

分極を考慮した自由エネルギー成分分割法による酵素反応阻害メカニズムの解析

○野中 康太郎<sup>1</sup>, 麻田 俊雄<sup>1,2</sup>, 小関 史朗<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 阪府大院理, <sup>2</sup> RIMED

k\_nonaka@c.s.osakafu-u.ac.jp

【序論】消化酵素 Trypsin はタンパク質中の塩基性アミノ酸 Lys および Arg を識別し、その隣にあるペプチド結合を切断することが知られている。一方その阻害剤 Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor (BPTI) は Trypsin の活性部位に結合し、その働きを阻害するが、その詳細な阻害メカニズムは明らかにされていない。本研究では Free Energy Gradient(FEG)法<sup>1</sup> と Nudged Elastic Band(NEB)法を組み合わせた FEG-NEB 法による自由エネルギー面上の反応経路最適化と自由エネルギー成分分割法を用いた残基間相互作用の解析を行い、その詳細な阻害メカニズムの解明を試みた。FEG の算出は外場や分子構造の変化に対する分子の誘起分極を高速かつ高い信頼性で計算することができる charge and atom dipole response kernel(CDRK)モデル<sup>2</sup>を用いて行った。

【方法】Trypsin と BPTI の複合体で生じる反応経路最適化を FEG-NEB 法で行った。さらに CDRK モデルを用いた自由エネルギー成分分割法を提案した。この方法を用いると自由エネルギー変化は QM 領域のエネルギー変化と周辺アミノ酸残基からの自由エネルギー変化への寄与  $\Delta A_i$  の和として表すことができる。ここで  $\Delta A_i$  は次式となる。

$$\Delta A_i = \left\langle \frac{\partial E_{\text{QM/MM}}^{\text{pol}}}{\partial \mathbf{r}_{\text{QM}}} \Big|_i + \frac{\partial E_{\text{QM/MM}}^{\text{est}}}{\partial \mathbf{r}_{\text{QM}}} \Big|_i + \frac{\partial E_{\text{QM/MM}}^{\text{vdW}}}{\partial \mathbf{r}_{\text{QM}}} \Big|_i + \frac{\partial E_{\text{QM/MM}}^{\text{cov}}}{\partial \mathbf{r}_{\text{QM}}} \Big|_i \right\rangle_{\mathbf{r}_{\text{MM}}} \cdot \Delta \mathbf{r}_{\text{QM}} \quad (1)$$

ここで QM 領域の分極エネルギー  $E_{\text{QM/MM}}^{\text{pol}}$  および QM-MM 間の静電相互作用エネルギー  $E_{\text{QM/MM}}^{\text{est}}$  は CDRK モデルを用いると以下で表される。

$$\frac{\partial (E_{\text{QM/MM}}^{\text{pol}} + E_{\text{QM/MM}}^{\text{est}})}{\partial \mathbf{r}_a^r} \Big|_i = -Q_a \mathbf{E}^r(\mathbf{r}_a) \Big|_i - \sum_{t \in x,y,z} \mu_a^t \frac{\partial \mathbf{E}^t(\mathbf{r}_a)}{\partial \mathbf{r}_a^r} \Big|_i + \sum_b \kappa_{b,ra} v(\mathbf{r}_b) \Big|_i - \sum_b \sum_{s \in x,y,z} \gamma_{sb,ra} \mathbf{E}^s(\mathbf{r}_b) \Big|_i \quad (2)$$

ここで  $\kappa$ ,  $\gamma$  はそれぞれ分子の構造変形に対する電荷の応答核と原子双極子モーメントの応答核である。

【結果】Trypsin-BPTI に対して自由エネルギー成分分割法を適用した結果、Asp102 と Gly193 が反応の安定化に大きく寄与していることが明らかになった。これらの結果は、すでに提案されている反応機構と矛盾しない。また model ポリペプチドと Trypsin の複合体について同様に解析したところ、反応障壁は Trypsin-BPTI と比較して低くなった。当日はこれらの結果が得られた理由について報告する。

#### 【参考文献】

1. M. Nagaoka, N. Okuyama-Yoshida, and T. Yamabe, *J. Phys. Chem. A*, **1998**, 102, 8202-8208
2. T. Asada, K. Ando, S. Koseki, M. Nagaoka, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, 17, 26955-26968

