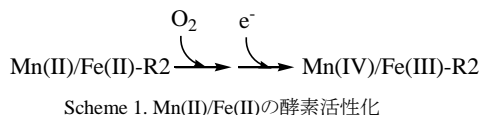


Mn/Fe 系 RNR における酸素分子による酵素活性化の 初期状態に関する理論学計算

(三重大院工) ○吉岡泰規、徳松めぐみ、三谷昌輝

[序] リボヌクレオチドレダクターゼ(RNR)はリボヌクレオチドをデオキシリボヌクレオチドに還元する酵素である。酵素活性化に酸素分子を必要とする I 型 RNR は古くから研究がなされており、R2 二量体にある鉄 2 核とチロシルラジカルとで電子伝達を行っている。一方、Ic 型 RNR では、Mn(IV)/Fe(III)がチロシルラジカルの機能代替を行っていることが最近報告され、その分子構造の X 線構造解析がなされた[1]。触媒作用を示す Mn と Fe は酸素または OH イオンによって架橋されているとされているが、金属原子の価数と電子状態および配位子はよくわかっていない。Scheme 1 に示すように、Mn(II)/Fe(II) に酸素および電子が付加することによって Mn(IV)/Fe(III)に至り触媒活性化するとされている[2]。Mn(II)/Fe(II)の触媒活性化にいたる機構、Mn(IV)/Fe(III)の分子構造と電子状態の解明、Mn(IV)/Fe(III)の酵素作用の解明を目的に、本研究では Mn(II)/Fe(II)の酵素活性化の初期段階である酸素付加状態の分子構造と電子状態の理論的解明を行った。



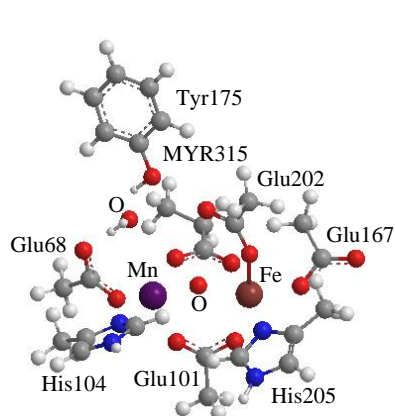
[モデリングと計算方法] Figure 1 は X 線構造解析(3EE4)をもとに構築したモデルである。Glu68、Glu101、Glu167、Glu202 は CH_3COO^- に、His104、His205 はメチルイミダゾールに、Tyr175 はフェノールに、MYR は $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$ に置き換えた。Mn(II)/Fe(II)の酵素活性化の初期段階として、X 線構造解析で示されているふたつの酸素原子を取り除き、Mn(II)と Fe(II)との間に酸素分子を配置した。この付加した酸素分子が解離し X 線構造解析で示されたふたつの酸素原子に変化すると考えられる。電子状態計算には、hybrid 型密度汎関数法である B3LYP 法を採用し、基底関数として、Mn と Fe には Wachters の DZ を、それ以外の原子には 6-31G* を用いた。異なるスピン配置を持つ Mn(II)/Fe(II)系の低スピン状態(LS)を broken symmetry (BS) 法で求め、それぞれに対応する高スピン状態(HS)を通常の非制限法で求めた。構造最適化では、ペプチド骨格につながる原子は固定し他の全ての原子は最適化した。計算には、Gaussian 03 を使用した。

[結果と考察] Figure 1 に示された X 線解析の構造では、Fe 原子は 6 配位であるが、Mn 原子は通常の 6 配位ではなく、Glu68、Glu101、His104、MYR315、O からの 5 配位であるのが特徴的である。Mn(II)/Fe(II)に酸素分子を付加した最も低スピン状態の 2 重項状態を構造最適化したのが Figure 2 である。Mn-Fe 間の酸素 2 原子は Mn-di- μ -oxo-Fe ではなく、Mn-O-O-Fe の架橋構造である。Mn-Fe の原子間距離は 3.742 Å であり、Mn(IV)/Fe(III)に対応する X 線構造の原子間距離の 3.574 Å よりは長くなっている。酸素 2 原子間では 1.410 Å であり酸素分子よりの距離よりは長くなっている。全体的に見て、得られた構造は X 線構造を保っており、酸素 2 原子を含めない構造の最適化では構造が崩れることから、Mn-Fe 間には酸素 2 原子または少なくとも 1 原子が不可欠であると考えられる。

Table 1. Low and high spin states for two complexes in two different spin configurations.

