

多構造マイクロ反復法を用いたオキシドスクアレンシクラーゼの 反応経路解析

¹北大院理,
○鈴木机倫¹, 前田理¹

Reaction mechanisms on oxidosqualene cyclase using multistructural microiteration technique

○Kimichi Suzuki¹, Satoshi Maeda¹

¹ Department of Chemistry, Hokkaido University, Japan

【Abstract】 Recently, we have proposed a multistructural microiteration (MSM) method which is a simple extension of the QM/MM-ONIOM technique. The MSM method allows one to take account of multi-surrounding structures in the reaction path calculations with a reasonable computational cost. In this study, the MSM method has been applied to the reaction mechanism of oxidosqualene cyclase(OSC). We will discuss about the reaction mechanism of OSC and multi-surrounding structural effects along reaction paths.

【序】 オキシドスクアレンシクラーゼ(OSC)は、イソプレン単位の繰り返し構造を持つ鎖状スクアレン化合物を閉環する環化酵素として知られている。また、OSCは生命活動に必須であるステロイドホルモンの前駆体であるラノステロールを効率よく触媒することから実験・理論の双方から反応機構に関する研究がされている[1-3]。X線回折によりOSC構造および触媒機構について報告が行われている。[1] 図1に示すように、Asp455のプロトン移動をトリガーとして、オキシドスクアレン(OS)の2つのメチル基移動と2箇所の水素移動を伴って環化すると考えられている。一方、理論計算からはQM/MM法を用いた反応経路解析が報告されている[2,3]。この報告によると、協奏的にプロトン移動とエポキシ基開環が起こり段階的に閉環とメチル基移動と水素移動することが報告されている。しかしながら、反応物は直鎖状から環化するため反応中心のサイズが大きく変化する。従って、単一の周囲構造を用いた場合、反応中心のサイズ変化を柔軟に扱うことは難しくエネルギーを過大評価する可能性がある。このような場合、周囲の構造揺らぎを考慮するためにQM/MM MD法が用いられる。しかしながら、定量性が向上する一方、各反応経路点でQM計算をサンプリング回数行う必要があり、収束性の低下と計算コストの増大が問題となる。

最近、我々は大規模分子系において低コストで簡便に反応経路解析が可能な多構造マイクロ反復(MSM)法を提案し、種々の酵素反応へと適用している[4,5]。MSM法は、反応経路計算中にMDサンプリングを用いずに複数の周囲構造を考慮することにより反応中心の変化に沿った周囲構造変化を柔軟に記述することが可能である。本研究では、MSM法を用いてOSCの環化反応機構について検討した。

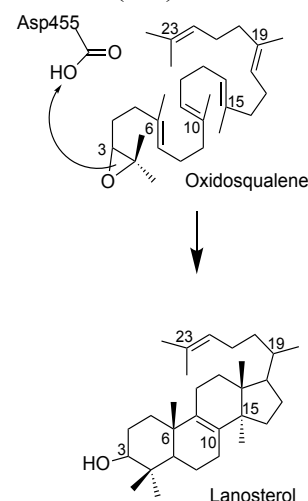


Figure 1. The cyclization hypothesis of OSC.[1]

【理論】MSM 法は、一つの QM 構造に対して複数の周囲構造を考慮する。MSM 法におけるエネルギー表式を以下に示す。

$$E = E^{\text{model-high}} - E^{\text{model-low}} + \sum_{i=1}^N E_i^{\text{real-low}} \frac{\exp[-\beta E_i^{\text{real-low}}]}{\sum_{j=1}^N \exp[-\beta E_j^{\text{real-low}}]}$$

ここで、 N は考慮する周囲構造数を示し予め与えられているものとする。この手法では、 N 個の周囲構造に対して式第 3 項に示す重み付けを行い、最後に式全体を計算する。これにより、QM 計算を増加することなく複数の周囲構造を考慮した最適化が可能となる。

