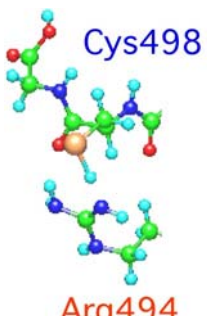



2. 分子軌道計算に基づく酵素の精密分子設計と実験による検証


分子軌道計算に基づく酵素の
精密分子設計と実験による検証

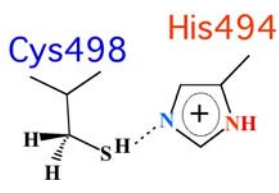


Cys498

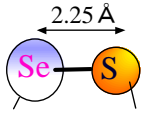
Arg494



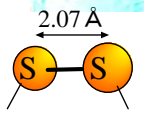




Cys498 His494



2.25 Å



2.07 Å

田村 隆 (岡山大学大学院自然科学研究科農学系)

遺伝子と量子は20世紀の科学を大きく変革した。



J. Watson



F. Crick



F. Sanger



M. Planck



N. Bohr



W. Heisenberg



S. Cohen



H. Boyer



P. Berg



W. Gilbert



E. Schrodinger



P. Dirac



R. Hoffman



L. Pauling



K. Mullis



M. Smith



福井謙一



J. Pople



W. Kohn

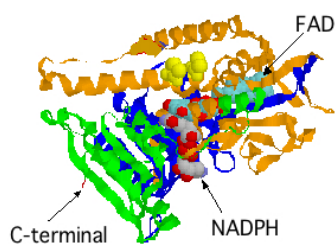
- 遺伝子の発見は遺伝子組換え技術に発展し、**蛋白質工学**が登場した。蛋白質の構造と機能を詳細に研究することが可能になった。
- 21世紀の生命科学にさらに大きなインパクトを与えるものは...それは**量子**ではないだろうか。

2. 分子軌道計算に基づく酵素の精密分子設計と実験による検証

量子酵素化学の発想

- 化学反応とは電子の挙動が支配する現象。
- 酵素分子内で起こる化学反応を量子化学計算で予測できれば、酵素の反応機構解析や精密な分子設計ができるだろう。
- 計算の専門家でないタンパク屋にも出来る方法はないだろうか。
- **律速段階**に直接関わるアミノ酸残基に限定する。
- 溶媒としての水分子は計算しない。
- 市販のパソコンで計算を行う。
- 半経験的分子軌道計算MOPACを使う。
- 実験による検証をする。

