

平成22年 1月 8日

機能材料工学専攻	学籍番号	023723	指導 教員	栗田 典之
申請者 氏名	出立 兼一			関野 秀男

論文要旨 (博士)

論文題目	金属プロテアーゼ Thermolysin とその阻害剤間の特異的相互作用の理論的解析、及び新規阻害剤の提案
------	---

(要旨 1,200 字程度)

Thermolysin (TLN) は *Bacillus stearothermophilus* 由来の金属プロテアーゼであり、活性部位に1つの亜鉛イオン、構造内に4つのカルシウムイオンを持ち、それらのイオンが TLN の機能と構造の維持に重要な役割を果たしている。TLN は人工甘味料の合成に必須の酵素であり、TLN の阻害剤は高血圧、心筋梗塞、糖尿病性腎症などの治療薬として利用できる。そのため、TLN によって引き起こされる加水分解反応の機構や、阻害剤による TLN の活性阻害の機構などは、これまで広く研究されてきた。最近の実験により、TLN の活性は2つのアミノ酸がペプチド結合した dipeptide により阻害されること、及び阻害活性の強さは dipeptide のアミノ酸の種類に大きく依存することが明らかになった。しかし、その原因は解明されておらず、また、TLN と dipeptide 間の特異的な相互作用を電子レベルで解析した研究も存在しない。

本研究では、TLN と実験で用いられた6種類の dipeptide 間の特異的相互作用を、古典分子力学 (MM) 計算、及びフラグメント分子軌道 (FMO) 計算を用いて、水中で解析した。6種類の dipeptides (IY (Ile-Tyr)、LW (Leu-Trp)、FW (Phe-Trp)、IW (Ile-Trp)、VY (Val-Tyr)、WL (Trp-Leu)) のうち、IY と LW が TLN に結合した複合体の構造のみが、X 線解析により決定されているため、その他の dipeptide と TLN の複合体の構造は、TLN-IY/LW の dipeptide のアミノ酸を置換し作成した。次に、各複合体に対し、水和水を付加し、古典 MM 計算により各複合体の構造を水中で最適化した。そして、TLN と dipeptide 間の特異的相互作用を解析するため、各複合体の最適化構造の電子状態を、FMO 計算により求めた。さらに、各複合体の振動特性を、古典 MM 計算により解析し、TLN と各複合体間の結合自由エネルギー (BFE) を求めた。その結果から、TLN と dipeptide の結合に重要である TLN 中のアミノ酸及び水分子を明らかにした。また BFE の結果から、TLN と dipeptide 間の結合親和性を議論するためには、エントロピーの効果を取り入れる必要があることを初めて明らかにした。

最後に TLN に対する新規阻害剤を提案する目的で、TLN により強く結合する dipeptide を12種類作成し、TLN と dipeptide の複合体構造を水中で最適化した。最適化した複合体構造における TLN と dipeptide 間の結合親和性を明らかにするため、TLN と dipeptide 間の BFE を求め、TLN の活性を十分に阻害できると考えられる 新規 dipeptide を提案した。