

1P059

酵素 purple acid phosphatase 活性中心の電子状態計算

(1.阪大蛋白研, 2.JBIC, 3.阪大極限センター)

○小泉健一^{1,2}、鷹野優¹、山口兆³、中村春木¹

【序】 purple acid phosphatase はオルトリン酸モノエステルの加水分解を触媒する酵素であり、酸化型で紫、還元型でピンクの特徴的な色を示す。酸素が架橋した二核金属活性中心を持つが、由来する種の違いによって含まれる金属が異なっている。哺乳類由来の purple acid phosphatase は骨粗鬆症のターゲット蛋白とみなされているが、生物学的機能に関してはいまだ未解明な部分が多い。これらの物理化学的研究は古くから行われており、とくに磁氣的性質に関しては EPR を始めとする分光学的手法を用いた多くの研究が行われて来た。近年、X 線結晶構造解析によって、サツマイモ由来の purple acid phosphatase では鉄とマンガンの二核活性中心を構成していることが明らかとなった[1]。この酵素の特徴は、鉄二核活性中心を持つ哺乳類由来のもの(-J = 10 cm⁻¹)と比べ、格段に大きい有効交換積分値が報告されている点にある(-J > 70cm⁻¹)[2,3]。この結果から、サツマイモ由来の purple acid phosphatase の活性中心は μ -hydroxo 架橋である他の種のものとは異なり、oxo 架橋の可能性が示唆されている。この酵素の触媒反応では、架橋するリガンドの求核攻撃が重要であると考えられており、架橋構造を明らかにすることは反応機構の解明に必須である。そこで、われわれは理論計算を用いて架橋部分の構造を決定し、さらに特徴的な磁氣的性質の原因について化学結合の観点から明らかにしようとした。

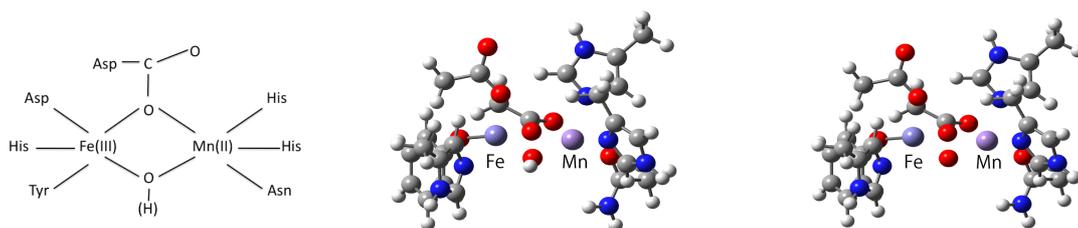


図 1:活性中心のモデル (左:模式図、中: μ -hydroxo 型、右: μ -oxo 型)

【計算】 計算に用いた活性中心モデルの詳細を図 1 に示す。モデルは PDB における 1XZW を用い、活性中心のモデルを構成した。基底関数として鉄、マンガンイオンには Tatewaki-Huzinaga の 533(21)/53(21)/(41)を、炭素、窒素、酸素には 6-31G*を、水素には 6-31G を用いて計算を行った。リガンド部分は 6-31+G*を用いた。まず架橋部分のみ構造最適化を行い、その後、金属イオン、架橋部分、水素原子を全て構造最適

化し、電子状態の解析を行った。計算には、二核金属錯体の計算でよく用いられる[4,5]ハイブリッドDFTであるUB3LYP及びUB2LYPを用いた。全て計算はGaussian03 [6]を用いた。

[結果・考察] 下の表に計算結果を示す。

表：求められた有効交換積分値 (単位 cm^{-1})

	μ -oxo	μ -hydroxo
UB3LYP	-68.38	-10.45
UB2LYP	-31.92	-3.03

UB3LYPの計算結果は架橋部分のリガンドが μ -oxo型であることを示唆している。

次に、求められた電子状態についてスピン密度の解析を行ったところ、 μ -oxo型では酸素と鉄の間に β スピンの非局在化がみられた。この結果は μ -hydroxo型では現れず、 μ -oxo型の特徴的な性質であると考えられる。構造最適化から鉄-酸素間の距離はマンガン-酸素間の距離よりも短く、結合性が強い事が示唆された。この結合性は自然軌道にも反映され、鉄-酸素上のスピンの入っている軌道は、鉄-酸素の反結合軌道の性質を帯びていることが分かった。このスピンの非局在化は、マンガン上のスピンの相互作用において超交換相互作用に加えて直接交換相互作用の効果が入ってくるため、結果として反強磁性的相互作用を強めていると考えられる。このような性質は、遷移金属とリガンド間の結合の強さの違いや、異核金属による β 電子混入のしやすさの違いなど、活性中心の非対称性によるものと考えられる。従って、 μ -oxo型を持つサツマイモ由来のものが、スピンの非局在化による直接相互作用の寄与のため μ -hydroxo型を持つ他の種のものに比べて大きい有効交換積分値を与えることが明らかとなった。より詳細な結果については当日発表する。

[参考文献]

1. G.Schenk et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 273, 2005
2. G.Schenk et al., J. Biol. Chem, 276, 19084, 2001
3. R.B.Lauffer et al., J. Biol. Chem, 258, 14212, 1983
4. M.Shoji et al., Int. J. Quant. Chem, 107, 3250, 2007
5. K.Koizumi et al., Eur. Phys. J. D, 38, 193, 2006
6. M.J. Frisch et al., Gaussian03, Gaussian, Inc.: Pittsburgh, PA.