【計算方法】OSC の初期構造は X 線結晶構造を用いた(PDB:1W6K)。X 線結晶構造に水素付加しレプリカ交換 MD を用いて周囲構造を緩和させた。MSM 法の初期周囲構造はレプリカ交換 MD のトラジェクトリからエネルギーが低い 5 つの構造を用いた。反応中心は、図 2 に示す 116 原子を用い、QM と MM 領域の計算レベルはそれぞれ、B3LYP/def2SV および AMBER とした。反応経路探索は、MSM 法を導入した GRRM プログラムを用いた[6]。

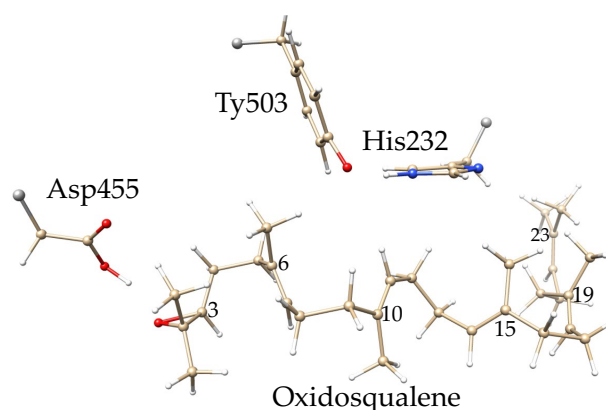


Figure 2. Optimized QM structure at reactant.

【結果】図 3 に単一の周囲構造を用いた従来の QM/MM-ONIOM 法の結果を示す。律速段階は Asp455 から OS へのプロトン移動であり、先行研究と同様の結果が得られた[2]。しかしながら、先行研究ではプロトン移動とエポキシ基の開環は協奏的に起きるのに対して、段階的に起こる結果が得られた。その後、6 員環-6 員環-5 員環の順に段階的に環形成した。環形成後、OS 内の水素移動の障壁が $12.3 \text{ kcal mol}^{-1}$ と二番目に高くなった。二つのメチル基移動は、段階的に進行し、それらの反応障壁は 8.1 と $3.1 \text{ kcal mol}^{-1}$ であることがわかった。複数の周囲構造を用いる MSM 法の詳細および結果については当日発表する。

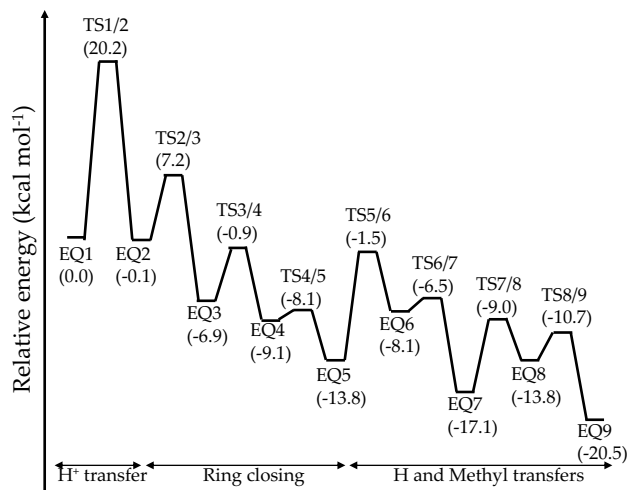


Figure 3. Energy diagram of the cyclization path.

【参考文献】 [1] R. Thoma, T. Schulz-Gasch, B. D'Arcy, J. Benz, J. Aebi, H. Dehmlow, M. Hennig, M. Sthle, and A. Ruf. *Nature*, **432**, 118 (2004). [2] B.-X. Tian and L. A. Eriksson, *J. Phys. Chem. B*, **116**, 13857 (2012). [3] N. Chen, S. Wang, L. Smentek, B. A. Hess, and R. Wu, *Angew. Chemie Int. Ed.* **127**, 8817 (2015). [4] K. Suzuki, K. Morokuma, and S. Maeda, *J. Comput. Chem.* **38**, 2213 (2015). [5] K. Suzuki, M. Maeda, and K. Morokuma, *Submitted*. [6] S. Maeda, Y. Harabuchi, M. Takagi, K. Saita, K. Suzuki, T. Ichino, Y. Sumiya, K. Sugiyama, and Y. Ono, *J. Comput. Chem.* **39**, 233 (2018)