

2P05 有機合成における酵素リパーゼの鏡像体選択性と その機構に関する大規模生体分子シミュレーション

○矢城陽一朗^{1,2}, 木村崇知³, 亀澤 誠³, 直島好伸^{1,2}

¹岡山理科大学自然科学研究所 (〒700-0005 岡山県岡山市北区理大町 1-1)、

²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)

³甲南化工株式会社 (〒569-0066 大阪府高槻市中川町 5-21)

【緒言】

我々は、酵素リパーゼを利用する有機合成研究¹⁾に加え、シミュレーションによって合成基質に対するリパーゼの鏡像体選択性を予測する計算化学研究を進めている。^{2, 3)} 今回、有機合成で多用されている酵素リパーゼである *Burkholderia cepacia* Lipase (BCL) について、12種の第2級(1-12)および8種の第1級(13-20)アルコール系エステル (**Fig.1**) との複合体に対し、分子動力学計算やフラグメント分子軌道 (FMO) 計算などの大規模生体分子シミュレーションにより、BCLの鏡像体選択性とその程度を明確に予測、また、BCLの鏡像体認識に関わる主要なアミノ酸残基を特定できる結果を得た。

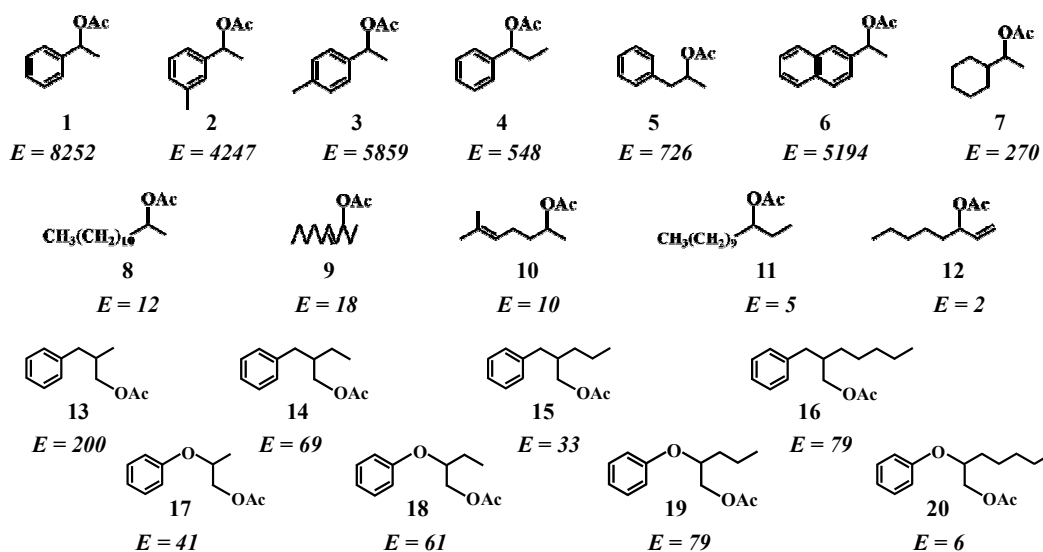


Fig. 1 E values of BCL toward Substrate Secondary Alcohol Esters 1-12 and Primary Alcohol Esters 13-20.

【方法と結果】

AMBERによりBCLと基質エステルの両鏡像体 (*R*-および*S*-体) との複合体構造を構築、調整した後、その周囲8.0Åに水分子を配置してGPGPU計算システムによる2000psの分子動力学計算を行い、基質のカルボニル炭素とBCLの活性中心SER87の側鎖水酸基酸素間のC-O原子間距離 R_{C-O} を追跡した。2000psにおける基質の両鏡像体の R_{C-O} の差 ΔR_{C-O} とE値 (実験的に決められたリパーゼの鏡像体選択性の程度を示す値)⁴⁾を比較したところ、選択性が高い基質 (第2級アルコール系: $E > 150$ 、第1級アルコール系: $E > 60$) では ΔR_{C-O} は約8Å以上であるのに対し、選択性が低い基質 (第2級アルコール系: $E < 20$ 、第1級アルコール系: $E < 40$) では約3Å以下と小さくなっていることが判明した。 (**Fig.2**)

