

生分解性プラスチック分解酵素の触媒活性についての理論化学的研究

(広島大院・理¹, 広島大・QuLiS², 産総研³, 酒総研⁴)○榮 慶丈^{1,2}, 松原 世明^{1,2}, 相田 美砂子^{1,2}, 近藤 英昌³, 正木 和夫⁴, 家藤 治幸⁴

【序論】地球環境の保護と地球資源の有効利用という視点から、生分解性プラスチックと呼ばれる物質が注目されている。これは、自然界において、微生物が関与し、低分子化合物に分解されるプラスチックのことであり、今後汎用高分子の替わりになる材料の一つとして期待されている。最近、この生分解性プラスチックを強く分解する酵素 (*Cryptococcus* sp. S-2 由来 リパーゼ) が酒類総合研究所の正木らにより発見された。しかしながら、この酵素の触媒反応のメカニズムについてはまだ明らかになっていない。我々は、酵素 (*Cryptococcus* sp. S-2 由来 リパーゼ) による触媒反応機構を明らかにすることを目的として研究をおこなっている。

我々の研究対象とする酵素 (*Cryptococcus* sp. S-2 由来 リパーゼ) は、すでに実験により触媒活性に必要な 3 つのアミノ酸 (Ser85, His180, Asp165) が分かっており、この 3 つのアミノ酸の立体構造配置からセリンプロテアーゼ型の触媒反応機構を持つことが予想される。ただし、セリンプロテアーゼ型の反応機構には、この 3 つのアミノ酸以外にも基質との水素結合により反応をサポートするアミノ酸が存在している。

本研究の対象とする酵素については、これと同じ役割を果たすアミノ酸の存在は知られていない。また、生分解性プラスチックを分解することで知られているこれまでの酵素よりも、なぜ本研究の対象とする酵素が強い活性を示すのかという説明もいまだなされていない。そこで本研究では、まず触媒反応をサポートするアミノ酸を予測し、そのサポートによる反応機構の安定性の効果を、量子化学計算により明らかにする。

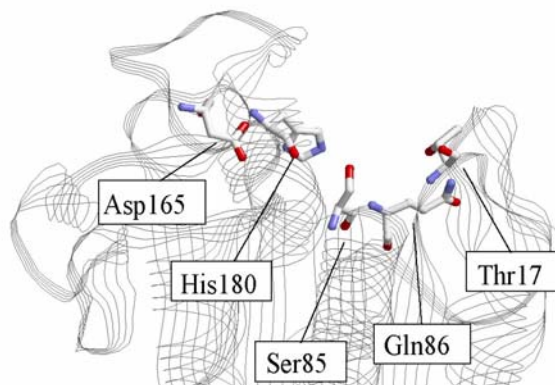


図 1 : 酵素 (*Cryptococcus* sp. S-2 由来 リパーゼ) の活性部位付近の図

【方法】我々は本研究の対象とする酵素 (*Cryptococcus* sp. S-2 由来 リパーゼ) の X 線結晶解析の構造から、触媒活性をサポートすると考えられるアミノ酸 (Thr17, Gln86) を予測した。これらのアミノ酸が、触媒活性にどの程度影響しているのかを調べるため、すでに知られているセリンプロテアーゼの反応機構を元に、図 2 に示すような分子モデルとその反応過程を考えた。このとき、水素結合により反応をサポートするアミノ酸の代わりに水分子を 2 つ配置している。計算手法及び基底関数には MP2/6-31G**//B3LYP/6-31G** (Gaussian03) を用い、各々の安定構造と、遷移状態の構造を求め、エネルギーの値を得た。さらに求めた構造に対し、水分子を 1 つにした場合と、水分子がない場合のエネルギーを求め、これらの比較をおこなった (図 3)。

【結果と考察】 図3より、水分子を2つ含む場合が最も反応が進みやすく、次いで水分子が1つの場合が安定となった。水分子がない場合、すなわちサポートするアミノ酸が存在しない場合には、反応過程の中間状態が安定に存在せず、反応が進まない結果となった。

これらの結果より、酵素

(*Cryptococcus* sp. S-2 由来 リパーゼ) の触媒反応が進むうえで、水素結合によるサポートをするアミノ酸は重要な役割を果たしていると考えられる。

サポート分子 (oxyanion hole)

