

## 酵素リパーゼの鏡像体選択性の予測に関する 生体分子化学計算

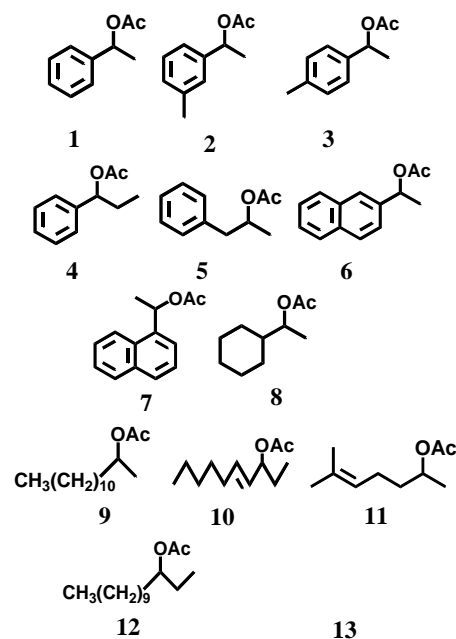
○謝敷宗利<sup>1</sup>、森 義裕<sup>1</sup>、今川 敦<sup>1,2</sup>、矢城陽一朗<sup>1</sup>、  
木村崇知<sup>2</sup>、亀澤 誠<sup>2</sup>、直島好伸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡山理科大学総合情報学部（〒700-0005 岡山県岡山市北区理大町 1-1）

<sup>2</sup>甲南化工株式会社（〒569-0066 大阪府高槻市中川町 5-21）

### [緒言]

我々の研究グループでは、以前より、環境的にも優れた生体触媒の一つである酵素リパーゼを用いて、非天然型有機化合物の鏡像体選択的変換や生物活性物質の不斉合成を行うと共に、その結果に基づいて、基質分子に対するリパーゼの鏡像体選択性や反応性を経験的に分類し、予測してきた。[1-3] 最近、その研究の一環として、分子化学計算シミュレーションの手法を用い、合成化学的に有用なリパーゼ触媒の鏡像体選択性を非経験的に予測するための研究を推進している。[4-7] 本研究では、有機合成で広く用いられている酵素リパーゼ、*Burkholderia cepacia* Lipase (BCL)、と芳香族および脂肪族を含む第 2 級アルコール系エステル分子 (**Fig. 1**) との酵素-基質複合体 (酵素反応の第一段階で形成) について分子動力学法やフラグメント分子軌道法などによる生体分子化学計算を行い、[5,6] コンピュータシミュレーションによるリパーゼの鏡像体選択性の予測の可能性に関し、興味深い知見を得た。



**Fig. 1** Substrate Secondary Alcohol Esters 1-13.

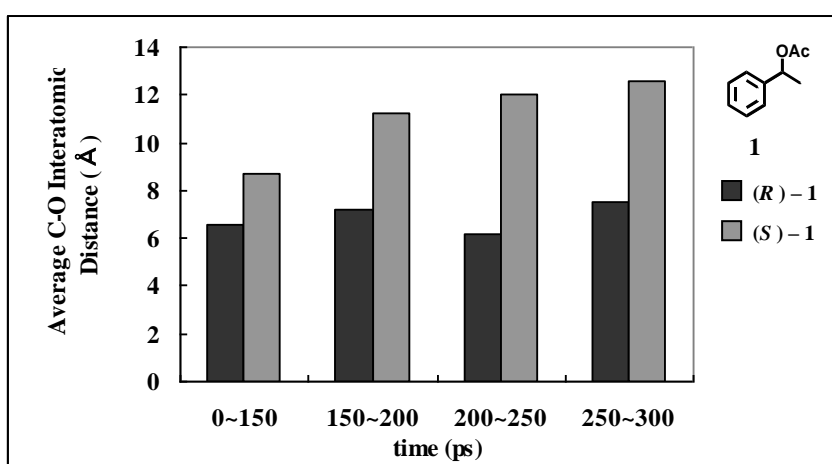
### [方法と結果]