チオレドキシ還元酵素のC末端配列



Cys 残基の解離を促進するアミノ酸残基の導入

分子軌道計算(WinMOPAC)に基づく変異設計

-Ser-Ile-Leu-Gln-Ala-Gly-Cys-**SeCys**-Gly
野生型酵素; *E.coli* で発現しない。

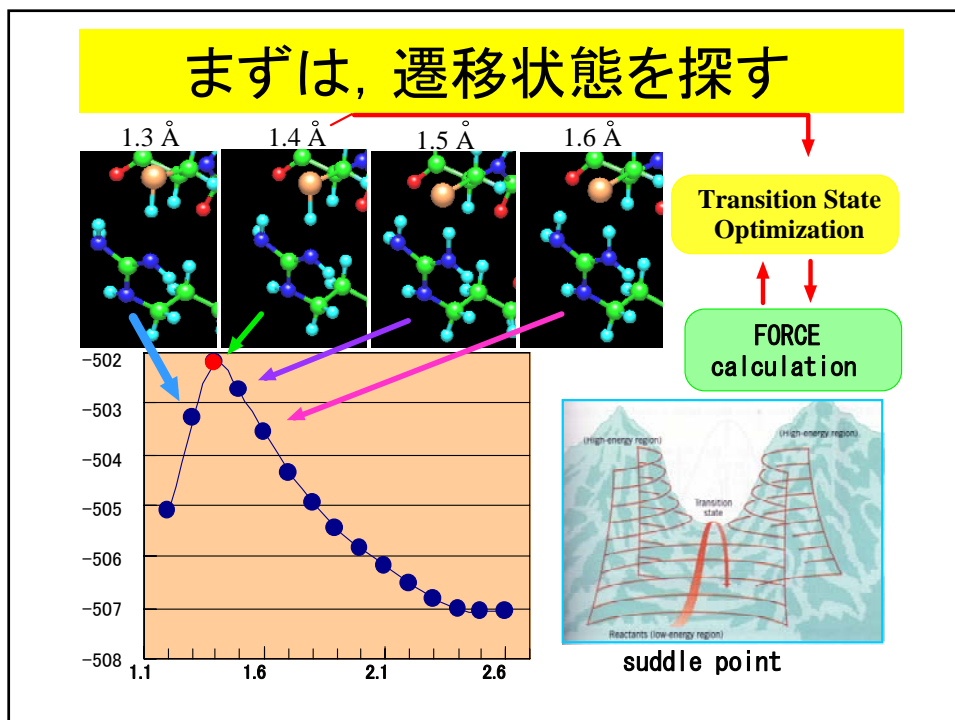
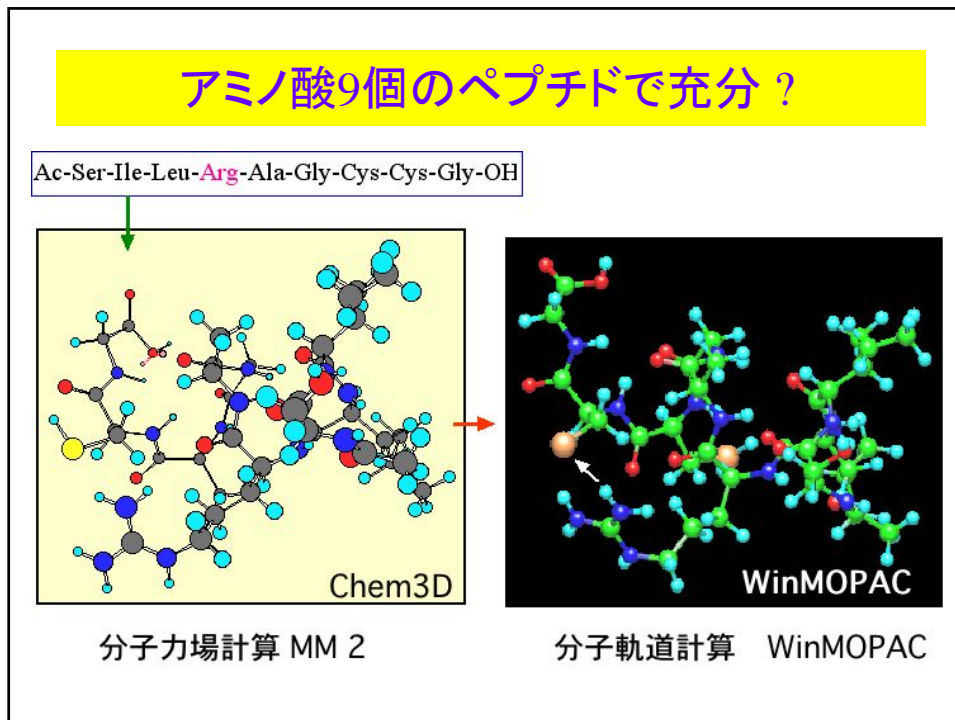
↓

