

自由エネルギー解析に基づく
加水分解酵素による β -lactam 環分解反応の理論的研究

(阪府大院・理¹, RIMED²) ○安藤 寛太¹, 麻田 俊雄^{1,2}, 小関 史朗^{1,2}

Theoretical study of decomposition reaction of β -lactam ring catalyzed by
hydrolase using free energy analysis approach

(Osaka Pref. Univ.¹, RIMED²) ○Kanta Ando¹, Toshio Asada^{1,2}, Shiro Koseki^{1,2}

【序論】加水分解酵素 β -lactamase による抗生物質の分解反応は、細菌の主要な耐性獲得機構の一つであり、医学的な観点から関心が高い。しかしながら、Class C β -lactamase による抗生物質の β -lactam 環分解反応については、反応の進行に主要な役割を果たすアミノ酸残基が特定されておらず、詳細な反応メカニズムが解明されていない。そこで今回、自由エネルギー面上の最適な反応経路の探索および、反応経路上の残基間相互作用の解析により、反応機構を解明することを試みた。一連の自由エネルギー計算には、外場による分子の誘起分極を高い信頼性で高速に計算することが可能な charge and atom dipole response kernel (CDRK)^[1,2]モデルを用いた。

【方法】酵素の溶媒中における自由エネルギー面上の安定構造を探索するために、Free Energy Gradient (FEG)法^[3]を用いた。FEG 法と Quantum Mechanical / Molecular Mechanical (QM/MM)法とを組み合わせることで、QM 領域の FEG は次式から得られる。

$$\frac{\partial A(\mathbf{r}_{\text{QM}})}{\partial \mathbf{r}_{\text{QM}}} = \left\langle \frac{\partial E(\mathbf{r}_{\text{QM}}, \mathbf{r}_{\text{MM}})}{\partial \mathbf{r}_{\text{QM}}} \right\rangle_{\mathbf{r}_{\text{MM}}} \quad (1)$$

ここで A は系の自由エネルギー、 E は系のポテンシャルエネルギーを表す。 $\langle \rangle_{\mathbf{r}_{\text{MM}}}$ は、MM 領域のアンサンブル平均を表す。今回、(1)式から FEG を計算するために必要となる多数の QM 計算を CDRK モデルで近似することにより、FEG を高速に見積もった。

CDRK モデルは、外場の変化による分子の誘起分極を、応答核を用いて求められる誘起電荷と誘起する原子双極子モーメントにより表す。外場に対する電荷応答核(CRK)^[4] χ と、原子双極子モーメントの応答核 ζ ^[1]は次のように定義される。

$$\chi_{ab} = \frac{\partial Q_a}{\partial v(\mathbf{r}_b)} = \frac{\partial^2 \langle \psi | \mathbf{H}_{\text{eff}} | \psi \rangle}{\partial v(\mathbf{r}_a) \partial v(\mathbf{r}_b)}, \quad \zeta_{ra, sb} = \frac{\partial \mu_a^r}{\partial E^s(\mathbf{r}_b)} = - \frac{\partial^2 \langle \psi | \mathbf{H}_{\text{eff}} | \psi \rangle}{\partial E^s(\mathbf{r}_a) \partial E^s(\mathbf{r}_b)} \quad (2)$$

ここで、 a と b は原子のラベル、 Q と μ はそれぞれ原子電荷と原子双極子モーメント、 $v(\mathbf{r}_a)$ と $\mathbf{E}(\mathbf{r}_a)$ はそれぞれ、外部電場により原子 a 上に誘起される静電ポテンシャルと電場である。 $r, s \in x, y, z$ は座標軸方向を表す。QM 領域の原子にかかる力を求めるために、原子電荷と原子双極子モーメントそれぞれの、分子の構造変形に対する応答核 κ ^[5]と γ ^[1]も用いた。

$$\kappa_{a,rb} = \frac{\partial Q_a}{\partial \mathbf{r}_b^r} = \frac{\partial^2 \langle \psi | \mathbf{H}_{\text{eff}} | \psi \rangle}{\partial v(\mathbf{r}_a) \partial \mathbf{r}_b^r}, \quad \gamma_{ra,sb} = \frac{\partial \mu_a^r}{\partial \mathbf{r}_b^s} = -\frac{\partial^2 \langle \psi | \mathbf{H}_{\text{eff}} | \psi \rangle}{\partial \mathbf{E}^r(\mathbf{r}_a) \partial \mathbf{r}_b^s} \quad (3)$$

得られた FEG から, FEG-Nudged Elastic Band (NEB)法^[6]を用いて, 自由エネルギー面上での反応経路の最適化を行った.

