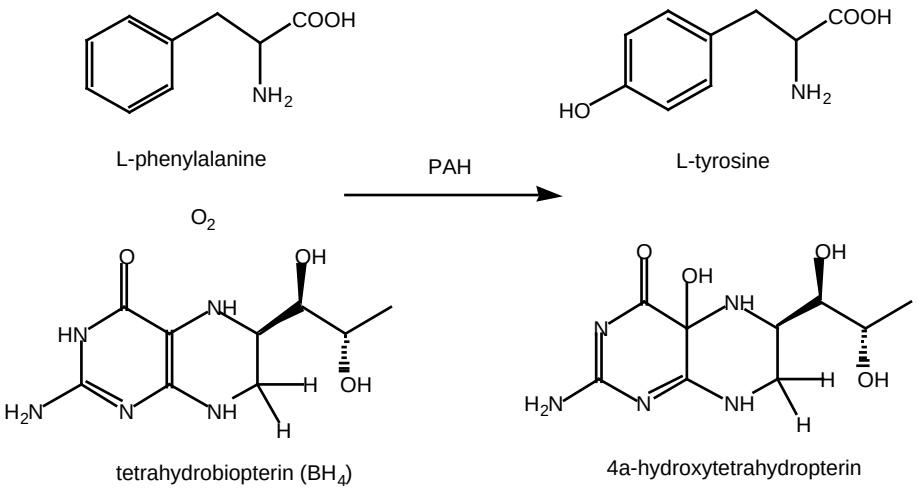
2C08　QM/MM 法によるフェニルアラニンヒドロキシラーゼのノンヘム鉄活性点の理論的研究

(九大先導研) ○塩田淑仁，吉澤一成

【序】 フェニルアラニンヒドロキシラーゼ(PAH)はフェニルアラニンのベンゼン環を水酸化する酵素で、その活性点はノンヘム鉄の単核イオンからなる。酸素分子が酸化剤として、補酵素としてプテリンが関与しているが、その水酸化の反応機構は未だによく分かっていない。そこで本研究では、PAH の金属活性点とフェニルアラニンとの反応性を解析した。我々はいままでに酵素や触媒の活性点をモデル化し、その活性化エネルギーによる考察から具体的な反応機構を提案してきた。今回は QM/MM 法を用いてタンパクの効果を取り込み、PAH の金属活性点だけでなく、約５０００原子の周辺部位を含む精密なモデルで大規模計算を実行したのでその結果について報告する。



【計算方法とモデル】 QM/MM 法は、計算モデルを QM 領域と MM 領域に分割し、中心部分をＱM法、周辺部分を MM 法で計算する方法である。今回は IMOMM 法を用いて、鉄活性点近傍のＱM領域を B3LYP/6-31G*法で、周辺アミノ酸残基の MM 領域を Amber96 法でエネルギー*E*(IMOMM)を評価した。

E(IMOMM) = *E*(QM 領域：B3LYP/6-31G*) + *E*(MM 領域：Amber96) - *E*(QM 領域：Amber96)

計算モデルは図１に示すように、QM領域を鉄原子に直接配位しているものと基質にして、それ以外を MM 領域とした。QM領域の原子数は６２、全体の原子数は 5176 となった。計算モデルはX線結晶構造解析の結果 (PDB ID 1PAH) に、水素原子をつけてを構築した。次に MM 計算により水素原子の位置を安定化させた後、QM/MM 計算を実行した。また、比較のためにQM領域だけでの計算もおこなった。計算プログラムには GAUSSIAN98 と AMBER を用いた。

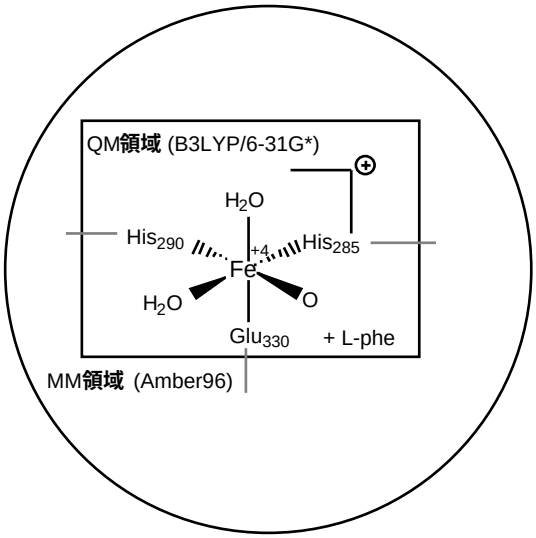


図１　QM/MM法による計算モデル

【結果及び考察】　図２に示すよう、水素原子を直接ベンゼン環から引き抜く経路と酸素原子が求電子的にベンゼン環を攻撃する２種類の反応経路を求めた。その結果、後者の方がエネルギー的に有利な反応経路となった。QM領域だけの計算では、基質であるフェニルアラニンと鉄に配位している水分子が水素結合を生じる。いっぽう、QM/MM 計算では、フェニルアラニンは、そのような水素結合は生じず、周辺アミノ酸残基と相互作用により適切な位置に配位した。このように QM/MM 計算は周辺アミノ酸残基との相互作用を取り込めるため、酵素反応のモデルにおいても有効な解析方法であるといえる。

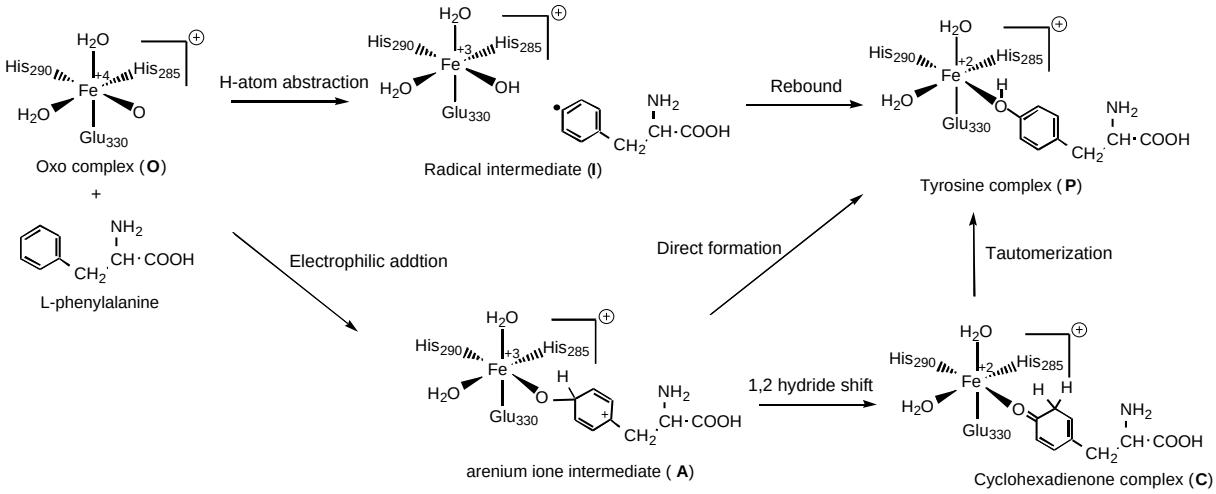


図２　フェニルアラニンの水酸化の反応経路