

1F05

グリシンアミドリボヌクレオチド合成酵素の反応機構: 自由エネルギー解析
(千葉工大¹, 電通大²) ○山本 典史¹, 河合 剛太¹, 三瓶 徹一²

Reaction mechanism of glycinamide ribonucleotide synthetase: Free energy analysis
(Chiba Institute of Technology¹, The University of Electro-Communications²)
○Norifumi Yamamoto¹, Gota Kawai¹, Gen-ichi Sampei²

■ 序論

プリンヌクレオチド新生合成系は、ホスホリボシルニリン酸を出発物質として14段階の反応過程を経てアデノシンーリン酸およびグアノシンーリン酸を生成する経路であり、ほとんど全ての生物に共通する。この生合成経路に関わる酵素のいくつかは構造的・機能的にきわめて類似しており、共通する祖先タンパク質から派生したと推測される。そこで我々は、プリンヌクレオチド生合成系を構成する酵素の分子機構を多角的に解析することで、この代謝システムが形成されるに至った進化的な過程の全体像を明らかにすることを目指している。

この代謝システムの第2段階は、グリシンアミドリボヌクレオチド合成過程である。この反応過程を触媒する酵素 PurD は、他のいくつかのプリンヌクレオチド生合成酵素 (PurKやPurT) とスーパーファミリーを構成しており、代謝システムの形成過程を解明する上で基軸的役割を果たす。本研究では量子化学計算に基づき、PurD 酵素の反応機構の理論的解析に取り組んだ。

■ 方法

PurDについて、QM/MM-ONIOM 法に基づき、基質部分をQM、酵素部分をMMとする基質・酵素複合体モデル (図1) を構築した。QM部分は B3LYP/6-31(d,p) 精度、MM部分は Amber 力場で記述した。ストリング法 [1] を用いることで、反応過程の最小エネルギー経路を決定した。最小エネルギー経路に沿った自由エネルギー変化を QM/MM自由エネルギー摂動法 [2] を用いて解析した。

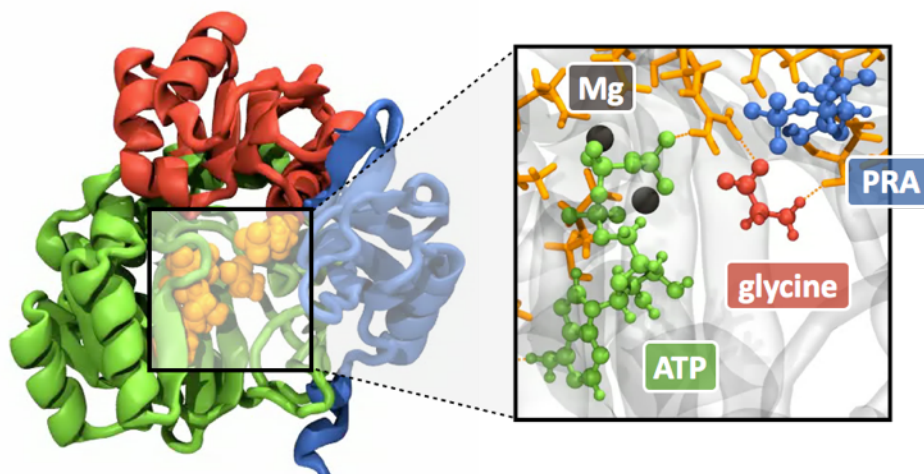


図1. PurD酵素および基質化合物の複合体モデル

■ 結果

PurD中で進行するグリシルリン酸の形成過程について、最小エネルギー経路に沿った自由エネルギー変化を解析した。その結果、図2に示すように、ATPによるグリシンのリン酸化過程は 30 kcal mol^{-1} 程度の活性化エネルギーを伴って進行し、終状態に至るエネルギー変化は -9 kcal mol^{-1} であることが明らかとなった。