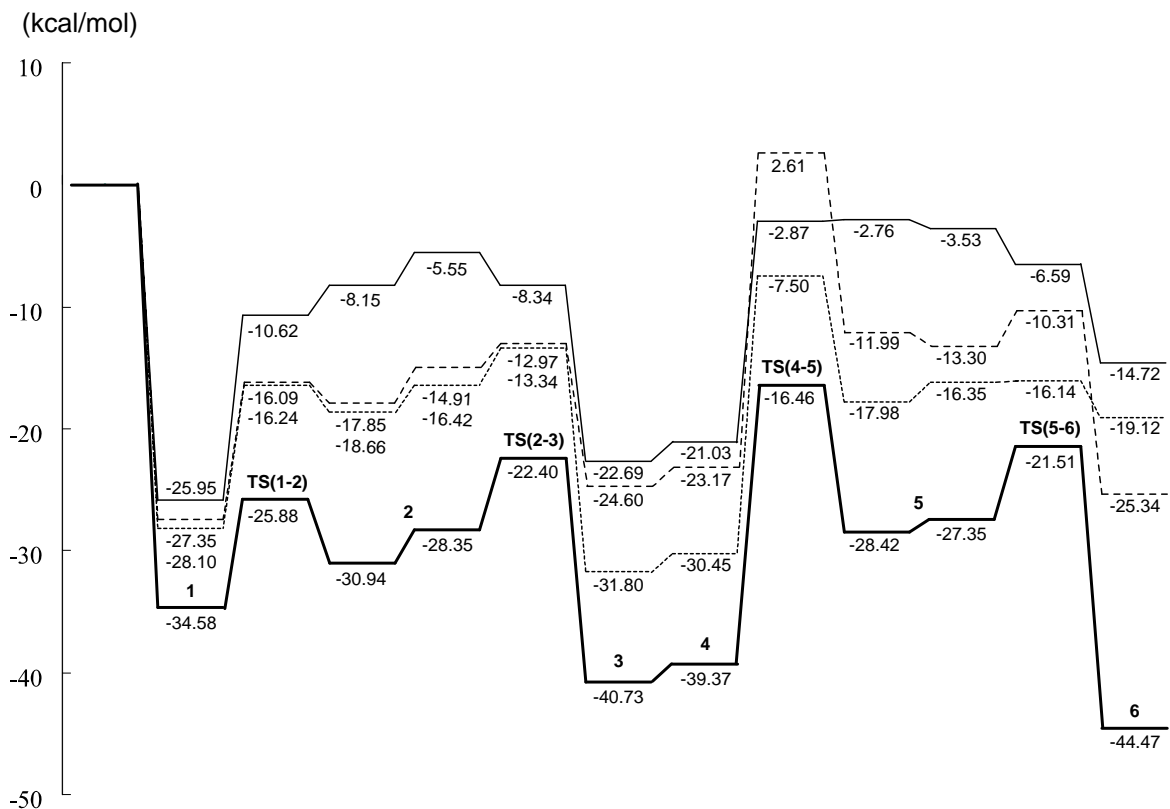
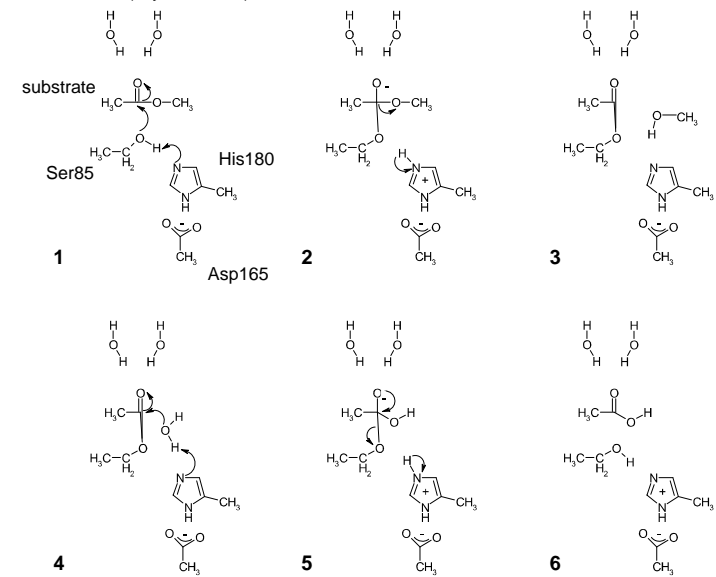


図3：図2の反応機構から求めた各状態のエネルギー値（太線はサポート分子2つを含む場合、破線はサポート分子を1つ含む場合、実線はサポート分子がない場合のエネルギーを示す。）