OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Computational Chemical Study on Enzyme Reaction Mechanism toward Artificial Enzyme Design
Author(s)	馬場, 剛史
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52053
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　　名　（　馬場　　剛史　）	
論文題名	Computational Chemical Study on Enzyme Reaction Mechanism toward Artificial Enzyme Design （人工酵素デザインを目指した酵素反応機構に関する計算化学研究）

論文内容の要旨

本論文では，計算化学的手法による人工酵素設計を目指して，人工化合物であるナイロンオリゴマーを分解する酵素（ナイロンオリゴマー分解酵素）に着目し，酵素がどのようして機能を獲得し自然に適用できたのか，その機構解明を行った．酵素反応における一連の反応過程は，プロトン移動や大規模構造変化が複雑に組み合わさることによって進行している．本論文では，これら一連の反応過程を明らかにするため，大規模構造変化を容易に取り扱うことができる手法− Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics（PaCS-MD）− や酵素内でのプロトンの親和性を評価するための指標である酸解離定数を予測する計算化学手法の開発を行った．実際に，ナイロンオリゴマー分解酵素の一連の反応過程をPaCS-MDや第一原理分子動力学法を用いて詳細に解析した結果，従来，セリンプロテアーゼ系で提唱されている触媒3残基による反応様式ではなく，効率よく人工化合物を分解するために4残基目としてTyr170を巧みに使用していることを世界で初めて提唱した．また，蛋白質内部のアミノ酸残基に適用することを目指して開発した酸解離定数の計算手法の信頼性を検証するため，生理活性物質であるヒスタミンやドーパミン，薬剤であるアセチルサリチル酸など低分子に適応し，多くの系において実験値との誤差が1.0 pK_a以内で再現することを実証した．

本研究では，これまで未解明だったナイロンオリゴマー分解酵素の反応機構を解明することにより，自然による合理的なデザインの一例を明らかにすることができた．この酵素の反応機構の解明は，今後様々な酵素のデザインを検討する上で重要な学術的概念を与えると考えられる．また，本研究で開発した計算手法は，人工酵素デザインを実現する上で，酵素の機能の解明や先験的予測に今後大きく貢献する技術として期待される．

様式7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　馬場　剛史　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主 査　教 授	中野　雅由
	副 査　教 授	馬越　大
	副 査　教 授	岩井　成憲
	副 査　教 授	重田　育照（筑波大学大学院　数理物質科学研究科）

論文審査の結果の要旨

本学位論文では，計算化学的手法による人工酵素デザインを目指して，1940年代までは自然界に存在しないナイロンオリゴマーを分解する酵素に着目し，酵素反応機構解析およびその解析を実行するための手法論の開発が行われている．申請者は，本酵素の酵素基質複合体を形成後の誘導適合過程から律速段階であるアシル化反応までの詳細な反応機構の解明することによって，自然進化によって比較的短期間の間に人工化合物に適応した合理的なデザインがどのように発生したのか，その起源を明らかにすることに取り組んでいる．通常の計算では解析困難な誘導適合過程の解析では， Parallel Cascade Selection Molecular Dynamicsの開発が行われた．さらに，一連の反応過程および実験事実を参照することによって，Tyr170が人工化合物を分解するために必要な鍵残基であることが強く示唆された．この仮説を検証するため，野生型とTyr170をPhe170に変更した系を準備し，自由エネルギー地形や反応機構に対する比較が行われた．その結果，本酵素は人工化合物を分解するために，自然のデザインとして新たにTyr170を獲得したことを原子レベルで初めて明らかとした．また，複数のプロトン放出サイトを有する分子に対して申請者が開発している酸解離定数を予測する計算化学手法が，適用可能か検討している．その結果，共通した官能基であれば実験値が未知の系にも適用できることが検証された．

本学位論文により，自然による合理的な酵素デザインの一例を明らかにした点は，今後様々な酵素のデザインを検討する上で重要な学術的知見を与えると考えられ，新たな人工酵素の誕生に大きく貢献するものと期待される．また，開発した手法論に関しても効率よく構造探索できる点などで今後，生命科学分野の多くの場面において活用されることが期待される．以上により，本論文は学術的に高いレベルの内容を有しており，博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める．