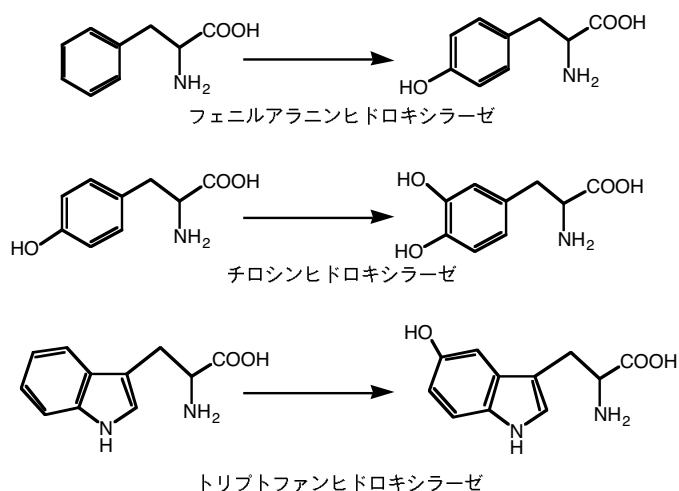


QM/MM 法による芳香族アミノ酸水酸化酵素の 金属活性点に関する理論的研究

(九州大学先導物質化学研究所) ○塩田淑仁、吉澤一成

[序] 芳香族アミノ酸水酸化酵素は、芳香族アミノ酸のベンゼン環を水酸化する酵素であり、基質に対応して、フェニルアラニンヒドロキシラーゼ、チロシンヒドロキシラーゼ、トリプトファンヒドロキシラーゼの3種類がある。これらはノンヘム鉄の単核からなる共通の活性点（2つのヒスチジン、1つのグルタミン、3つの水分子が配位した構造）をもち、酸素分子を酸化剤として、高効率で芳香族アミノ酸を反応させることが知られている。これらの反応はドーパミン、アドレナリンなど神経伝達物質の生合成に不可欠であり、生命活動に重要な役割を果たしている。しかし、そ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、芳香族アミノ酸水酸化酵素の金属活性点とアミノ酸の反応を理論的に解析し、反応経路を決定した。我々はいままでにフェニルアラニンヒドロキシラーゼの活性点をモデル化し、QM/MM法を用いて金属活性点の周辺タンパクの効果を取り込み、金属活性点だけでなく、多数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てきた。今回は他の芳香族アミノ酸水酸化酵素についても検討をおこなったので併せて報告する。



[計算方法] 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。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。

$$E(\text{IMOMM}) = E(\text{QM:B3LYP/6-31G}^*) + E(\text{MM:Amber96}) - E(\text{QM:Amber96})$$

フェニルアラニンヒドロキシラーゼの計算モデルを図1に示す。計算モデルはQM領域を基質と鉄原子に直接配位しているものにして、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に、水素原子をつけて構築した。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。

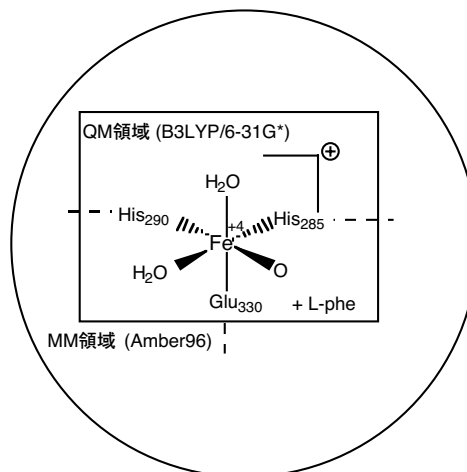


図1 QM/MM法による計算モデル

[結果及び考察] QM領域だけの計算をクラスターモデルで実行し、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。3つ芳香族アミノ酸にいずれにおいても、前者では生じるラジカル中間体はエネルギー的に不安定であるのに対して、後者ではアレニウム型中間体は安定であることが明らかとなった。これらの傾向はQM/MM計算においても同様な結果を得た。その結果、後者の方がエネルギー的に有利な反応経路であることが分かった。実験から、DOPA[C₆H₃(OH)₂-ala]はチロシンヒドロキシラーゼの反応では主成生物であると同時にフェニルアラニンヒドロキシラーゼの反応阻害剤であることが知られている。活性点だけのQM計算ではDOPAは鉄原子に強く結合して解離しにくいことがわかった。予想に反して、チロシンヒドロキシラーゼのQM/MM計算においてもDOPAは鉄原子に強く結合して解離しにくいという結果となった。アレニウム型中間体はフェノール型の生成物とケトン型異性体を生じるので、チロシンヒドロキシラーゼではDOPAのケト異性体の状態で生成物になり、分離してからDOPAになると結論づけられる。類似酵素は基質特異性や阻害剤などの特性は活性の近傍のQM計算では活性点同じ場合には比較できない。しかしQM/MM計算では、周辺アミノ酸残基と相互作用を考慮することによって、酵素の個性を考慮した反応解析に応用することが可能となった。

[参考文献]

- 1) Y. Shiota, K. Yoshizawa, *J. Phys. Chem. B*, 108, 17226 (2004).