Å 以内、結合角が 120° 以上にあるものに対して水素結合を形成しているとみなした。

**[結果と考察]** それぞれ安定な酵素-基質複合体を形成しており、基質結合系の X線構造より示唆されていた立体障害は解消されることがわかった。しかし、基質と酵素の水素結合ネットワークおよび触媒中心である Ser112 の周囲環境において違いが生じることが分かった。水素結合ネットワークでは、L 体の分解において Glu168 が基質のアミドと水素結合し、本来の基質である Ald とは異なることがわかった (Fig. 3)。また、触媒中心環境では、基質リジン ε 位 2 量体特有のアミノ基の配向の違いにより、L 体では触媒中心側に配向していることが分かった。

これらの結果は、酵素活性の有無が酵素-基質複合体の安定性の違いによるものではなく、別の要因であることを示唆している。本研究から、考えられる新たな分子認識機構の要因としては、(1) 基質特有の水素結合ネットワークの変化、(2) 基質で異なる触媒中心 Ser112 の周囲環境の違い、(3) 基質の取り込み過程の 3 つが予想される。

さらに本研究では、計算で得られた結果および予想に基づき、実際に Glu168 を Gln168 に変異させた実験 (Table 1) を行った。その結果、酵素活性が低下し、Glu168 が重要残基であることが実験からも示唆されている。

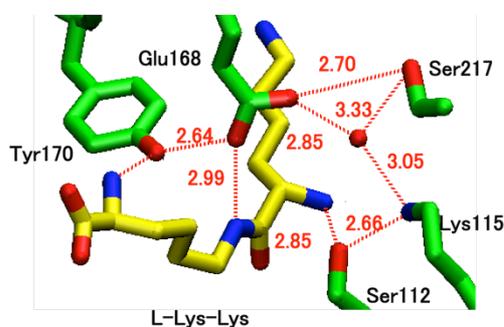


Fig. 3 L 体の MD スナップショット

Table 1 変異体解析データ (詳細はポスター)

	L-Lysyl -p-nitroanilid (U/mg)	Ald (U/mg)
親型	3.27	3.60
変異型	0.69	0.57

**[参考文献]** S. Negoro et al. *J. Mol. Bio.* 370, 142-156 (2007)