

12-NA17

庄司光男 (筑波大学)

トレオニン合成酵素における反応制御機構の理論的解明

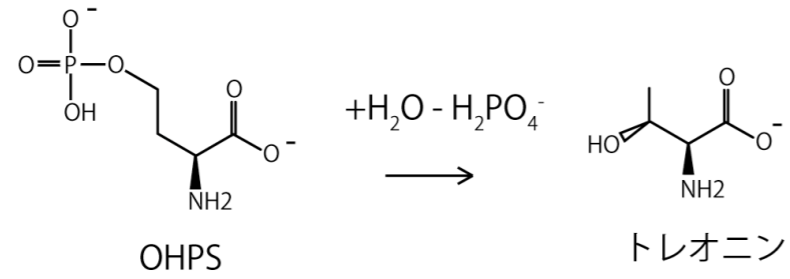
JHPCN

協同研究体制

代表	庄司 光男	筑波大学・計算科学研究センター	計算実行、データ解析
副代表	鴨志田良和	東京大学・情報基盤センター	プログラムの高並列化、高速化対応
共同研究者	花岡 恭平	筑波大学・数理物質系	計算実行、データ解析

研究目的

生体酵素における反応機構と反応制御機構(副反応の抑制機構)は、化学合成における究極のテーマといっても過言でないほど重要である。トレオニン合成酵素(TS)はトレオニン合成の最終ステップである O-phospho-L-homoserine(OPHS)からL-トレオニンを生成する段階を触媒しており(下図)、いくつもの副生成物(α-ケトブチラート、ケトン)の生成を制御している。しかしながら未だTSの反応制御機構は明らかにされておらず、その本質の解明のためには基質・酵素複合体の各反応経路における遷移状態構造、活性化エネルギー、酵素構造変化について明らかにすることが不可欠である。本研究では生体内に存在する複雑な反応機構を持つ酵素(TS)について、これまで申請者が独自開発してきた電子状態解析法を活用して実験結果と対応させ、実験的には解明できなかった電子レベルの反応機構と反応制御機構について理論的に明らかにする。



研究の意義

生体システムは特異的生体分子(タンパク質、核酸)によって制御されており、高効率、安定性、普遍性の観点において驚異的に優れている。そのため、生体分子の機能発現機構を解明することは生命現象の動作原理を解明することであるのみならず、化学合成や創薬、治療等の応用分野にとっても極めて重要である。現在、生物学的実験ではX線結晶構造やNMRによる構造生物学的研究によって多くの立体構造が解明されてきているが、TSのような複雑な酵素における反応機構や反応制御機構については十分明らかにされておらず、複雑な反応過程を制御できるTSは化学や生物学での学術的重要性のみならず、化学合成法の効率化や酵素阻害剤の開発、酵素機能変換などの産業利用、医薬品開発、農業への応用上極めて重要である。TSはアスパラギンからトレオニンを生成する最終過程に存在する。TSは植物や微生物のみが持っており、動物(人)はTSを持たない。そのため、動物は体内でトレオニンを作り出すことができず、トレオニンが必須アミノ酸となっている。そのためTS阻害は抗菌剤開発のターゲットとなっている。また、実験研究グループとの密な連帯を通じて、理論解析と実験の両アプローチが融合していくことで、該当領域の革新的進展が期待される。

