

ホタル由来ルシフェラーゼの 不斉判別に関する計算化学的解析

○佐々和洋¹、加藤太一郎²、宇野健³、林治尚⁴、中野英彦²

¹福井高等専門学校・物質工（〒916-8507 福井県鯖江市下司町）

²兵庫県立大院・工（〒671-2280 兵庫県姫路市書写2167）

³広島県立大・経営（〒727-0023 広島県庄原市七塚町682）

⁴兵庫県立大・学術総合情報センター（〒671-2280 兵庫県姫路市書写 2167）

【緒言】

ホタル由来ルシフェラーゼは D-ルシフェリンを基質とした発光反応を触媒することはよく知られているが、最近、同酵素が 2-アリアルプロパン酸に対してチオエステル化反応を起こすことが報告された。しかも、このチオエステル化反応は高い不斉選択性を示すことも明らかにされている。しかし、この不斉識別の機構については明らかになっていない。そこで本研究では、ゲンジボタル由来のルシフェラーゼに不斉炭素を有する基質を導入した酵素-基質複合体を構築し、これに対して分子動力学 (MD) シミュレーションを実行することによって不斉選択性発現機構の解明を試みた。その結果、導入基質の不斉によって、基質の不斉炭素付近にある 2 つのセリン残基の挙動が大きく異なることが明らかになった。

【結果】

酵素全体の構造については、各シミュレーションで大きな構造変化および差異は無く、基質の置換や不斉による影響は僅かなものであることが確認された。次に、酵素内における基質の挙動について調べたところ、全ての基質で酵素内において大きな挙動を示すことなく留まっていた。しかし、基質周辺のアミノ酸残基では、その挙動に大きな違いがみられることが明らかとなった。具体的には Ser200, Ser201 および His247 に着目し比較検討を行った。His247 に関しては、R 体基質の場合のみ基質から遠ざかるようにヒスチジン環が移動していくことが確認された。また、Ser201 に関しては、R 体基質とは強固な水素結合を形成するのに対し、S 体基質とは強い水素結合の形成は見られず、基質と His247 との間で揺らいでいることが明らかとなった。Ser200 に関しては、R 体基質と S 体基質の場合で状態が大きく異なり、R 体基質に対しては徐々に近づいて行き、水素結合を生成し得る距離まで隣接してくるのに対し、S 体基質の場合には水素結合を形成し得ない距離にまで遠ざかっていくことが観察された。

以上の結果から、R 体および S 体における Ser201 と Ser200 の挙動の違いが本酵素が有する不斉選択性を決定づける要因の一つでないかと考えられた。

詳細については、ポスターにて発表する

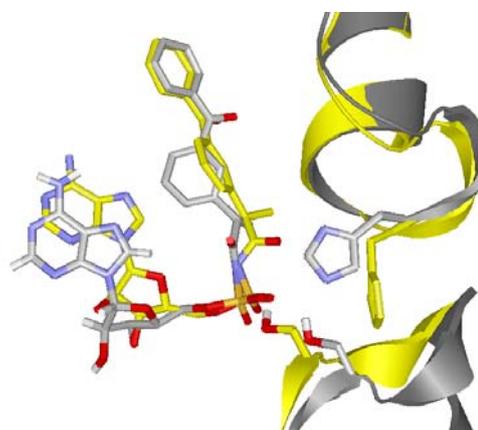


Figure 1. R 体および S 体の重ね合わせ図