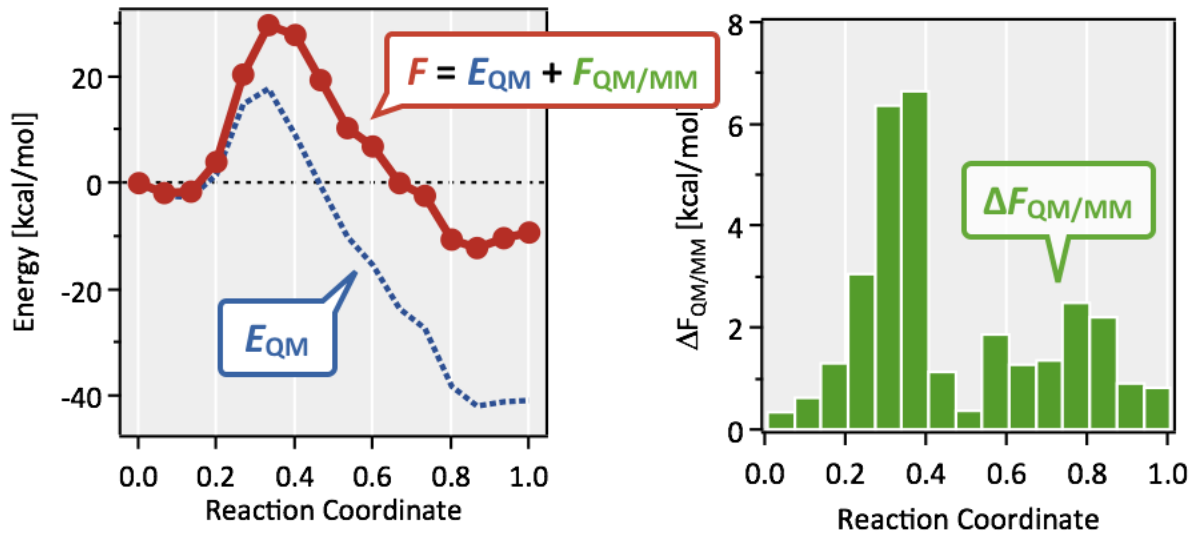


図2. 最小エネルギー経路に沿った自由エネルギー変化

反応過程における基質・酵素間の相互作用のはたらきを明らかにするために、自由エネルギーを各アミノ酸毎に分割して解析を行った。その結果、図3に示すように、基質に隣接する5つのアミノ酸残基が自由エネルギー変化に対して顕著な寄与をもち、それぞれが協調的にはたらくことで反応を触媒する機構が明らかになった。

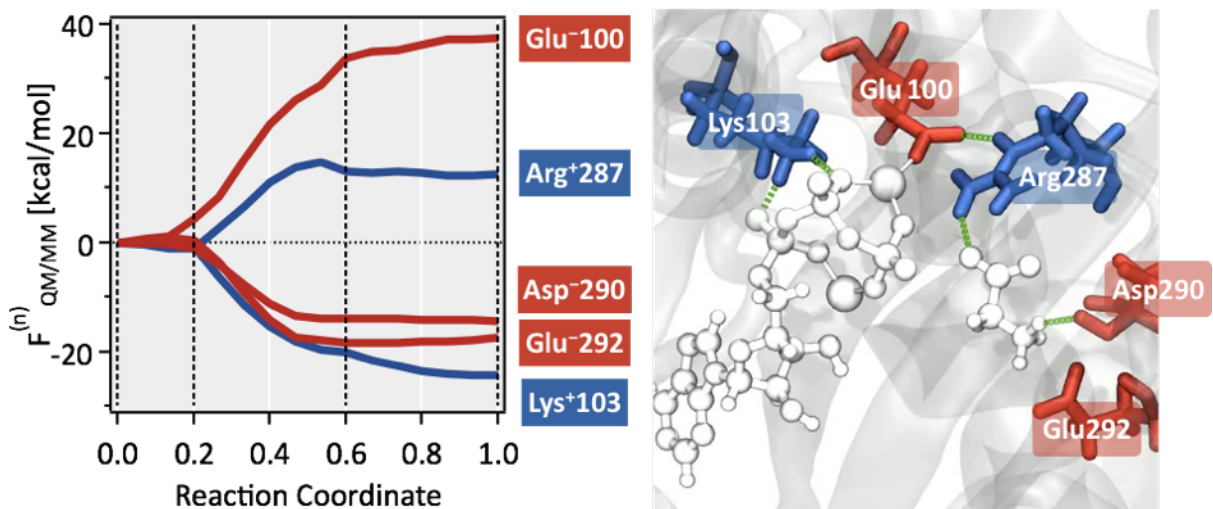


図3. アミノ酸残基毎に分割した自由エネルギー成分の変化

[1] E, W., et al., Phys Rev. B, 66, 052301 (2002)

[2] Zhang, Y., et al., J. Chem. Phys., 112, 3483 (2000)