-Ser-Ile-Leu-**Gln**-Ala-Gly-Cys-**Cys**-Gly
E.coli で発現するが、活性は低い。

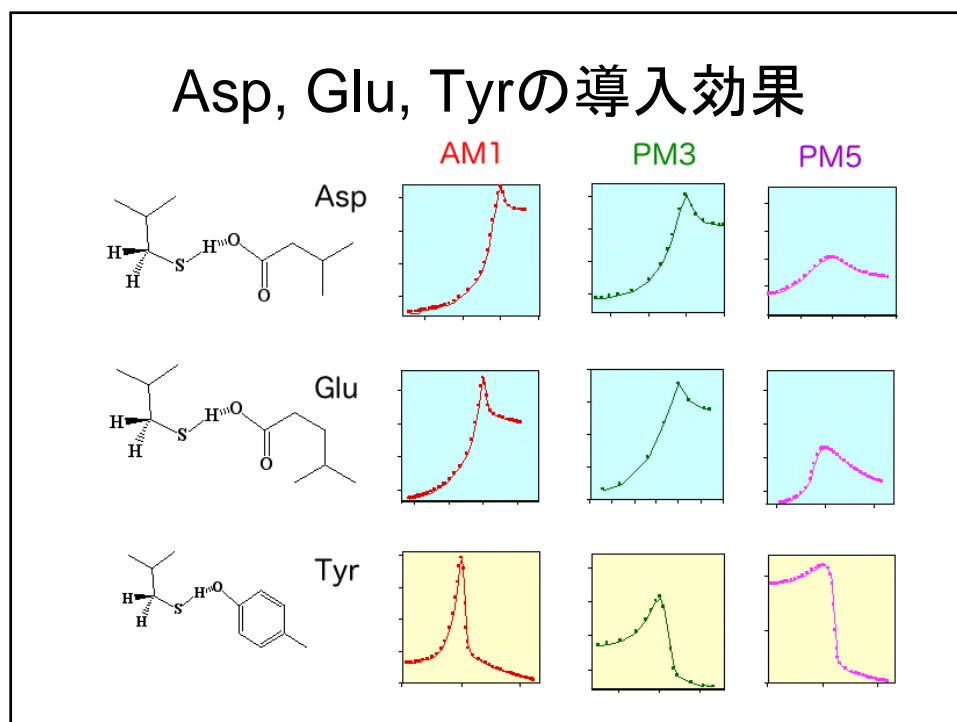
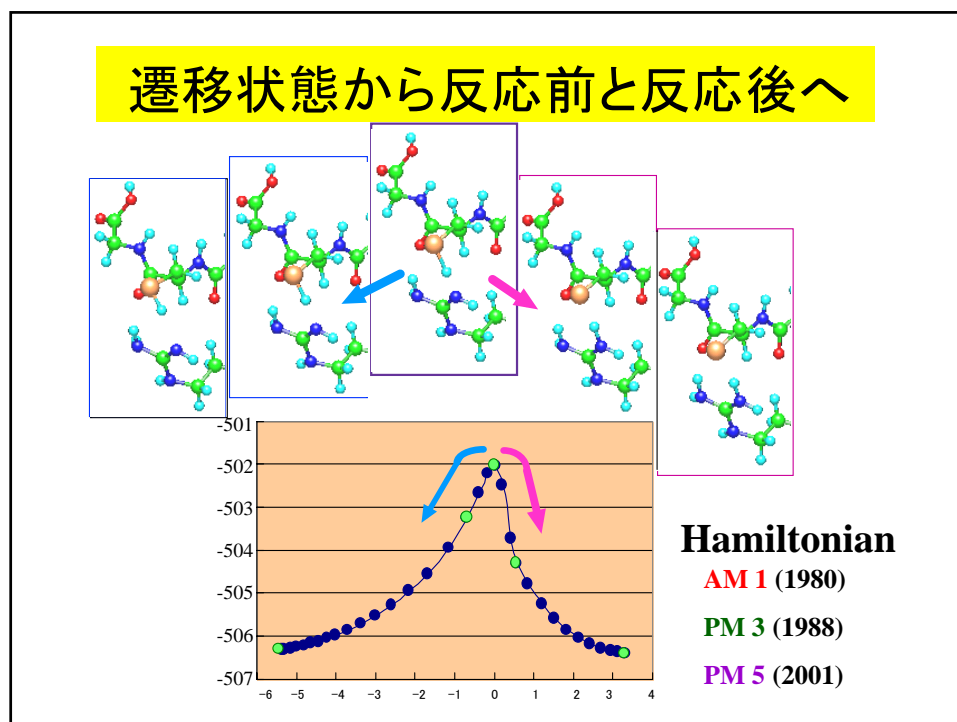
↓

