

## 4P131

## ヘムオキシゲナーゼによる $\alpha$ -メソヒドロキシヘム中間体の生成機構に関する理論的研究

(九大先導研) ○西見 智徳、蒲池 高志、吉澤 一成

### 【緒言】

ヘムオキシゲナーゼはヘムを分解し、鉄、ビリベルジン、一酸化炭素を生成する酵素である。この反応の中間生成物である  $\alpha$ -メソヒドロキシヘムの生成機構として、図 1 に示す 3 つの経路が提案されている。ヒドロ

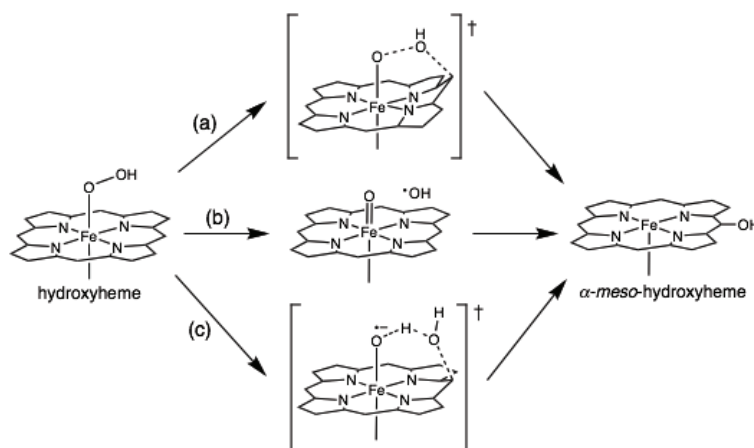


図 1.  $\alpha$ -メソヒドロキシヘムの提案されている生成機構。

素が  $\alpha$  位の炭素を攻撃する協奏的反応である経路(a)は、多くの実験的研究に支持されているが、量子化学計算により、その活性化エネルギーは 47.4 kcal/mol と報告されており、生理的条件下で進行するには高い[1]。ヒドロペルオキシ配位子の O-O 結合の開裂により生じる  $\cdot\text{OH}$  が  $\alpha$  位の炭素を攻撃する経路(b)は、活性化エネルギーが 20.0 kcal/mol でありエネルギー的には生理的条件下で進行し得ると考えられるが[2]、反応性に富む  $\cdot\text{OH}$  は生体に対する毒性が知られている。我々は以前、シトクロム P450 等の反応活性種として知られるオキシ種が水分子を攻撃し、この水分子の O-H 結合が開裂し、酸素と  $\alpha$  位の炭素間の結合が生成する反応経路(c)を提案した[1]。本研究ではこの経路について、酵素の全原子を考慮した QM/MM 計算により、さらなる理論的解析を行った。

### 【計算手法】

Sugishima らの X 線結晶解析[3]の結果に基づき、全原子数 10819 の初期構造を構築した。QM/MM 計算には Chemshell プログラムを使用した。QM 領域には、軸配位子であるヒスチジン、ポルフィリンの側鎖を取り除いたポルフィン、鉄オキシ錯体、鉄ヒドロペルオキシ種の遠位酸素にプロトンが付加することで生じる水分子 (W5)、X 線結晶解析由来の水素結合ネットワークを構築している水分子 4 つ (W1-W4) を含めた。この QM 領域について、計算プログラムは Turbomole を使用し、

B3LYP/SV(P)レベルで計算した。スピン多重度は二重項及び四重項状態を考慮し、電荷は+1とした。MM領域について、計算プログラムはDL\_POLY、力場パラメータはCHARMmを使用した。

### 【結果】

QM/MM計算によって得られた反応物の最適化構造を図2に示す。O-O結合開裂により生じた水分子(W5)は、オキソ配位子の酸素原子及び水分子(W1, W2)との水素結合によってヘムの $\alpha$ 炭素上に固定されることが明らかになった。さらに、 $\alpha$ -ヘリックスの立体障害によって、W5によるヘムの $\beta$ 位及び $\delta$ 位への攻撃が妨げられている。これらの効果により位置選択的に $\alpha$ 位が酸化されると考えられる。鉄原子、オキソ配位子、およびポルフィリンの二重項(四重項)状態における電子密度はそれぞれ、1.27(1.22)、0.84(0.85)、-1.05(0.91)であり、二重項状態が四重項状態より0.02 kcal/mol安定であった。これらのQM/MM計算で得られた結果は、以前報告したモデル計算の結果[1]とほぼ同等であった。反応経路(c)におけるC-O結合生成の活性化エネルギーは12 kcal/molとなり水分子が反応に関与することで有効にヘムが酸化されることが示された。

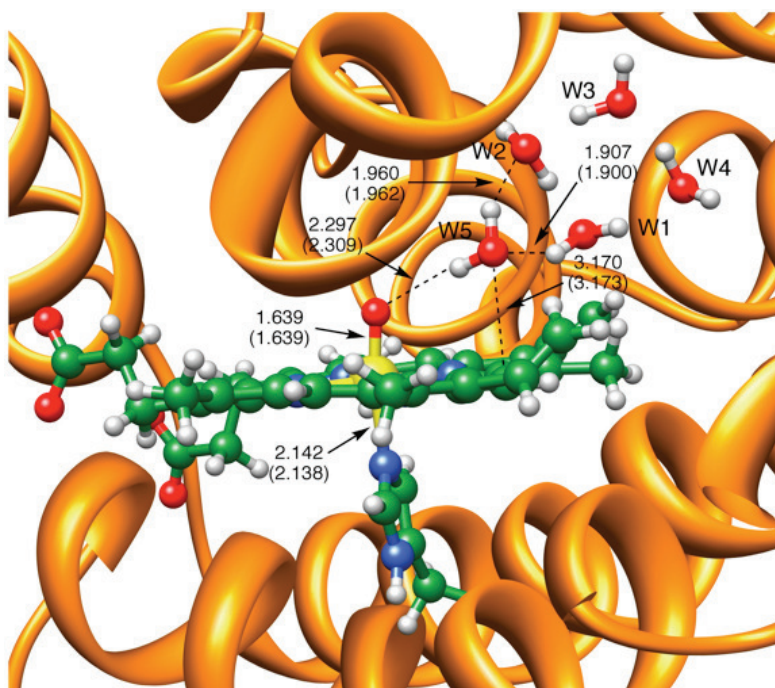


図2. QM/MM計算によって得られた反応物における活性点近傍の最適化構造。値は二重項(四重項)状態の結合長(Å)を表す。

### 【参考文献】

- [1] Kamachi, T.; Yoshizawa, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10686.
- [2] Chen, H.; Moreau, Y.; Derat, E.; Shaik, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1953.
- [3] Sugishima, M.; Sakamoto, H.; Higashimoto, Y.; Omata, Y.; Hayashi, S.; Noguchi, M.; Fukuyama, K. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 45086.