既に、我々は、酵素 BCL と基質エステル分子の複合体構造に対し、生体分子計算プログラム Amber 9 を用いたシミュレーション時間 150ps の分子動力学計算を行い、追跡、算出した C-O 原子間距離 (基質エステルのカルボニル炭素と BCL の活性中心 SER87 の側鎖水酸基炭素との距離) は、有機合成実験で優先的に変換される (*R*)-エステルの方が (*S*)-エステルよりも短いことを見出している。さらに、合成実験において酵素反応の鏡像体選択性の度合いを示す指標、*E* 値、との関係を調べたところ、*E* 値の大きい基質 ( $E > 100$ ) と *E* 値の小さい基質 ( $E < 20$ ) は、(*R*)-エステル複合体の C-O 原子間距離が、それぞれおよそ 6.3Å 以上のグループと 6.2Å 以下のグループに分類できることを認めた。[5,6]

今回、コンピュータシミュレーションを実際の有機合成実験の環境に近づける試みとして、BCL-基質複合体構造に対する分子動力学計算のシミュレーション時間を 150ps から 300ps に延長し、時間の経過に対する C-O 原子間距離の変化を詳細に観察した。まず、酵素 BCL の X 線結

晶解析構造 (PDB code: 1HQD) を調整するため、Amber 9 による周囲 5 Å に水分子を配置したエネルギー極小化計算を行った。一方、基質は、別途構築した第 2 級アルコール系エステル分子 **1-13** について、アニーリング計算および Gaussian03 による HF/6-31G(d) レベルの量子化学計算により最適化構造を算出した。ついで、Amber のモジュールの一つである xLEaP を活用し、基質エステルを、そのカルボニル炭素が BCL の SER87 残基の側鎖水酸基の酸素原子付近に来るように配置した後、温度 300K でのエネルギー極小化計算を行って BCL-基質の複合体構造を求めた。最後に、その複合体構造に対して、シミュレーション時間 0ps~300ps の分子動力学計算を実行した。この計算の際、**Fig. 2** のようにシミュレーション時間を 0ps~150ps、150ps~200ps、200~250ps、250ps~300ps の 4 つの時間帯に区切り、複合体構造の変化をより詳細に追跡した。

その結果、以前報告した 150ps のシミュレーションにおいて得られた結果と同様に、300ps 間の計算においても、合成実験で優先的に変換される (R)-エステルの方が (S)-エステルよりも C-O 原子間距離が短いことが判明した。さらに、各時間帯の C-O 原子間距離の変化を調べたところ、(R)-エステルの場合は、時間の経過に伴う C-O 原子間距離の変化が少ないのに対し、(S)-エステルの方は、その距離が徐々に広がって行く様子が観察された。**(Fig. 2)**



**Fig. 2** Average C-O Interatomic Distance for Ester 1 during 300ps MD Simulation.

### [まとめ]

本研究および以前に報告した、BCL-基質エステル複合体への分子動力学計算やフラグメント分子軌道計算で算出される C-O 原子間距離や結合エネルギーの比較により、酵素リパーゼが有機合成基質の両鏡像体の中、いずれの鏡像体を選択的に変換できるか、また、その選択性の度合い (大小) はどの程度かを、非経験的に予測できる可能性が期待される。

### [参考文献]

- [1] Y. Naoshima, Y. Munakata, T. Fujita, K. Kihara, and T. Raku, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 557-561 (1993).
- [2] 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).
- [3] Y. Naoshima, T. Kimura, Y. Mori, M. Kamezawa, H. Tachibana, K. Kohara, and T. Ohtani, *Recent Res. Devel. Org. Bioorg. Chem.*, **6**, 1-9 (2004).
- [4] 田中孝尚、直島好伸、第 30 回情報化学討論会講演要旨集、59-60 (2007).
- [5] 森 義裕、矢城陽一郎、直島好伸、第 22 回分子シミュレーション討論会講演要旨集、119-120 (2008).
- [6] 森 義裕、直島好伸、日本コンピュータ化学会 2009 春季年会講演予稿集、2P15 (2009) .
- [7] 今川 敦、田中孝尚、木村崇知、亀澤 誠、直島好伸、第 28 回日本シミュレーション学会大会発表論文集、159-162 (2009).