

## 29-0141

Class D  $\beta$ -ラクタマーゼの基質脱アシル化反応機構

○石川 英典<sup>1</sup>, 畑 晶之<sup>1</sup>, 根矢 三郎<sup>1</sup>, 星野 忠次<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>千葉大院薬,<sup>2</sup>科技機構さきがけ)

【目的】Class D  $\beta$ -ラクタマーゼ (CDB)は  $\beta$ -ラクタム剤の  $\beta$ -ラクタム環を加水分解し不活化するセリン- $\beta$ -ラクタマーゼである。我々は既に Class A (CAB)および Class C  $\beta$ -ラクタマーゼ (CCB)における脱アシル化反応機構について詳細な検討を行っている。昨年の第 124 年会で、CDB について分子動力学的手法を用いて反応機構の解明を試みた結果、塩基性アミノ酸残基 Lys70 が脱プロトン化し、反応の中心的役割を果たしていることを報告した。今回はこの点について Lys70 の  $pK_a$  値評価とあわせて、量子化学計算により反応機構の詳細な解析を試みた。

【方法】CDB OXA-13 の X線結晶構造をもとに Lys70 を中性残基、基質(Amoxicillin)をアシル酵素中間体としたモデルを作成し、1ns の MD シミュレーションを行った。MD 後の構造より Lys70 を含めて反応機構に関与すると思われる幾つかの残基を抽出して原子数 93 のモデルを構築し、HF/6-31G\*\*にて TS 構造を探索後、IRC 計算により反応座標を求めた。Lys70 の  $pK_a$  値は結晶構造および MD 後の構造の両方における静電ポテンシャルを算出し、自由エネルギーの変化より次の式にもとづいて決定した。

$$\Delta G = RT \ln 10 (pH - pK_a) = 2.303RT (pH - pK_a)$$

【結果および考察】脱アシル化反応の活性化エネルギーは B3LYP/6-31G\*\*によるエネルギー評価で 30.07kcal/mol であった。この活性化エネルギー値は CAB や CCB のものとほぼ同様であり、脱プロトン化された Lys70 を中心とした反応機構を支持する結果となった。また計算された Lys70 の  $pK_a$  値は 0.0 以下となり、外部の pH 条件に寄らず脱プロトン化していることが示された。