

分子シミュレーションを用いた 基質を含む酵素活性中心の動的解析Ⅲ

○佐々和洋¹、宇野健²、林治尚³、中野英彦¹

¹兵庫県立大院・工（〒671-2201 兵庫県姫路市書写2167）

²広島県立大・経営（〒727-0023 広島県庄原市七塚町682）

³兵庫県立大・学術総合情報センター（〒671-2201 兵庫県姫路市書写 2167）

【緒言】

従来、物質の安定性や利便性から、ナイロンやビニールなどに代表される非天然型の化合物が大量に使用され、現在、様々な形で環境や生態系への影響を及ぼしている。これら自然には分解が困難な合成繊維の分解および無害化は、重要な研究課題の一つである。酵素による合成繊維の分解を目的とした研究の中で、6-アミノカプロン酸の2量体（6-aminohexanoate-linear-dimer）（Ald）を分解する酵素である Hyb24 と Hyb24DN（Hyb24 の活性中心の内 2 残基を置換）について、Hyb24DN が Hyb24 の約 170 倍の活性を示すことが明らかとなっている。そこで、これら活性の違いがどのような活性中心構造や挙動の相違から起こるのかを調べるため、生体高分子のシミュレーションに適した AMBER ver8.0 を用いて、水溶液中における酵素基質複合体のシミュレーションを行い、酵素や活性部位の挙動についての解析を行った。

【方法】

シミュレーションには AMBER ver.8 を使用し、Force Field には parm94 force field を用いた。モデリングは、AMBER のモジュールの一つである xleap を使用し、X 線結晶構造解析によって得られた目的酵素の PDB ファイルより行った。しかし、基質 Ald は、AMBER のデータベースに登録されていないため、PREP 機能を用いて登録した。また、すべてのシミュレーションにおいて、酵素の周囲に水分子を配置し水溶液環境下とした。分子動力学計算は、AMBER の Sander モジュールを使用し、極小化を行った後、分子動力学計算を実行した。

【結果】

1ns 後における、基質 Ald を含む Hyb24DN の活性部位周辺構造を Figure 1 に示す。シミュレーション時間内において、Ald が活性部位から解離することはなかった。また、活性部位の周囲には多数の水分子の存在が確認された。

さらに、Hyb24DN と Hyb24 において、Ald の N 末端と 181 番目のアミノ酸との距離を比較すると、高活性型である Hyb24DN は Hyb24 に比べ距離の振動が小さく、基質の安定化に寄与しているものと思われる。

また、酵素反応内の中間体と目される構造について、現在、シミュレーションを実行中である。詳細については、当日報告する。

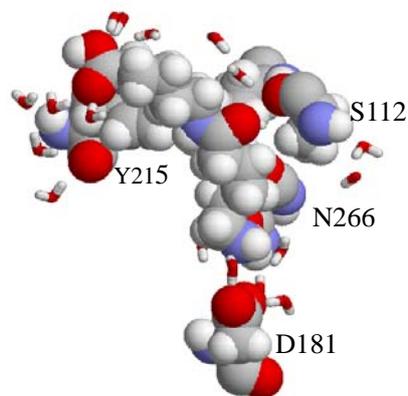


Figure 1. 1ns 後の Ald-Hyb24DN 活性部位構造