

ヘモシアニンモデル二核銅錯体の酸素錯体および酸素活性化機構に関する理論的研究

○中谷 直輝¹、中尾 嘉秀¹、佐藤 啓文¹、柚 茂好^{1,2}¹京大院・工、²京大福井セ

【緒言】

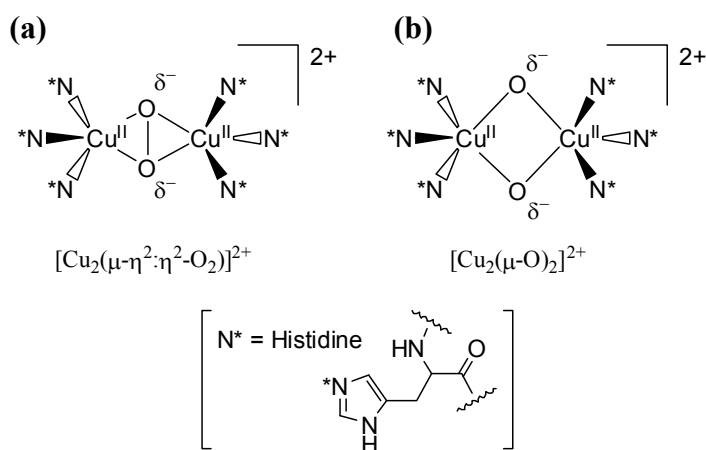
軟体動物や節足動物に広く存在するヘモシアニンは酸素分子を取り込み、体内で運搬するはたらきを有している。その活性中心は、タイプ III 銅と呼ばれる 6 つのヒスチジン残基が配位した二核銅錯体から成り立っており、ヘモグロビンとは異なるシステムで酸素運搬を行っている点で非常に興味深い。

過去のさまざまな実験研究から、酸素挿入前の活性中心の 2 つの銅は共に +1 の酸化状態を取ることが知られており、酸素挿入にともなって 2 つの銅中心から 1 つずつ電子移動が起こり、 $[\text{Cu(II)}\text{-O}_2\text{-Cu(II)}]^{2+}$ 錯体種を形成し、ペルオキシ種が生成すると考えられている。この時、2 つの銅は d^9 になっていると考えられるが、2 つの銅の間の強いスピン結合によって ESR 不活性である。

結晶構造解析から、酸化型ヘモシアニンの活性中心は Scheme 1a のような $\eta^2:\eta^2$ 配位構造をとることが明らかになっている[1]。しかしながら、結晶構造から得られている O-O 結合距離は 1.36 ~ 1.41 Å と一般的に知られているペルオキシ錯体に比べて短い。

この酸化型ヘモシアニンの構造や電子状態については理論的に詳細な解析が行われてきた[2]。DFT 法の計算結果は実験的に提案されている通りペルオキシ錯体 $[\text{Cu(II)}\text{-O}_2\text{-Cu(II)}]^{2+}$ を与え、O-O 距離は実験構造と比較的良好な一致を与える。しかしながら、CASSCF/CASPT2 法は O-O 距離が 2.2 Å となり、Scheme 1b に示すような bis- μ -oxo 錯体 $[\text{Cu(III)}\text{-O}_2\text{-Cu(III)}]^{2+}$ を与え、ヘモシアニンの実験構造とは一致しない。これらの計算は小さなモデル錯体を用いているため、タンパク環境の効果を正確に取り込んでいるとは言い難い。他方で、酸素分子を可逆的に吸・脱着するその機構は明らかになっておらず、この過程を解明することは人工血液の開発に対し重要な示唆を与えることができると考えられ興味深い。

本研究では、より実在系に近いモデル錯体を用いて DFT 法および CASSCF/CASPT2 法により酸化型ヘモシアニンの構造および電子状態について再考するとともに、酸素挿入過程における中間体や電子状態の変化を解析することで、可逆的な酸素分子の吸・脱着反応の起源を明らかにすることを目的とした。

Scheme 1. (a) $\mu\text{-}\eta^2:\eta^2\text{-O}_2$ complex, and (b) bis- μ -oxo complex.