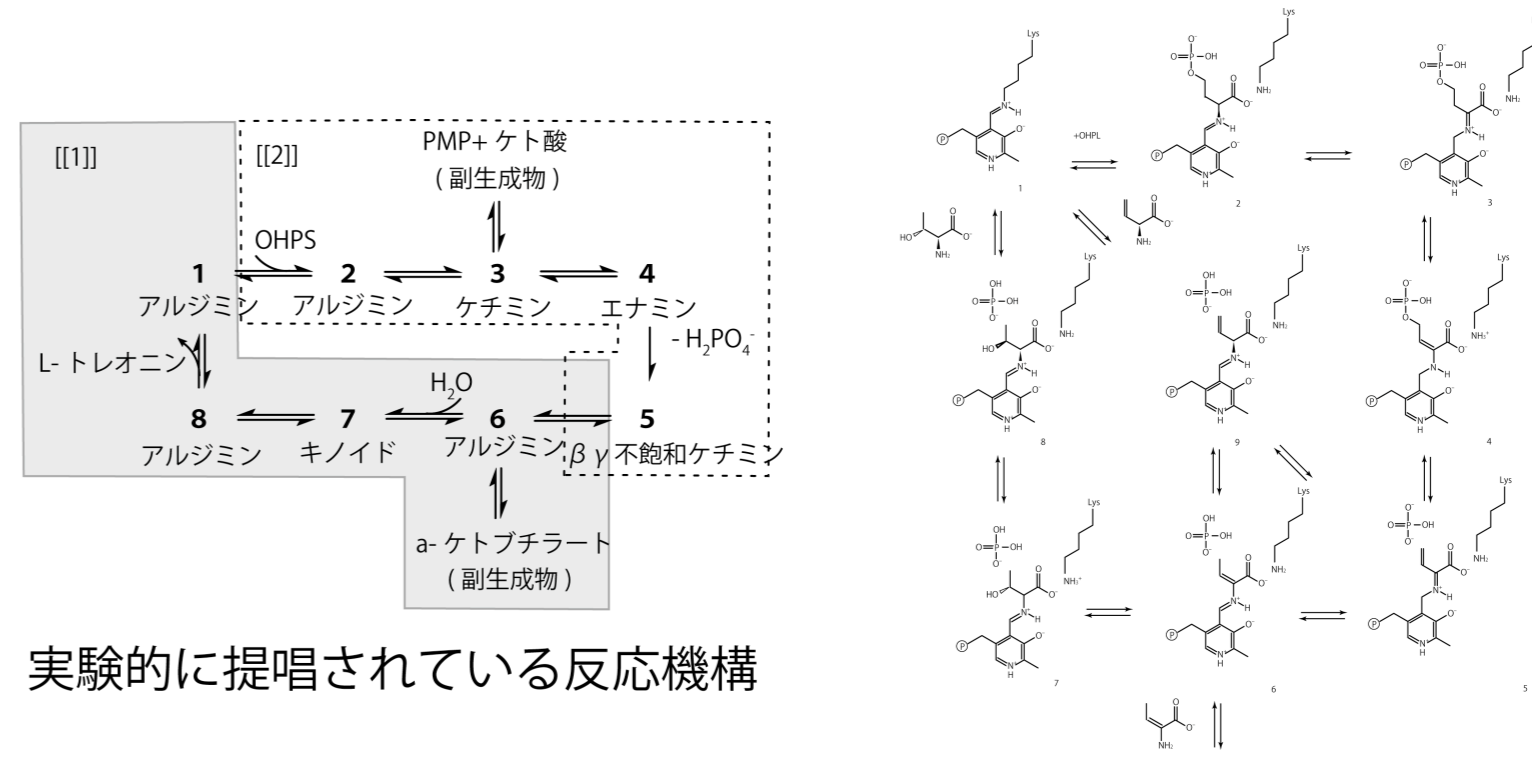
必要性

生体分子は多自由度複雑系であり、理論解析をおこなうには膨大な計算量が必要である。そのため、FX10のような超並列計算機をフルに活用する事で初めてリアルな計算機シミュレーション(大サイズ、長時間、高精度)が可能となる。非常に高精度な量子古典混合計算法(QM/MM)を用いることで、詳細な電子状態と化学反応過程での正確な自由エネルギーを明らかにする。そのため、超並列環境に開発されている量子化学計算総合パッケージNWChemを用いる。FX10で初めて使用するため、発生する様々な設定やさらなる高並列化対応(チューニング)に関し、東京大学情報基盤センター・スーパーコンピューティング研究部門の鴨志田良和と共同で取り組む。鴨志田は申請者のT2K-Tokyo利用(1024core)においてNWChem設定を行った実績があり、連携することが本研究遂行に不可欠である。また、計算機実行に関し、筑波数理物質系の花岡恭平(D2)と協力する(研究教育)。本研究ではTSにおける世界トップの実験グループ(林秀行先生(大阪医大)、村川志志先生(大阪医大))と共同研究を行い、重要な生体分子の機能発現機構を理論的に解明する。それにより生命科学を劇的に進展させ、生命の根本原理に対する新たな知見を得る。