-Ser-Ile-Leu-**His**-Ala-Gly-Cys-**Cys**-Gly
-Ser-Ile-Leu-**Tyr**-Ala-Gly-Cys-**Cys**-Gly
-Ser-Ile-Leu-**Glu**-Ala-Gly-Cys-**Cys**-Gly
-Ser-Ile-Leu-**Asp**-Ala-Gly-Cys-**Cys**-Gly
-Ser-Ile-Leu-**Lys**-Ala-Gly-Cys-**Cys**-Gly
-Ser-Ile-Leu-**Arg**-Ala-Gly-Cys-**Cys**-Gly

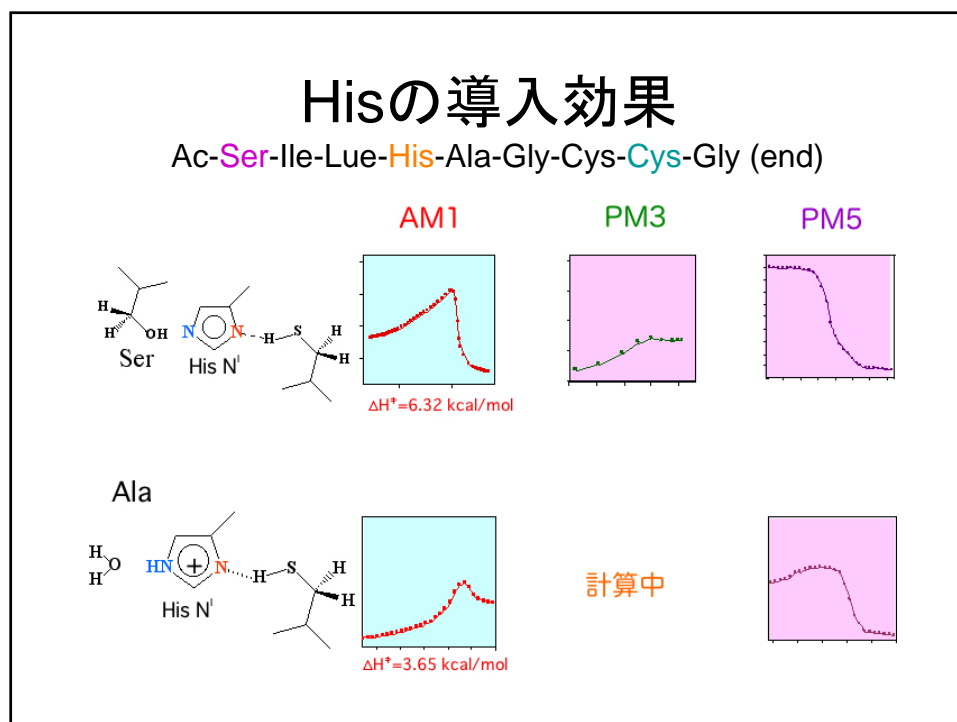
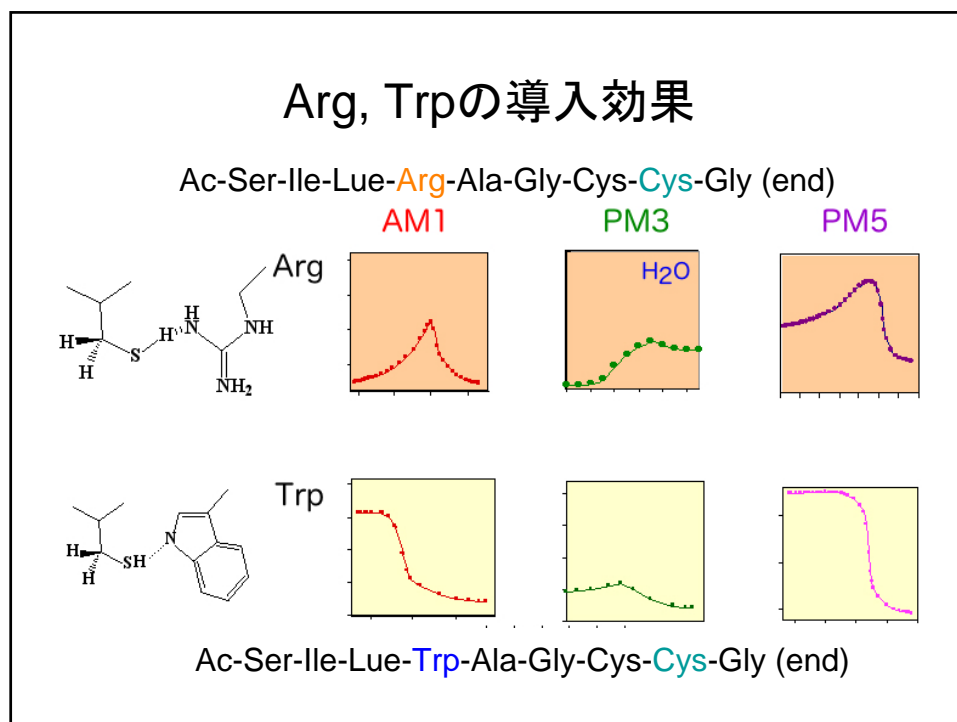
2. 分子軌道計算に基づく酵素の精密分子設計と実験による検証



