

課題名(タイトル):

乳酸酸化酵素のループ領域の分子動力的解析

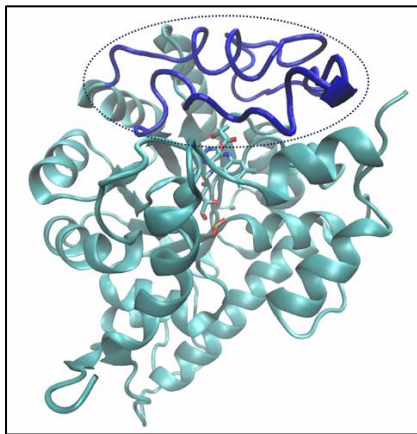
利用者氏名:

美川 務

理研における所属研究室名:

生命機能科学研究センター 翻訳構造解析研究チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係する課題との関係
乳酸酸化酵素(LOX)は産業的に重要な酵素であり、その高機能化が望まれている。LOX にはその活性中心にフ



タをするようにループが配置し(左図)、その運動性が LOX の活性発現に重要であると考えられている。しかしながら、これまでにこのループ領域の運動性を解析した例はない。私はループ領域の

運動性に摂動を加えることにより LOX の活性を変調させられると考えており、結果として LOX を高機能化させられると考えている。本研究では分子動力学法を用いて LOX のループ領域の運動性を解析し、その運動性を変化させる変異候補を抽出することを目的とする。

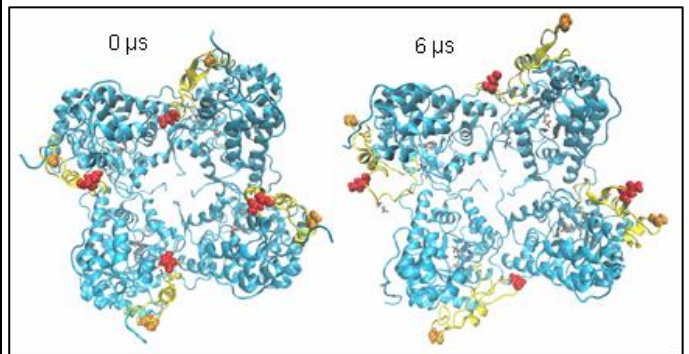
2. 具体的な利用内容、計算方法

LOX は 4 量体として働くため、LOX4 量体構造(PDBID 6m73)を初期構造とした。基質を外した状態、基質を結合した状態に対して、CHARMM36 力場を用いて AMBER で全原子の分子動力学計算を実施した。LOX のループ領域の運動性は RMSF、RMSD を用いて評価した。LOX のループ領域の運動性を確認するため、最大 10 マイクロ秒までの計算を複数回実施した。

3. 結果

これまでに行われていた 100 ナノ秒程度でのシミュレーションではループ領域の運動性は全く観察されなかったが、1 マイクロ秒を経過した頃からループのヒンジ付近に運動性が観察された。さらに、3 マイクロ秒を経過するとループ自

体の大きな運動性が観察された。その後 10 マイクロ秒まで計算を実施することにより、ループの開閉も観察された。下図は 6 マイクロ秒後の構造であるが、黄色で示したループ領域が活性中心から離れ、赤で示したフタの先やオレンジで示したヒンジ部分が大きく動いていることが分かる。



4. まとめ

これまでに、LOX のループ領域は結晶構造解析においてその構造が観察されないことが多いことなどから動的であることが予測されていた。これまでに実施されてきた 100 ナノ秒程度の分子動力学シミュレーションではその動きを捉えることはできなかったが、本課題では 10 マイクロ秒に及ぶ分子動力学シミュレーションを実施することによりその動的な開閉運動を観察することに始めて成功した。

5. 今後の計画・展望

本課題におけるシミュレーションにより、LOX のループの開閉に重要なアミノ酸残基などの特定が可能になった。今後は本知見を利用して様々な変異 LOX をデザインし、高活性なものを獲得するなど、その高機能化に役立てていく予定である。また、活性部位にフタをするループ領域を持つ酵素は LOX 以外にも多く存在するため、本手法が他の酵素のデザインにおいても有効であるかについても併せて検証していきたいと考えている。