

論文内容要旨

報告 番号	甲 創 第 16 号	氏 名	馬島 彬
学位論文題目	分子科学計算を用いた自由エネルギー変化の線形表現による酵素触媒反応の研究：Trypsin の Michaelis-Menten 複合体形成および速度論的過程の詳細解析		
<p>内容要旨</p> <p>本研究では、新薬開発で数々の実績がある定量的構造活性相関 (Quantitative Structure-Activity Relationship; QSAR) に、分子科学計算・シミュレーションを活用した新規 QSAR 解析 (Linear Expression by Representative Energy terms (LERE)-QSAR 解析) を結合後の化学反応を伴う基質-タンパク質系に対して初めて適用し、酵素 trypsin の酵素触媒反応の Michaelis-Menten 複合体 (酵素-基質 (Enzyme-Substrate: ES) 複合体) 形成過程および速度論的過程のそれぞれにおける分子間相互作用を原子・電子レベルで定量的に解析し、酵素触媒反応メカニズムに対する原子・電子レベルでの詳細な知見を得ることを目的とした。</p> <p>まず、trypsin と基質である一連の <i>para</i>-substituted hippuric acid phenyl ester (HPE) (Compounds 1-8) との触媒反応の acylation 過程における構造および自由エネルギー変化のプロファイルを解析し、反応の律速段階を決定するとともに、LERE-QSAR 解析によって Michaelis-Menten 複合体形成過程および速度論的過程のそれぞれにおける実測の自由エネルギー変化の変動の再現を試みた。さらに、速度論的過程に関して、アミノ酸残基単位の解析および古典 QSAR の記述子との相関解析を行った。</p> <p>古典力学-量子化学 hybrid 法によって、trypsin-Compound 4 (X = H) 複合体の acylation 過程におけるエネルギーダイアグラムを構築した結果、TS₁ (ES 複合体と四面体中間体 (TET₁) の間の遷移状態) が形成される過程が律速段階であり、この結果は計算条件にほとんど影響されないことを確認した。また、本解析の acylation 過程における catalytic triad (His57, Asp102, Ser195) の proton 移動は、いわゆる double proton transfer (DPT) 仮説や low barrier hydrogen bond (LBHB) 仮説に則するものではなく、single proton transfer (SPT) の挙動に従うことを確認した。これは全化合物でも同じであった。次に、trypsin-Compounds (1-8) 複合体に対する LERE-QSAR 解析を行った結果、Michaelis-Menten 複合体および TS₁ 形成に伴う自由エネルギー変化 (ΔG_{ES} および $\Delta G_{TS_1}^{\ddagger}$) の実測値を、高い化学的精度 (0.134, 0.162 kcal/mol) で良好に再現することができ、$\Delta G_{TS_1}^{\ddagger}$ のエネルギー支配項が活性化エネルギー ($E_{TS_1}^{\ddagger}$) であることを特定した。LERE-QSAR 解析に用いた trypsin-Compound 4 (X = H) 複合体に対して非経験的フラグメント分子軌道法による電子的な相互作用エネルギーの各アミノ酸残基への分割解析を行った結果、基質への安定化の寄与は His57 および Ser195 が顕著であった。Hartree-Fock (HF) 法に対する新たな分散力補正法 (HF-D_{1q} 法) を用い、分散相互作用エネルギーを各アミノ酸残基に分割し、電子的な相互作用エネルギーに加えた場合も同様に安定化の寄与はこの二つの残基に局在していることを示した。古典 QSAR 式で用いられた Hammett σ^- は、trypsin-Compounds (1-8) 複合体の反応中心の原子間距離、結合次数および原子電荷と良好な相関があり、置換基効果と酵素触媒反応メカニズムの関係を定量的に明らかにした。</p> <p>以上より、本研究では分子科学計算・シミュレーションを活用した新規 QSAR 解析である LERE-QSAR 解析によって、trypsin (酵素)-<i>para</i>-substituted HPE (基質) 間の触媒反応における Michaelis-Menten 複合体形成過程および速度論的過程それぞれの結合自由エネルギー変化の変動を原子・電子レベルで解析し、その反応メカニズムの新たな知見を得ることができた。したがって、LERE-QSAR 解析は酵素触媒反応を理解するための新たな論理的方法論となると期待できる。</p>			