

鉄含有ケルセチンジオキゲナーゼの酸素活性化機構に関する理論的研究

(大阪大院・理¹, 広島市大院・情報科学²)○沼田峻宏¹, 齋藤徹², 川上貴資¹, 山中秀介¹, 奥村光隆¹Theoretical study on O₂ activation by iron-containing quercetin 2,4-dioxygenase(Graduate School of Science, Osaka Univ.¹Graduate School of Information Sciences, Hiroshima City Univ.²)○Takahiro Numata¹, Toru Saito², Takashi Kawakami¹,Shusuke Yamanaka¹, Mitsutaka Okumura¹

【序】

Quercetin 2,4-dioxygenase(2,4-QD)はフラボノイド誘導体の quercetin (Que) の O-ヘテロ環を開裂すると同時に一酸化炭素を放出する金属酵素である[1]。X線結晶構造で判明している活性部位は、中心金属に TypeII の銅、鉄、ニッケルを有しており、それぞれ3つのヒスチジンと1つのグルタミン酸が配位している。酸素分子が活性部位に結合する際、(I)中心金属(M)に攻撃するか、(II)基質(Que)に攻撃するか、実験・理論両方のアプローチで議論されている[2]。我々は、今まで銅含有2,4QD(Cu-QD)に関して、(I)の方がエネルギー的に有利だと提示した。また、(II)の反応で開始しても、alkylperoxo 中間体[Cu-O-O-C(Que)]を必ず経由する事が分かった[3]。Fe-QDの酵素活性はほぼ無く、Cu-QDよりも小さいと報告されている[4]。しかしながら、触媒活性が金属の違いにより大きく異なる理由については明らかでない。

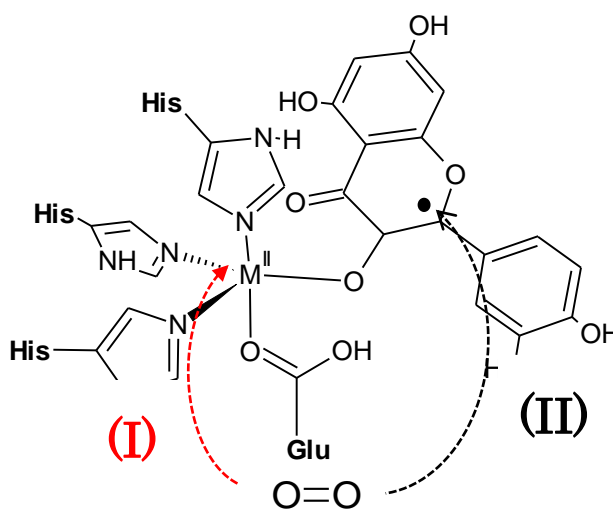


図1 2,4-QD 活性中心における酸素活性化機構 (中心金属 M = Cu, Fe, Ni)

【研究目的・計算】

そこで本研究では、鉄含有 2,4-QD(Fe-QD) (PDB:1Y3T)を計算対象とする。一方 2,4-QD を模倣した人工錯体も複数合成されており、2,4-QD の反応と同等の生成物を与えられると確認されているが、中心金属と反応性の関係では Fe 中心のほうが Cu 中心よりも反応性が高いと報告されている[5]など、酵素とモデル錯体では異なる結果を表している。本研究では、反応性には何が重要な因子であるかどうか提供することを目的とする。Fe-QD の酵素反応の全反応経路を明らかにし、Cu-QD との相違点を示すことにより、中心金属の違いが反応性(反応機構、活性化エネルギー)にどう影響を与えるか検討を行った。図2のような活性部位を切り出したモデルを構築し、計算は Gaussian09 プログラムを使用し、UB3LYP/SVP レベルで構造最適化

を行い、それぞれ停留点においてエネルギーを比較した。

【結果・考察】

最初の酸素分子の結合は、(I)の方がエネルギー的に優位であることが分かった。また酸素分子が Fe^{2+} に攻撃する際、 Fe^{2+} から O_2 に電子移動が起きることで Metal-superoxo 中間体(a)を生成する。(a)から alkylperoxo 中間体(b)を経由し、endperoxide(EP)中間体に至り、生成物(P)を生成する全反応経路が得られた。