研究計画

TSの反応機構は右図のように8つの中間状態が存在すると実験的に提案されている。反応は6→7→8→1の反応物生成過程[[1]]と1→2→3→4→5→6のリン酸脱離以前の反応[[2]]に分けられる。[[1]]の反応過程ではリン酸脱離以降の主生成物が生成される段階であり、最も重要である。また、基質アナログでの実験的データが存在するため、本過程の反応制御機構を実験と対応させながら検討することが可能である。その為、これまで申請者が行って来た電子状態計算法と解析方法が大いに活用できる。特に、中間体での物性量(CDスペクトル、反応速度定数)を求め、実験値と直接比較することで中間体(プロトン化状態、基質コンフォメーション)を同定する。さらにリン酸(硫酸)の有無による反応制御について電子状態レベルで検討し、副反応を抑える反応制御機構について解明を行う。[[2]]の前半プロセスでは、脱リン酸過程、正常基質での解析とプロトン化状態について探求する。これらは実験的に決定することが難しいため実験との直接比較は行えないが、[[1]]で実験との対応をさせていることで、計算妥当性について検証できている。また、類縁酵素では副生成物生成経路があるため、この隠れた反応制御機構について新たな知見を得ることが期待される。これらについて理論的に解析する事で、詳細な酵素の仕組み:反応制御機構を明らかにする。

