

2P122 フラグメント分子軌道法(FMO 法) を用いた、酵素 NylB の
誘導適合過程における残基間相互作用エネルギー変化の統計的解析
(阪大院・基礎工¹、筑大院・数理²、東大・生産技術研³、日大・歯⁴、立教大・理⁵)

○安東寛之¹、馬場剛史¹、重田育照²、渡邊千鶴³、
沖山佳生³、福澤薫^{3,4}、望月祐志^{3,5}、中野雅由¹

Statistical analyses on inter-fragment interaction energy change in the
induced-fit process of NylB by using fragment molecular orbital (FMO) method
(Osaka University¹, University of Tsukuba², the University of Tokyo³, NIHON university⁴,
Rikkyo University⁵) ○Hiroyuki Ando¹, Takeshi Baba¹, Yasuteru Shigeta², Chiduru
Watanabe³, Yoshio Okiyama³, Kaori Fukuzawa⁴, Yuji Mochizuki^{3,5}, Masayoshi Nakano¹

【背景】 ナイロンオリゴマー分解酵素(NylB)は人工化合物であるナイロン2量体(ALT)を基質として分解する環境親和性から、活性向上に向けた研究が盛んになされている。NylBは基質と結合する際に誘導適合を引き起こすことが知られており、最近我々は構造サンプリングを加速するPaCS-MD法によってこの過程の詳細な自由エネルギー地形、および誘導適合の始状態(Open)構造、終状態(Closed)構造、4つの準安定構造を報告した[1]。フラグメント分子軌道法(FMO法)は酵素基質複合体の重要情報である基質-残基間相互作用エネルギーを、通常量子計算に比べ遥かに少ない計算量で求めることができる画期的な手法である[2]。従来、FMO計算はX線結晶や動力学計算の一点構造に対して行われていた。本研究ではFMO法を用いて、自由エネルギーに基づいた多数の構造サンプルを統計的に扱った上で、基質結合において主要なアミノ酸残基が誘導適合過程でどのように相互作用変化しているのかを明らかにした。

【理論・計算】 図1に誘導適合過程の自由エネルギー地形を示す。ここで d_1 、 d_2 はループ-酵素間距離(Glu168-Ser217)、ループ-基質間距離(Tyr170-ALT)を特徴付ける水素結合に関する距離である(図2)[1]。計6個の(準)安定構造に相当する領域内で自由エネルギーが極小となる座標を特定し、そこから ± 0.05 Å以内の範囲にある構造を各領域より5つずつ選択した。その際ループ領域(Tyr166-Val177)、触媒残基であるSer112付近(Leu110-Ser114)のRMSDが近くなるよう配慮した。本研究ではFMO計算としてABINIT-MPプログラム[3]を用い、MP2/6-31G*レベルの計算を行った。統計補正フラグメント間相互作用解析(SCIFE)[4]においては、各官能基効果を詳細に解析するため基質に関しても図3のように三分割した。