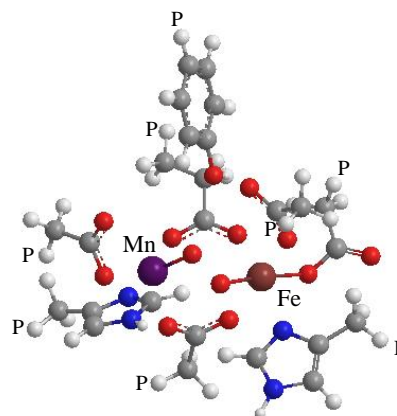
	$(C, 2S + 1)^a$	ΔE_{rel}^b	$\langle S^2 \rangle_c$	J^d	Oxidation State
1_{LS}	(-1, 2)	0.00	4.1425	-9	Mn(III)-OO(2-)-Fe(III)
1_{HS}	(-1, 10)	0.51	0.1299		Mn(III)-OO(2-)-Fe(III)
2_{LS}	(-1, 2)	4.54	3.1784		Mn(III)-OO(2-)-Fe(III)
2_{HS}	(-1, 8)	3.77	0.2234	26	Mn(III)-OO(2-)-Fe(III)

a) Total charge and spin multiplicity. b) Relative energy in unit of kcal/mol.
c) Spin contamination. d) Spin coupling constant in cm^{-1} .



MYR = myristic acid: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$

Figure 1. Modeling of Mn(IV)/Fe(III) based on X-ray (3EE4)



Mn = -4.073 Fe = 4.245 OO = 0.401

Figure 2. Optimized geometry of **1_{LS}**.

Table 1 より、**1_{LS}** では、 $\langle S^2 \rangle_c$ は 4.1425 であることから反強磁性的な spin coupling が 4 個存在することが期待され、自然軌道解析から Mn/Fe は個々の電子がそれぞれの d 軌道を占有した Mn(III)/Fe(III) である。酸素 2 原子は Mn と Fe からそれぞれ 1 個の電子が移動した OO(2-) である。**1_{LS}** 状態に対応する高スピン状態の 10 重項(**1_{HS}**)は、Table 1 より、**1_{LS}** 状態よりも 0.51 kcal/mol 高エネルギー状態である。

1_{LS} では Mn(III)/Fe(III) の各原子のそれぞれのスピンの配置が全ての d 軌道に配置された高スピン状態であるが、Fe 原子に対しては 2 個の up and down スピンが対を形成し 1 個の d 軌道を占有した低スピン状態が可能である。このスピン配置に対する Mn(III)/Fe(III) の低スピン状態と高スピン状態が **2_{LS}** と **2_{HS}** である。**2_{HS}** における Mn-Fe 距離は 3.747 Å、O-O 距離は 1.390 Å である。状態 **1** とは異なって、高スピン状態が低スピン状態より 0.77 kcal/mol 安定である。**2_{HS}** は **1_{LS}** よりも 3.77 kcal/mol 高エネルギーであることから、Mn(III)/Fe(III) の各原子が高スピン状態であり反強磁性的に結合した低スピン状態 **1_{LS}** が基底状態であると考えられる。

酵素活性化の過程では、Mn と Fe はそれぞれ高スピン配置で進行すると考えられる。2 個の電子で還元された酸素 2 原子は、2 個のプロトンによって O-O が解裂する[3]。したがって、X 線構造の Mn-O-Fe の O は OH ではなく、O が架橋していると期待される。

[参考文献]

- [1] C. S. Andersson et al., PNAS, 105, 5633 (2009). PDB ID: 3EE4.
- [2] W. Jiang et al., Science, 316, 1188 (2007).
- [3] Y. Yoshioka et al., J. Inorg. Biochemistry, 101, 1410 (2007).