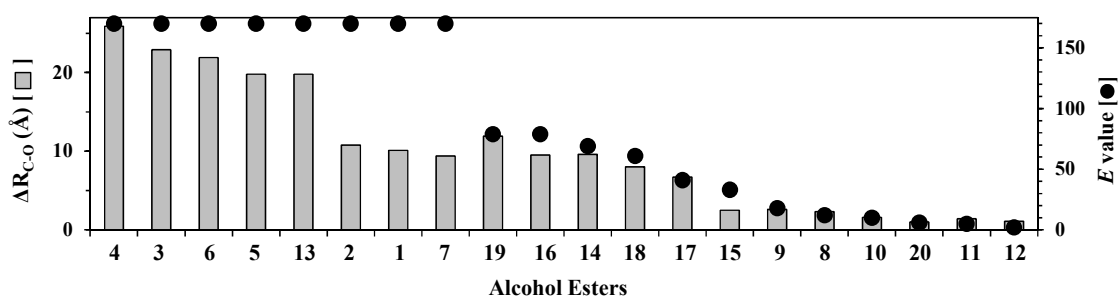


Fig.2 Relationship between ΔR_{C-O} and E values for Secondary and Primary Alcohol Esters.

引き続き、2000psの時点における複合体構造から周囲の水分子を除去し、ABINIT-MP/BioStationによるFMO2-MP2/6-31GレベルでのFMO計算を実行した。得られた基質の両鏡像体とBCLのアミノ酸残基の相互作用エネルギー (IFIE) 解析から、第2級アルコール系エステル1、2、5、6や第1級アルコール系エステル13、16、19のような選択性が高い基質では、優先的に変換される鏡像体(第2級系は(R)-体、第1級系は(S)-体)の全てがBCLのHIS286と強く相互作用していることがわかった。さらに、LEU17、THR18、GLY19、HIS86、ASP264およびLEU287など、基質に応じてそれぞれ特定のアミノ酸残基と比較的強く相互作用していることが判明した。(Fig.3)それに対して変換されにくい鏡像体においては、HIS286を含めた、優先的に変換される鏡像体で観察されたアミノ酸残基との相互作用は非常に弱い、ほとんど認められなかった。一方、選択性が低い基質では、その両鏡像体ともにHIS286を含む同じようなアミノ酸残基と相互作用していることが判明した。

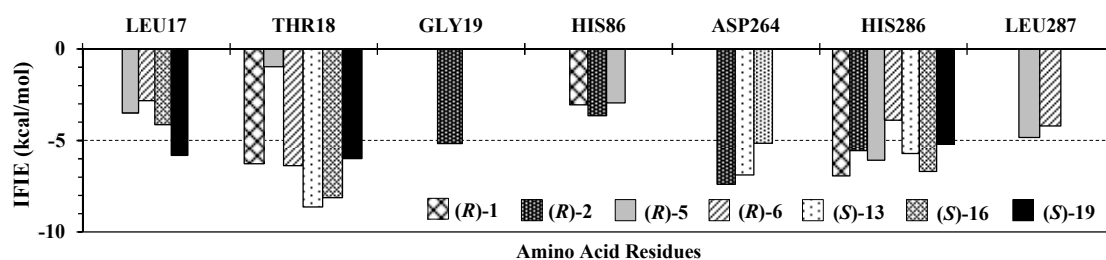


Fig. 3 Inter-Fragment Interaction Energies (IFIEs) between the Selected Amino Acid Residues in BCL and Fast-Reacting Enantiomers of Secondary Alcohol Esters 1, 2, 5, 6, and of Primary Alcohol Esters 13, 16, 19.

【まとめ】

BCLと第2級および第1級アルコール系エステルの複合体に対する分子動力学計算から算出した ΔR_{C-O} と実験から得られた E 値を比較することにより、BCLの鏡像体選択性とその程度を確実に予測できることを示した。さらに、40個の複合体構造のFMO計算によるIFIE解析から、BCLのHIS286が鏡像体の認識における特に重要なアミノ酸残基であることを見出した。

【参考文献・その他】

- 1) Y. Naoshima, M. Kamezawa, T. Kimura, F. Okimoto, M. Watanabe, H. Tachibana, and T. Ohtani, *Recent Res. Devel. Org. Bioorg. Chem.*, **4**, 1-16 (2001).
- 2) 守屋陽輔、矢城陽一郎、今川 敦、木村崇知、亀澤 誠、直島好伸、日本コンピュータ化学会 2011 春季年会&10周年記念シンポジウム講演予稿集, 14-15 (2011).
- 3) 矢城陽一郎、木村崇知、亀澤 誠、直島好伸、第 57 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, 315-317 (2013).
- 4) 第 1 級アルコール系エステルの E 値のデータは、滋賀県立大学の井上吉教准教授から提供を受けた。