2. 分子軌道計算に基づく酵素の精密分子設計と実験による検証



2. 分子軌道計算に基づく酵素の精密分子設計と実験による検証

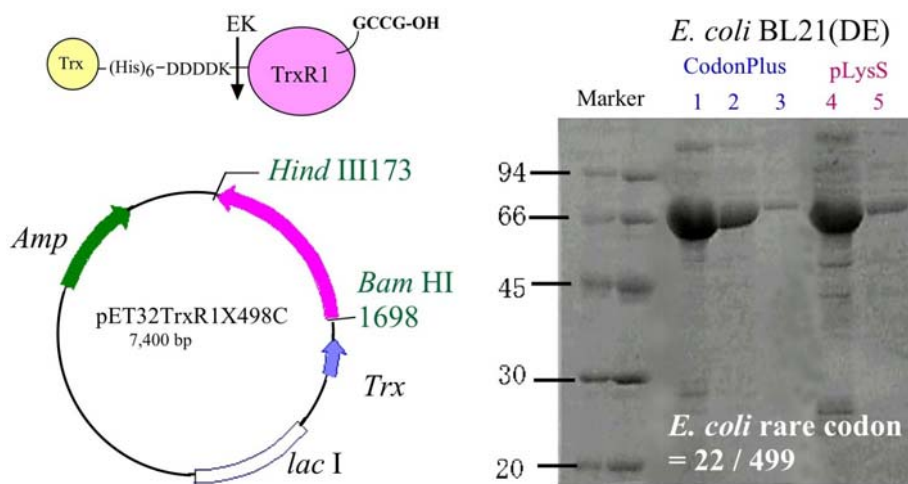


2. 分子軌道計算に基づく酵素の精密分子設計と実験による検証

活性化エンタルピー ΔH^\ddagger 計算予測値 (kcal/mol)