【計算方法】

構造最適化には B3LYP 汎関数を用いた DFT 法を用いた。Cu の内殻電子は Stuttgart/Dresden の有効内殻ポテンシャルで置き換え、原子価電子には(311111/22111/411)を、O に 6-31+G*を、その他の原子には 6-31G*を用いた。エネルギー計算には CASSCF(12,12)/CASPT2 法を用いた。Cu には、上と同じ基底関数を用いたが、N と O には aug-cc-pVDZ を、その他の原子には cc-pVDZ を用いた。

【結果と考察】

過去の研究では、ヒスチジン残基のモデルとしてアンモニア(NH₃)が用いられた。本研究では、ヒスチジンの π 軌道を考慮するため、イミン(CH₂NH)を用いたモデルを作成し、CASSCF/CASPT2 計算を行った。O-O 結合距離はおよそ 1.6 Å 程度と計算され、実験値からは 0.2 Å 長い結合距離を与えた。また、Cu の *d*-orbital population は両方とも 9.1e と計算され、Cu(II)種となっていることが示された。これは [Cu(II)-O₂-Cu(II)]²⁺ 錯体が基底状態であり、酸素分子はペルオキシドになっている計算結果であり、過去の研究結果と同様である。

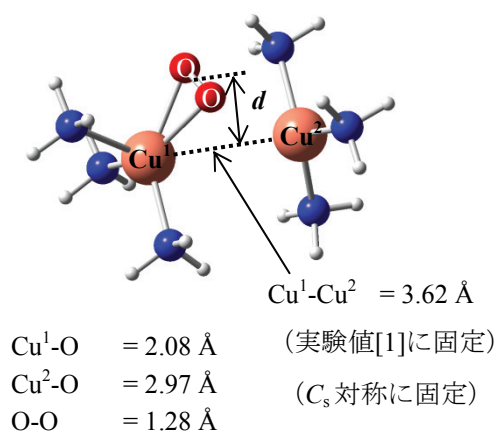
Scheme 2 に示したように酸素分子が 2 つの銅中心に近づく過程のポテンシャルエネルギーの変化を CASSCF/CASPT2 法を用いて求めた(Figure 1)。興味深いことに、三重項状態において Cu と O₂ との距離 *d* が 1.7 Å 付近に浅い局所安定構造の存在が示された(Scheme 2)。このとき、O₂ は片方の Cu に side-on 配位しており、O₂ は電子状態的にはスーパーオキシドになっている(*r*_{O-O} = 1.28 Å)。

さらに Cu と O₂ との距離が 0.7 Å 付近で三重項と一重項状態が交差しており、0.7 Å 以下では一重項状態が基底状態となる。このことは ESR 不活性という実験事実と良い一致を示している。

酸素錯体および酸素挿入過程における構造変化および電子状態変化に対するタンパクの周囲環境の効果をとり込んだ結果は、当日発表する。

【参考文献】

- [1] Hazes, B.; Magnus, K. A.; Bonaventura, C.; Bonaventura, J.; Dauter, Z; Kalk, K. H.; Hol, W. G.J. *Protein Sci.* **1993**, *2*, 597-619.
- [2] Flock, M.; Pierloot, K. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 95-102.



Scheme 2. Reaction coordinate and superoxide intermediate at *d* = 1.72 Å

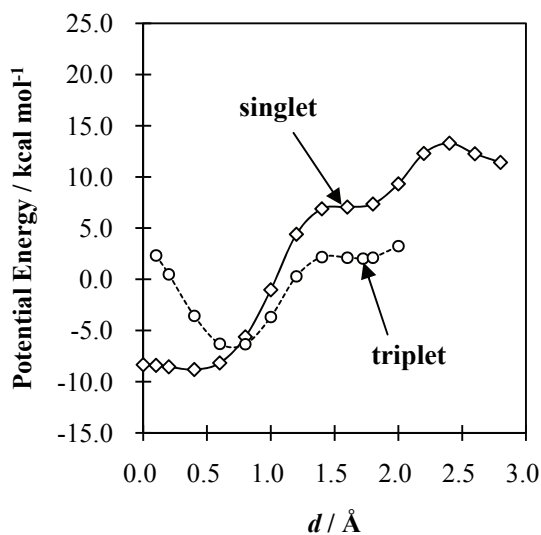


Figure 1. PEC for the O₂ binding