

加水分解酵素の機能制御に向けた共溶媒添加効果の全原子MD解析

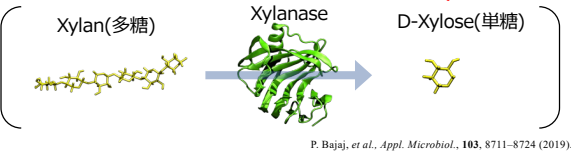
○大坂龍司¹, 石田豊和², 笠原健人¹, 松林伸幸¹ ¹阪大院基礎工 ²産業技術総合研究所

① Introduction

生体触媒 (酵素)

選択性、環境負荷 → 工業的利用価値

バイオ燃料生産
食品加工での用途



酵素活性の制御のために

変異タンパク質
→ 高価、制御が離散的

共溶媒効果
→ 安価、濃度による連続的な制御

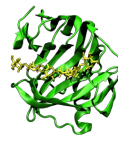
研究目的

**Xylanaseの酵素活性の連続制御に向けた
活性化自由エネルギーに対する共溶媒効果の解明**

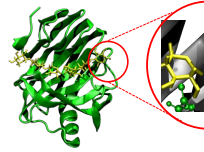
② System

溶質(Xylanase)

反応前(R)



遷移状態(TS)



共溶媒(1.0 M)

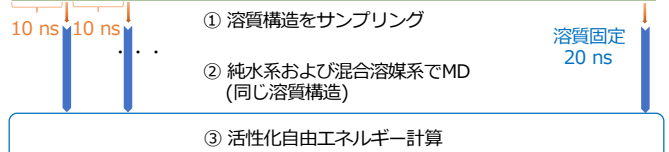
ジメチルスルホキシド(DMSO)
尿素(urea)
エチレングリコール(EG)
1,6-ヘキサジオール(HexDiol)
グリセリン(glycerine)

R, TS
純水溶液系



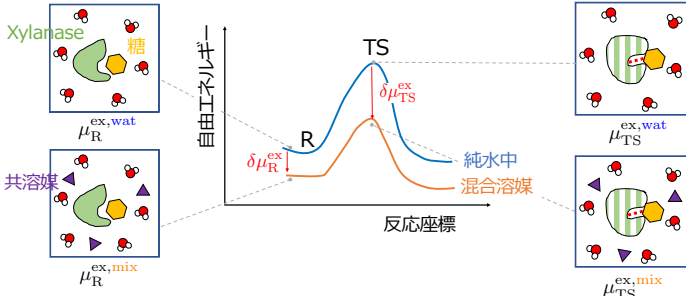
T. Ishida, et al., J. Am. Chem. Soc., 142, 17966-17980 (2020).

200 ns



③ Theory

活性化自由エネルギーと共溶媒効果



活性化自由エネルギーの共溶媒効果 $\delta\Delta G_{act}$

$$\frac{\Delta G_{act}^{mix} - \Delta G_{act}^{wat}}{\delta\Delta G_{act}} = \frac{(\mu_{TS}^{ex, mix} - \mu_{TS}^{ex, wat})}{\delta\mu_{TS}^{ex}} - \frac{(\mu_R^{ex, mix} - \mu_R^{ex, wat})}{\delta\mu_R^{ex}}$$

$\delta\Delta G_{act} > 0$: 共溶媒が反応を抑制

$\delta\Delta G_{act} < 0$: 共溶媒が反応を促進

過剰化学ポテンシャル

過剰化学ポテンシャル

$$\mu^{ex} = \text{溶質内エネルギー} + \text{溶媒和自由エネルギー} - \Delta\nu + \text{溶質の構造エントロピー}$$

溶媒環境に関する変分原理 K. Masutani, et al., J. Chem. Phys., 150, 14 (2019).

$$\mu_{mix}^{ex} - \mu_{wat}^{ex} = \langle \Delta\nu_{mix} \rangle - \langle \Delta\nu_{wat} \rangle + O(c^2)$$

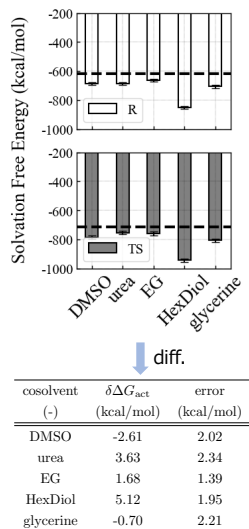
混合溶媒中 純水中

$$\frac{\Delta G_{act}^{mix} - \Delta G_{act}^{wat}}{\delta\Delta G_{act}} \approx (\langle \Delta\nu_{TS}^{mix} \rangle - \langle \Delta\nu_{TS}^{wat} \rangle) - (\langle \Delta\nu_R^{mix} \rangle - \langle \Delta\nu_R^{wat} \rangle)$$

$\delta\Delta G_{act}$ の計算には溶媒和自由エネルギー $\langle \Delta\nu \rangle$ を計算すればよい

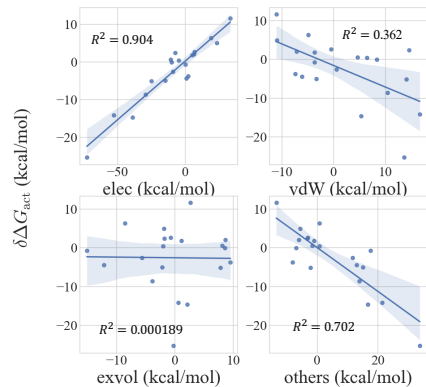
④ Result & Discussion

活性化自由エネルギー



DMSOの寄与分割と活性化自由エネルギーとの相関

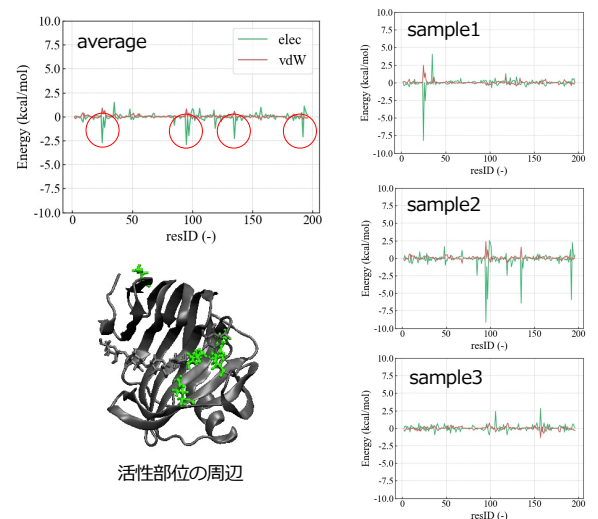
$\delta\Delta G_{act}$ = 静電 + vdW + 排除体積 + その他 (多体間)



elecと強い相関

elecの絶対値を大きくすることが反応の制御に重要

DMSOの相互作用解析 残基別分割



⑤ Conclusion

- ・ジメチルスルホキシドは反応促進、尿素、エチレングリコール、1,6-ヘキサジオールは反応抑制、グリセリンは反応にほとんど影響しない
- ・静電相互作用の絶対値増大が活性の制御に最も効果的である
- ・反応を促進させる共溶媒であるDMSOの場合、特に活性部位周りの残基と強く相互作用するタンパク質構造がある