

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5680143

ชื่อโครงการ: ความเข้าใจอย่างลึกซึ้งในธรรมชาติของโครงสร้างคาร์โบไฮเดรตที่เป็นรูปวงแหวนห้าเหลี่ยมและหกเหลี่ยมในระหว่างการเร่งปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ไกลโคซิเดส ศึกษาโดยวิธีการจำลองที่ผสมผสานกลศาสตร์ควอนตัมและกลศาสตร์โมเลกุล

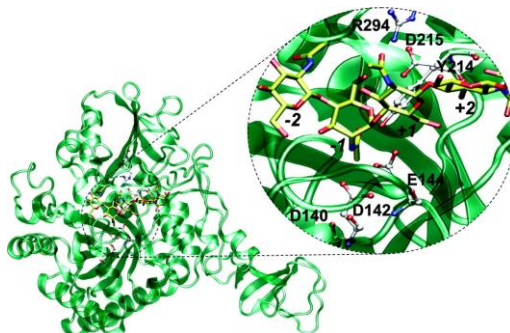
ชื่อนักวิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตระยุทธ์ จิตอ่อนนุ่ม มหาวิทยาลัยพะเยา

E-mail: jitrayut.018@gmail.com

ระยะเวลา: 3 มิถุนายน พ.ศ. 2556 ถึง 2 มิถุนายน พ.ศ. 2558

โครงการวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษากลไกการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต การปรับเปลี่ยนโครงสร้างของน้ำตาล และบทบาทของกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องระหว่างเกิดปฏิกิริยาเคมีในเอนไซม์ไคตินเนสบี (ChiB) โดยการประยุกต์ใช้ระเบียบวิธีจำลองทางคอมพิวเตอร์ที่ผสมผสานทฤษฎีกลศาสตร์ควอนตัมสมัยใหม่และทฤษฎีกลศาสตร์โมเลกุลดั้งเดิม (SCC-DFTB/CHARMM22) และทฤษฎีฟังก์ชันความหนาแน่น ผลการศึกษาพฤติกรรมของโครงสร้างบริเวณยึดเกาะของซับสเตรตคือโมเลกุลน้ำตาล N-acetylglucosamine (NAG) กับเอนไซม์ ChiB พบว่าวิธี SCC-DFTB สามารถทำนายโครงสร้างสภาวะตั้งต้น (ES) ได้สอดคล้องกับผลการทดลอง ผลการคำนวณพลังงานอิสระของปฏิกิริยาพบว่าปฏิกิริยามี 2 ขั้นตอน และขั้นแรกของปฏิกิริยาเป็นขั้นกำหนดอัตรา มีค่าพลังงานอิสระของการกระตุ้น (free-energy of activation) เท่ากับ 20.5 kcal/mol สอดคล้องกับผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ (~16 kcal/mol) ในระหว่างเกิดปฏิกิริยาพบโครงสร้างของน้ำตาลตำแหน่ง -1 มีการเปลี่ยนรูปร่าง คือ boat (1_4B) \leftrightarrow half-chair (4H_5) \leftrightarrow chair (4C_1) นอกจากนี้ยังพบว่ากรดอะมิโนบนตำแหน่งยึดจับกับน้ำตาล NAG มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โดยเฉพาะ Asp142 และ Tyr214 นอกจากนี้ วิธีการศึกษาด้วยทฤษฎีฟังก์ชันความหนาแน่น ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของวงเอสเทอร์ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์พอลิเมอร์

คำหลัก : ไคตินเนสบี; ปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์; วิธีการจำลองที่ผสมผสานกลศาสตร์ควอนตัมและกลศาสตร์โมเลกุล; SCC-DFTB; เอนไซม์ไกลโคซิเดส;



Abstract

Project code: MRG5680143
Title: Powerful Insight into the Nature of Five- and Six-Membered Ring Carbohydrate Conformation in Catalysis of Glycosidase from Combined Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Simulations
Investigator : Assistant Professor Dr. Jitrayut Jitonnorn, University of Phayao
E-mail: jitrayut.018@gmail.com
Project period: 3 June 2013 - 2 June 2015

The aim of this research project is to study the hydrolytic mechanism of chito-oligosaccharide substrate and its ring conformation during catalysis of *Serratia marcescens* chitinase B (ChiB) as well as to probe the roles of conserved residues in the ChiB active site by using combined quantum mechanics/molecular mechanics (SCC-DFTB/CHARMM22) simulations and density functional theory. The SCC-DFTB calculations could reproduce the geometries of enzyme-substrate complex determined by X-ray crystallography. Calculated free-energy profiles for the reaction suggested a two-step mechanism in which the first glycosylation step is the rate-determining step with an activation barrier of 20.5 kcal/mol, in a reasonable agreement with the 16.1 kcal/mol barrier derived from the experiment. The pyranosyl substrate (bound in subsite -1) was found to undergo a boat (${}^{1,4}B$) \leftrightarrow half-chair (4H_5) \leftrightarrow chair (4C_1) conformational change along the reaction path. A variety of conserved residues in the ChiB active site were involved in catalysis and Asp142 and Tyr214 were found to play key roles for catalytic efficiency. In addition, the DFT-based protocol can also be applied to study the conformation of cyclic esters during the ring-opening polymerization.

Keywords : chitinase B; enzyme mechanism ; QM/MM; SCC-DFTB; glycoside hydrolase; ring conformation