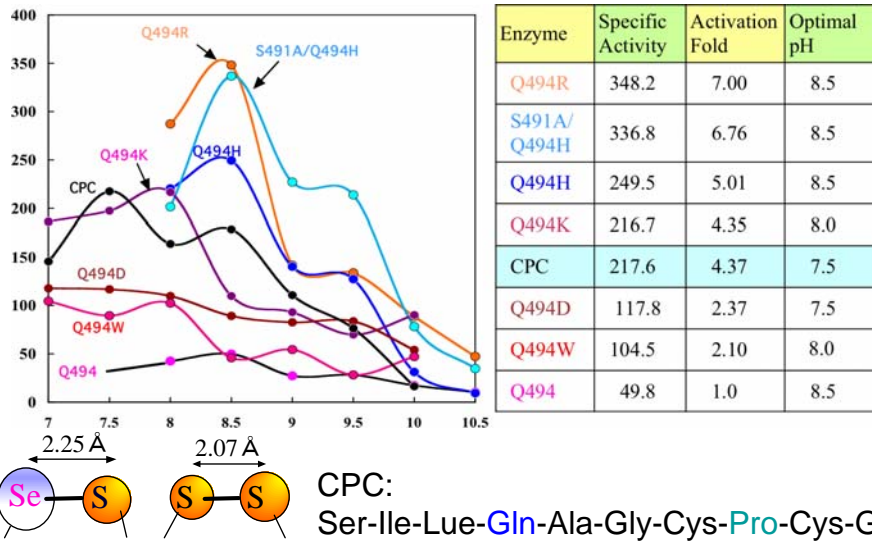
	AM1		PM3		PM5	
	正反応	逆反応	正反応	逆反応	正反応	逆反応
Asp	9.59	1.78	7.97	2.31	3.35	1.75
Glu	9.17	3.40	8.16	2.07	4.30	2.55
Tyr	8.18	9.46	6.62	3.54	1.79	10.90
Trp	0.05	6.83	0.65	1.93	0.10	12.82
Arg	4.26	4.36	3.21	0.66	3.21	5.71
Ser--His I	3.65	6.32	2.65	0.27	0	16.40
Ala--His I	4.19	1.48	n.d.	n.d.	5.47	1.25

TrxR1-Q494X-U498Cの発現

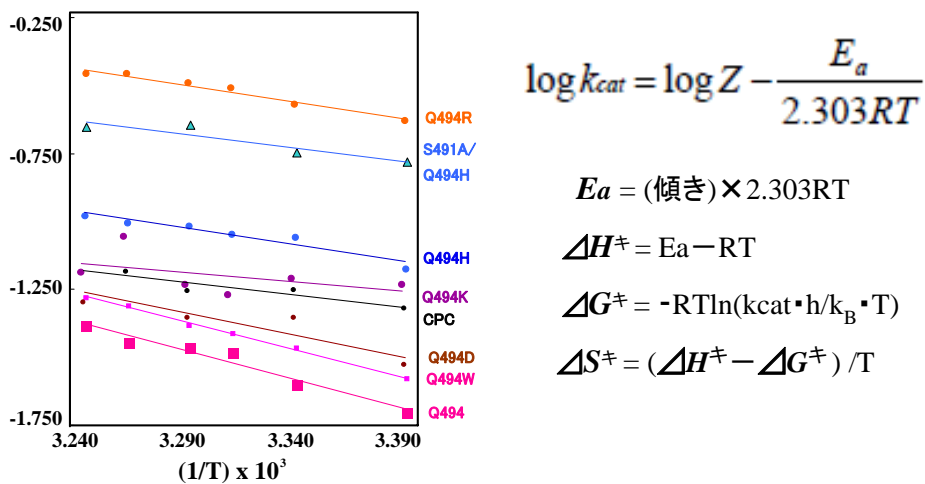


2. 分子軌道計算に基づく酵素の精密分子設計と実験による検証

Dixon プロットによる活性比較



Ahrreniusプロットによる活性比較



2. 分子軌道計算に基づく酵素の精密分子設計と実験による検証

分子軌道計算の理想と現実

1 cal = 4.184 J

活性化エンタルピー実測		分子軌道計算による活性化エンタルピー		
	ΔH^\ddagger (kcal / mol)	AM1 (kcal / mol)	PM3 (kcal / mol)	PM5 (kcal / mol)
Q494	7.67			
Q494R	4.46	4.26	3.21	3.21
Q494H	4.41	6.32	2.65	0.00
S491A/ Q494H	3.43	4.19	計算中	5.47
Q494W	7.12	6.83	1.93	12.82
Q494D	8.56	9.59	7.97	3.35
Q494K	2.34	計算中	計算中	計算中

次世代型の蛋白質工学を目指して

分子軌道計算MOPACに基づく酵素の精密分子設計は可能である。

AM1による予測値は実験値とよく一致した。



律速段階に関わる数個のアミノ酸残基だけを計算対象とするだけでよい。計算は市販のPCで行える。

2. 分子軌道計算に基づく酵素の精密分子設計と実験による検証

量子の世界に飛び込んでみよう！

