

ナイロンオリゴマー分解酵素の反応メカニズムに関する研究
(阪大院・基礎工¹、筑波大院・数理物質²、Strasbourg大³)
馬場 剛史¹，神谷 克政²，Mauro Boero³，中野雅由¹，重田 育照¹

【序】

ナイロンオリゴマー分解酵素は、ナイロン工場廃水中に生息する微生物から単離された加水分解酵素である。ナイロン-6 は一般的に 6 アミノヘキサン酸 (Ahx) が 100 ユニット以上からなる合成高分子であり、洋服など身近に使用されている。ナイロンオリゴマー分解酵素はそのナイロン合成過程で生じる副産物 (Ahx-linear dimer や Ahx-cyclic dimer) を分解する酵素である。これまでの研究から複数のアミノ酸変異導入実験が報告されており、その中のいくつかは酵素のみ、および、酵素-基質複合体の結晶構造が得られている。その結果、酵素活性に重要な役割を果たすアミノ酸残基として、Ser112、Lys115、Tyr170、Tyr215 が必要であることが判明した。ナイロンオリゴマー分解酵素の反応機構はプロテアーゼと似ているが、その具体的な役割や反応機構については不明な点が多い。特に、プロテアーゼとナイロンオリゴマー分解酵素の大きな違いは、基質が結合する際に大きく移動するループ部位に Tyr170 が存在することである。この Tyr170 を Phe にアミノ酸変異を導入すると大きく活性が低下する明らかとなった[1]。

【研究手法】

そこで本研究では、本酵素の反応過程や重要アミノ酸残基の役割の解明を行うために、アミノ酸変異によって酵素活性が大きく低下した Y170F に関する結果を中心に 温度 300K で圧力 1 気圧における (1) 古典分子動力学法による酵素-基質複合体の構造解析および (2) QM/MM Car-Parrinello 分子動力学法とメタダイナミクス法によるアミド加水分解反応の解析を行った。特に (2) においては、加水分解の律速段階であるアシル化反応におけるアミノ酸残基の役割の特定および、アミド加水分解に対するアミノ酸変異の効果の解析を行った。

【結果と考察】

その結果、(1) では、Y170F の場合酵素-基質複合体形成時に構造が不安定化し、Tyr170 を含むループ部位が大きく揺ぐことが明らかとなった。この変化を野生型と比較すると、従来ループ部位が基質に対して水素結合を介して酵素-基質複合体の形成環境を支えるという役割の喪失していることが確認された[2]。

野生型の反応機構の解析では Lys115 が塩基として働き、Tyr215 が四面中間体形成時にプロトンを供与するという役割をそれぞれ別々に担っていることが判明した。また Y170F に関しては、四面中間体形成時に Tyr215 からのプロトン供与が困難になる配置を形成していることが判明した。

参考文献

- [1] S. Negoro *et al.*, *J. Mol. Biol.* (2007) 370, 142-156
[2] T. Baba *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, (2011), 507, 157.