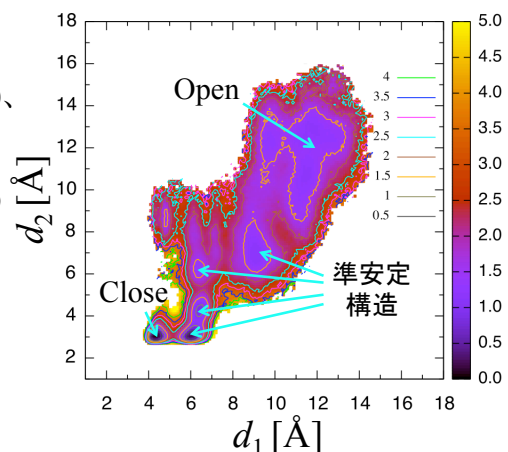


図1 自由エネルギー地形

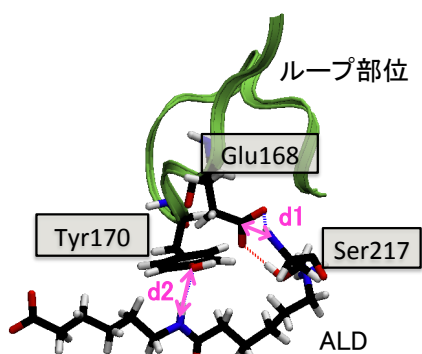


図2 d_1 、 d_2 の定義

【結果・考察】 Closed構造においては、最終的にALDのアミドのNH基とTyr170が水素結合を形成することが、X線結晶構造より明らかとなっている。そこで各(準)安定構造におけるALDとTyr170間の平均相互作用エネルギーとその各官能基の寄与を図4に示す。ここで領域1はOpen構造、領域6はClosed構造を示しており、準安定構造のうち図1においてOpenに近い領域から順に2、3、4、5と定義している。

この結果より、Tyr170はOpen構造(領域1)において基質と2~3 kcal/molほどしか相互作用していないが、誘導適合の過程においてALDと10 kcal/molほど安定化した準安定構造(領域2)を形成することが分かる。この領域においては、ALD(3)の寄与が非常に大きいことから、正電荷を帯びたALDのN末端とTyr170が水素結合を形成したためと考えられる。一方、次の準安定構造では d_1 の減少(Glu168-Ser217が水素結合を形成)に伴い水素結合がはずれることで、Tyr170の安定性が失われる(領域3)。さらに領域4、領域5とも基質-Tyr170は-2~-3 kcal/molほどの相互作用エネルギーを維持し、Closed構造を形成する際(領域6)に再び10 kcal/molほど安定化する。これはALDのアミド水素とTyr170が水素結合を形成したためである。以上のようにTyr170は誘導適合の際に最終構造における水素結合を直接作らず、同程度の安定性がある水素結合をN末端と一旦形成する状態を経由することが判った。つまり誘導適合の初期過程の駆動力は、Tyr170とALD(3)の遠距離のクーロン相互作用であることが推察される。他残基の相互作用変化については当日報告する。

【参考文献】

- [1] T. Baba et al., J. Comput. Chem., **2014** 35 1240-1247
- [2] K. Kitaura et al., Chem. Phys. Lett., **1999** 313 1219-1223
- [3] Y. Mochizuki et al., Chem. Phys. Lett., **2010** 493 346-352
- [4] S. Tanaka et al., Chem. Phys. Lett., **2013** 556 272-277

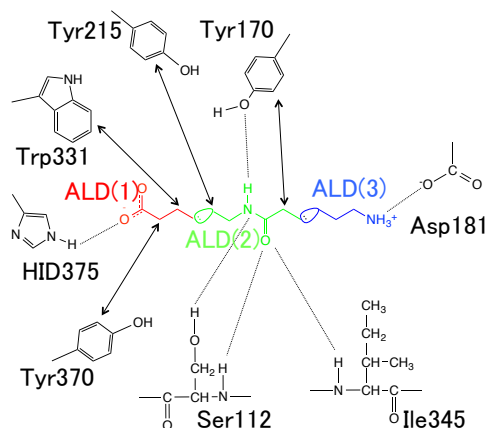


図3 ALDのフラグメント分割

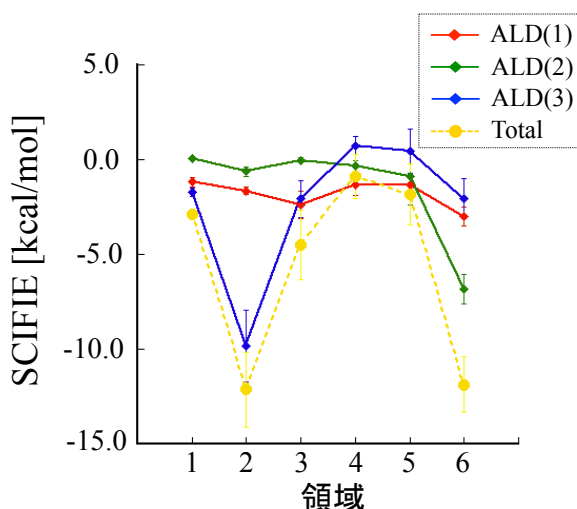


図4 ALD(n)-Tyr170 間の SCIFIE