1O05 酵素リパーゼの鏡像体選択性に関する大規模生体分子化学計算

○守屋陽輔[1]、矢城陽一朗[1]、今川　敦[2]、木村崇知[2]、亀澤　誠[2]、直島好伸[1]
[1]岡山理科大学大学院総合情報研究科（〒700-0005　岡山県岡山市北区理大町 1-1）
[2]甲南化工株式会社　（〒569-0066　大阪府高槻市中川町 5-21）

【緒言】

我々のグループは、有機合成におけるグリーンイノベーション研究の一環として、酵素リパーゼと基質エステルの複合体に関する生体分子化学計算を行い、[1)] *Candida antarctica lipase* typeB (**CALB**) や *Burkholderia cepacia* lipase (**BCL**) の右手型と左手型分子に対する鏡像体選択性が計算化学シミュレーションによって予測可能であることを示した。[2)] **CALB** と **BCL** の両リパーゼは、(*S*)-体(左手型)よりも(*R*)-体（右手型）を優先的に変換することが有機合成実験で明らかにされているが、特に **BCL** リパーゼについては、芳香族エステルに対しては選択性が高く（*E*- value が大きい）、脂肪族エステルに対しては選択性が低い（*E*-value が小さい）という興味深い結果が得られている。(***Fig.* 1**) 本研究は、これまでの結果を踏まえ、**BCL** リパーゼの芳香族エステルと脂肪族エステルに対する選択性の大きさ（程度）の違いを、分子動力学計算や量子化学計算によるシミュレーション実験で解析し、予測することを目指したものである。

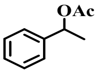
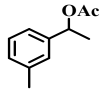
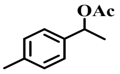
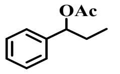
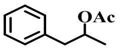
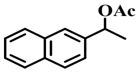
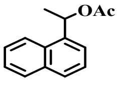
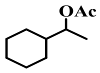
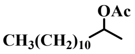
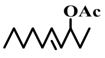
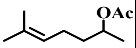
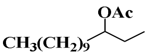
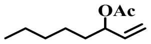
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Substrate Ester						
E-value	*8252*	*4247*	*5859*	*548*	*726*	*5194*
7	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**
						
-	*270*	*12*	*18*	*10*	*5*	*2*

***Fig*.1 *E*-values of BCL toward Substrate Secondary Alcohol Esters 1-13.**

【方法と結果】

BCL リパーゼと基質エステルの複合体構造の構築や分子計算は以下の手順と方法による。
１．PDB から **BCL** の立体構造をダウンロードする。 (1) PDB code：1HQD，アミノ酸残基数：320 。 (2) PDB ファイルを修正した後、構造最適化を行う。(AMBER9)　2. **BCL** と第 2 級アルコール系エステルとの複合体を構築し、エネルギー極小化計算を行う。(AMBER9) (1) 酵素 **BCL** の活性中心のアミノ酸残基 SER 87 の側鎖水酸基の酸素にエステル鏡像体のカルボニル炭素が近づくように調整する。(2) **BCL** とエステル鏡像体との複合体の周囲 8Åに水分子を配置する。3. 分子動力学計算を行う。(AMBER9)　(1) 温度：300K，計算時間：500ps。(2) 酵素 **BCL** の活性中心のアミノ酸 SER 87 の側鎖水酸基の酸素とエステル鏡像体

のカルボニル炭素の距離（C-O 原子間距離）を追跡する。4. フラグメント分子軌道計算を行う。（ABINIT-MP/BioStation） (1) 酵素 **BCL** とエステル鏡像体の結合エネルギーΔE および酵素 **BCL** のアミノ酸残基とエステル鏡像体の相互作用エネルギーΔ(i, j)を算出する。

《分子動力学計算による C-O 原子間距離の追跡》

以前からの研究と同様に、合成実験で優先的に変換されることが分かっている(*R*)-体の方が(*S*)-体より短いことが改めて明らかになった。さらに、**BCL** による鏡像体択性が高い（*E*-value が大きい）芳香族エステル **1** に関する(*R*)-体と(*S*)-体との C-O 原子間距離の差は、**BCL** による選択性が低い（*E*- value が小さい）脂肪族エステル **12** の(*R*)-体と(*S*)-体との C-O 原子間距離の差よりも大きいという計算結果が得られた。

《フラグメント分子軌道（FMO）計算による結合エネルギーと相互作用エネルギー》

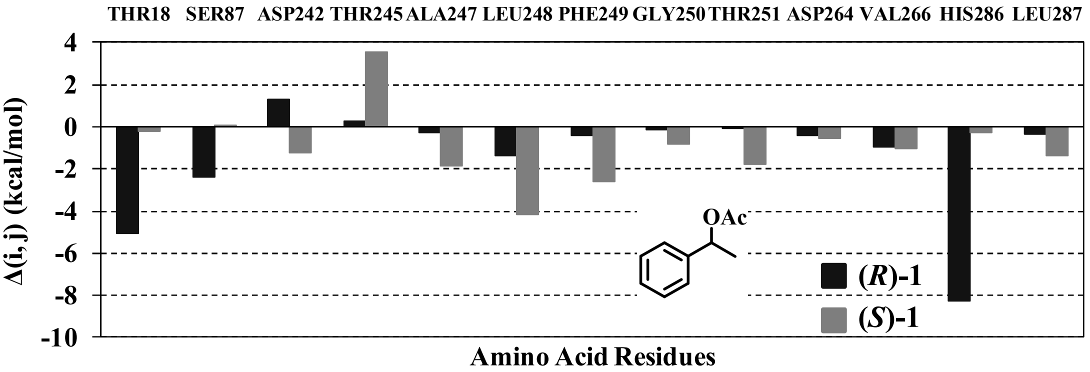


***Fig*.2 Interaction Energies between Amino Residues in BCL and (*R*)- and (*S*)-Esters 1.**

以前と同様、今回の **BCL** リパーゼの結合エネルギー計算（MP2/6-31G）においても、(*R*)-体の結合エネルギーΔE_R の方が(*S*)-体の結合エネルギーΔE_S に比べて負に大きいことが認められた。 また、**BCL** のアミノ酸残基と基質エステル間の相互作用エネルギーを調べたところ、*E*-value の大きい($E > 100$）芳香族エステル **1** の(*R*)-体では、**BCL** における基質や鏡像体の認識に関与していると考えられるアミノ酸残基、THR18、SER87、および HIS286 との強い相互作用が認められた。対する(*S*)-体では、それらのアミノ酸残基との相互作用はかなり弱いか、あるいは殆ど見出せなかった。（***Fig.* 2**）

【まとめ】

分子動力学計算（C-O 原子間距離）や FMO 計算（結合エネルギー）の結果は、BCL リパーゼの鏡像体選択性を確実に予測できることを強く示唆している。さらに、FMO 計算により得られる、相互作用しているアミノ酸残基の種類や相互作用エネルギーのパターンの解析から、BCL リパーゼの鏡像体選択性の大きさ（*E*-value の大小）を比較し、予測できることが期待し得る。[1, 2]

[参考文献]

1) 田中、直島、第 30 回情報化学討論会講演要旨集、59-60 (2007).

2) 今川、守屋、森、木村、矢城、亀澤、直島、第 54 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会講演要旨集、344-346 (2010).