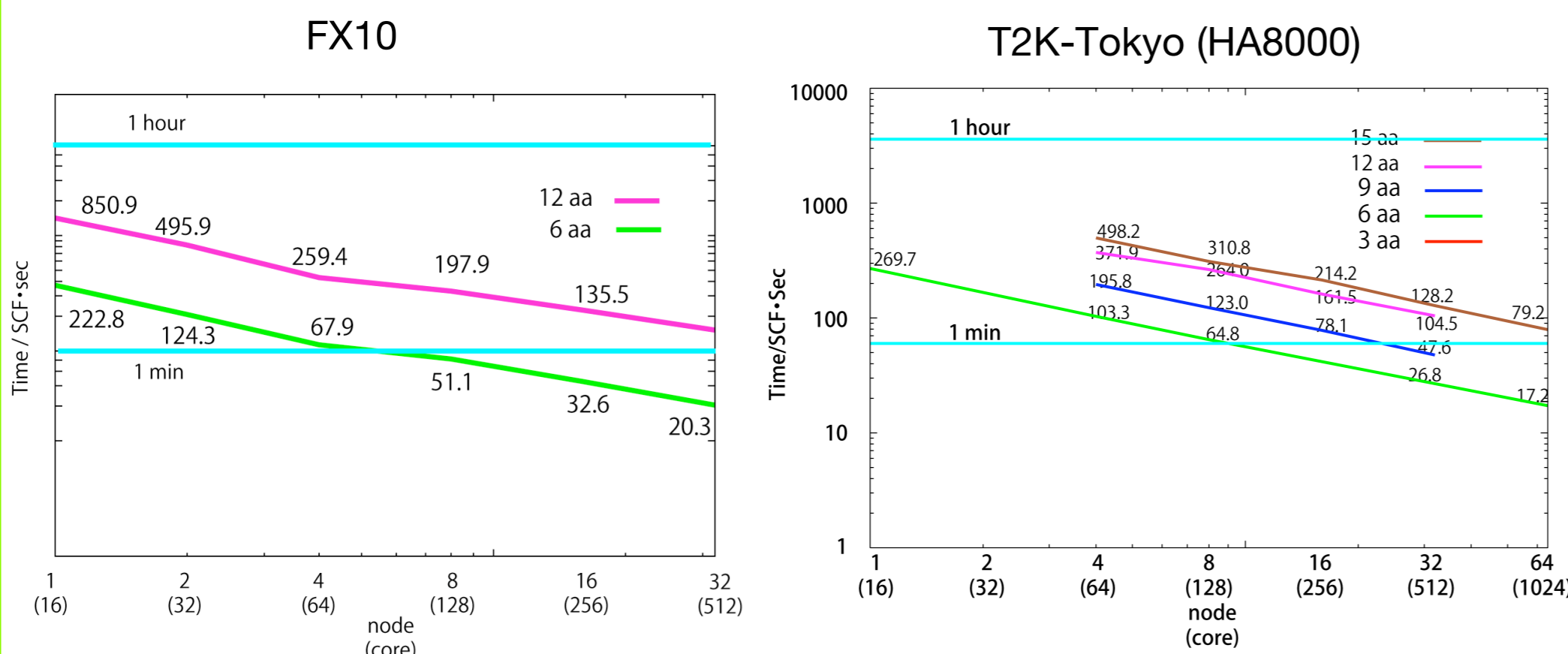
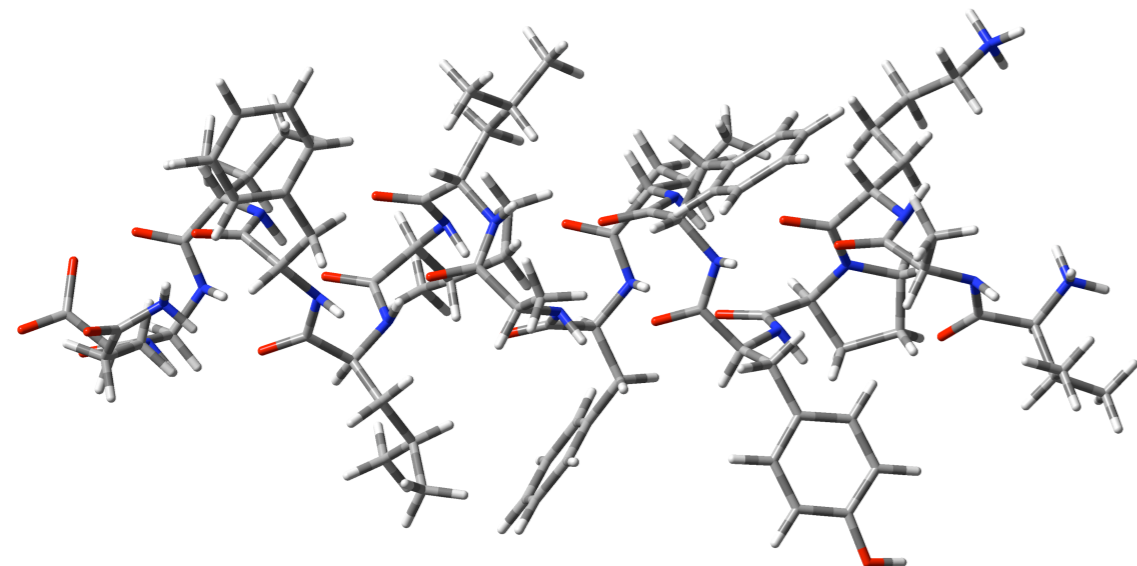
[1] T. Murakawa, et al, J. Biol. Chem., 286, 2274 (2011). H. Hayashi, J. Biochem. 118, 463 (1995).



現在の研究状況

FX10でのベンチマーク測定結果

計算対象
 手法: B3LYP/6-31G* using NWChem(Ver 6.0)
 系: Alpha Helix アミノ酸数(基底関数)
 3(388) 6(1011) 9(1421) 12(1888) 15(2228)
 VAL-ALA-LYS-PRO-TYR-PHE-VAL-PHE-ALA-ILE-LEU-PHE-VAL-GLY-GLN



- CPU: SPARC64 IXfx 16 core/node
- Memory: 32GB/node, Infiniband
- Opteron 8356 Quad-core x 4 sockets/node (16 core/node)
- 32GB memory/node, Myrinet-10G

Computational Details

Method: QM/MM: UB3LYP/AMBER99 force field
 Basis: 6-31G basis sets (360 basis sets)
 #QM: ~ 70
 #MM(els, vdw): ~ 2,000 (bq-zone radius 9Å)
 #Total: ~ 40,000 (PDB-ID: 3AEX)
 #Atoms in Opt. ~ 1,000

An initial MM optimization was performed for the entire protein fixing the backbone atoms