自由エネルギー計算には, X 線結晶構造解析により報告されている構造^[7](PDB ID 1KVL)から作成した Class C β -lactamase, 抗生物質セファロチン(CLS), および水分子 11484 個を含むモデル系を用いた^[8]. 酵素の活性中心である Ser64 と CLS 分子の一部を QM 領域とした^[8].

【結果と考察】はじめに, 真空中での反応経路を計算した. 得られた結果を Figure 1 に示す. 汎関数 M06 を用いた場合 MP2 法の結果を良好に再現したため, M06/6-311++G(d)を適用した. R から M1 の段階は基質である CLS による Ser 側鎖の水素引き抜きであり, TS1 が最も高いエネルギーをとることから, これが律速段階であるといえる. M06 で得られた活性化障壁は報告されている実験値^[9]24.0 kcal/mol よりも 3.9 kcal/mol ほど低く見積もられた.

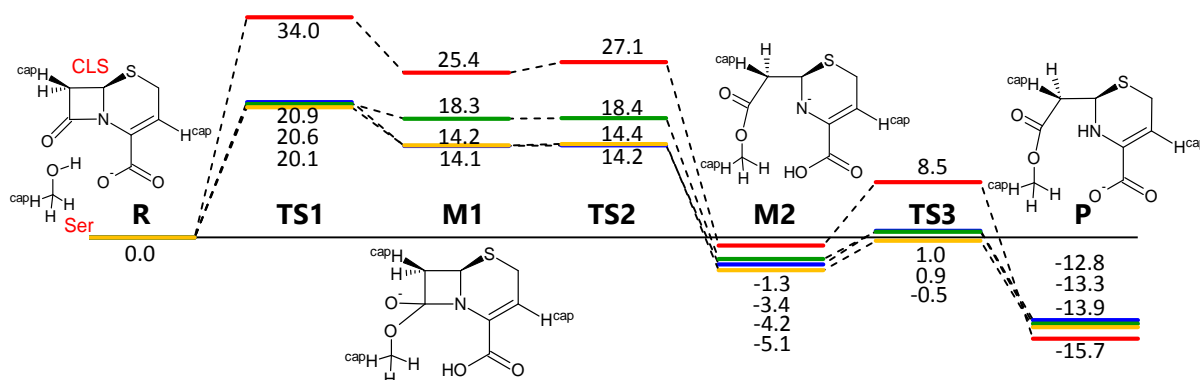


Figure 1. 真空中の反応経路. 赤: HF, 青: MP2, 緑: B3LYP, 橙: M06. 基底関数は 6-311++G(d). H^{cap} は Ser および CLS 分子の cap proton を表す.

次に酵素中の反応を検討するために, CDRK モデルに用いる応答核を作成した. CDRK モデルと, QM/MM 計算とについて, FEG 計算に必要な時間を比較した結果を Table 1 に示す (FEG は 100 ps のアンサンブル平均より計算). CDRK モデルを用いることにより, FEG 計算の大幅な高速化が可能となった. 酵素中の反応機構の解析結果は当日発表する.

method	CDRK construction	FEG evaluation	total
QM/MM	0	146035	146035
QM(CDRK)/MM	660	157	817

- [1] T. Asada, K. Ando, S. Koseki, *AIP Conf. Proc.* **2015**, in press
 [2] T. Asada, K. Ando, K. Sakurai, S. Koseki, and M. Nagaoka, submitted
 [3] M. Nagaoka, N. Okuyama-Yoshida, and T. Yamabe, *J. Phys. Chem. A*, **1998**, *102*, 8202-8208
 [4] A. Morita and S. Kato, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 4021-4032
 [5] Z. Lu and W. Yang, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 89-100
 [6] N. Takenaka, Y. Kitamura, Y. Koyano, T. Asada and M. Nagaoka, *Theo. Chem. Acc.* **2011**, *130*, 215-226
 [7] B. M. Beadle, I. Trehan, P. J. Focia, and B. K. Shoichet, *Structure*, **2002**, *10*, 414-424
 [8] 岡島利幸, 麻田俊雄, 小関史朗, 第 5 回分子科学討論会要旨, **2011**, 講演番号 3P116
 [9] M. Galleni, G. Amicosante, and JM Frere, *Biochem. J.* **1988**, *255*, 123-129