

1P094

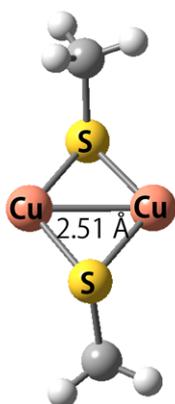
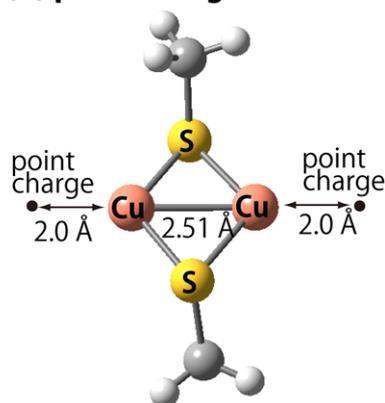
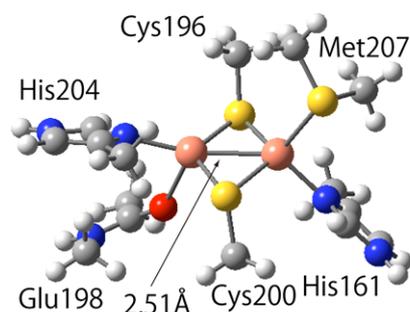
シトクロム *c* 酸化酵素、亜酸化窒素還元酵素にみられる Cu_A 部位の

Cu₂S₂ コアの電子構造の起源の理論的説明

(阪大蛋白研¹・阪大院基礎工²)○鷹野 優¹・重田育照^{1,2}・奥山折緒¹・
小泉健一¹・中村春木¹

【序】 Cu_A部位はシトクロム*c*酸化酵素や亜酸化窒素還元酵素にみられる電子伝達に働く金属中心であり、二核の銅イオンが二つのシステイン残基によって架橋され、二つのヒスチジン残基、メチオニン残基及びグルタミン酸のカルボニル基が配位している。XAS、Raman、EXAFS、EPR、X線構造解析の各種実験から、銅-銅間距離が2.34～2.59 Åと短く直接相互作用していること、そのため、酸化型 (Cu^{II}-Cu^I: S=1/2) が、錯体モデルのように π_u 基底状態ではなく、 σ_u^* 基底状態をとることが報告されている。この電子状態では蛋白質の与える非対称な場であっても不對電子の非局在性を維持でき、速い電子移動が可能となっている [1]。さらに σ_u^* 基底状態ではCu₂S₂コアの構造変化に対するエネルギー変化が小さいことも報告されており、電子移動反応での再配置エネルギーが低くなることが期待できる [2]。以上のことからCu_A部位では電子移動をスムーズに行うために電子構造がつくられているが、そのような特異な電子構造に何が必要なのかといった最小構成要素を明らかにするために、密度汎関数法を用いてCu_AサイトのCu₂S₂コアの電子構造を詳細な解析を行った [3]。

【計算方法】 本研究ではウシシトクロム*c*酸化酵素のX線結晶構造解析の結果を用いて(PDB ID: 1V54) [4]、Cu_A活性中心のCu₂S₂コアの構造をモデル化した(core model (図1A))。Cu₂S₂コアは二核の銅イオンとそれらに架橋するシステイン残基からできている。計算ではシステインのC_α炭素は水素原子に置き換えた。密度汎関数法の最適な汎関数を選択するために、 σ_u^* 状態と π_u 状態のエネルギー差に関して、BLYP法、B3LYP法、BHandLYP法、PW91法、PBE0法、M06法とCCSD(T)法、CCSD法の結果を比較した。基底関数には銅イオンにWachters+*f*、硫黄、炭素、窒素、酸素、水素に6-311++G(df,pd)を用いた。次にCu₂S₂コアへの配位子の配位効果を調べるために、Cu₂S₂コアの銅-銅結合軸に沿ってCuイオンから2.0 Å離れた位置に点電荷を置き、 σ_u^* 状態と π_u 状態のエネルギー差に関して静電相互作用の効果を計算した(point charge model (図1B))。さらにCu_A活性中心の第一配位圏(His161, Cys196, Cys200, His204, Met207)までとりこんだモデル(ligand coordinating model (図1C))とそれらを点電荷で置換したモデル(ligand point charge model)を作成し配位子の効果を調べた。モデルの作成にあたって配位子のC_α炭素は水素原子に置き換えた。

(A) core model**(B) point charge model****(C) ligand coordinating model**図1. Cu_A部位のモデル

【結果・考察】 まず銅-硫黄系の最適な汎関数を決定するために、Cu₂S₂コアにおける σ_u^* 状態と π_u 状態（図2）のエネルギー差、スピン密度、イオン化ポテンシャルをCCSD(T)法、CCSD法の結果と比較したところ、M06法が全ての場合に関して最良の結果を与えた。次にM06法を用いて、Cu₂S₂コアの電子構造を詳細に調べた結果、Cu₂S₂コアそのものはCu_A部位と異なり π_u 状態が安定になることが明らかとなった。また σ_u^* 状態と π_u 状態のエネルギー差に関する銅-銅間距離依存性を調べたところ、さまざまなX線結晶構造解析で報告されている銅-銅間距離の範囲内では π_u 状態の方が安定であった。point charge modelを用いた静電相互作用の効果に関しては、電荷が-1以下になると強い静電相互作用により銅-銅の $d\sigma^*$ 軌道が上昇し、 σ_u^* 状態が基底状態になった。このことから負電荷をもつアスパラギン酸やグルタミン酸などの配位が σ_u^* 基底状態を与えると期待される。また、ligand coordinating modelおよびligand point charge modelの結果から、Cu_A部位の場合では配位しているヒスチジンの静電相互作用だけでなく軌道相互作用も働くことで σ_u^* 状態を基底状態にしていることが明らかとなった。

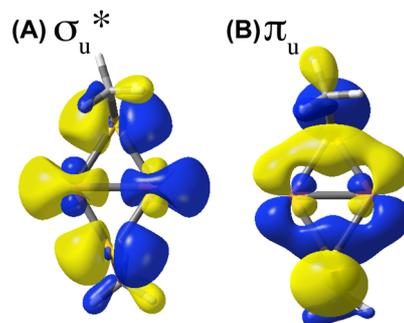


図2. core modelのSOMO

【参考文献】

1. E. I. Solomon et al. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 623–638.
2. M. H. M. Olsson, U. Ryde *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7866–7876.
3. Y. Takano et al., *Int. J. Quantum Chem.* in press.
4. T. Tsukihara et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 15304–15309.