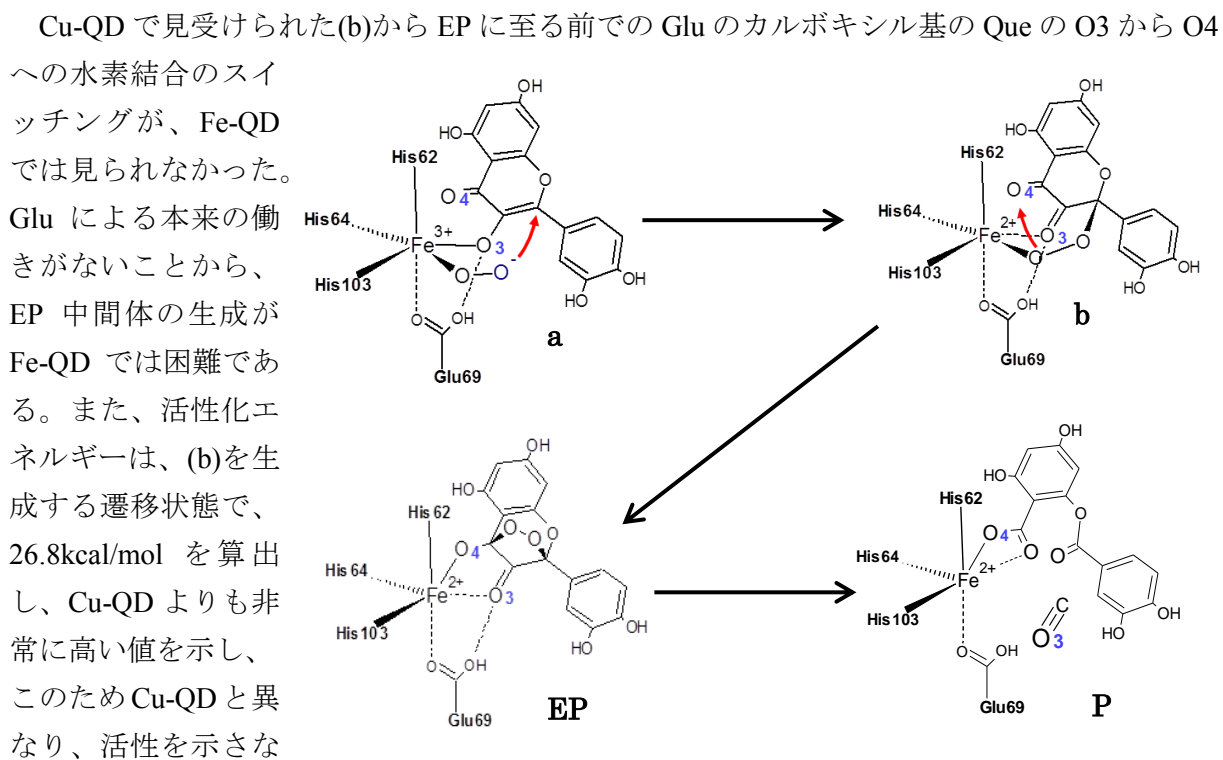


図 2: Fe-2,4-QD の酵素反応における反応経路の詳細

【参考文献】

- [1] R. A. Steiner, K. H. Kalk, B. W. Dijkstra, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 16625, (2002).
- [2] J. S. Pap et al. *Coord. Chem. Rev.* 254, 781 (2010); S. Fiorucci et al. *ChemPhysChem.* 5, 1726 (2004).
- [3] T. Saito et al. *J. Phys. Chem, B* 119, 6952 (2015).
- [4] Matthew R Schaab et al. *Biochemistry* 45, 1009-1016 (2006)
- [5] Ying-Ji Sun et al. *Inorg. Chem*, 52, 10936-10948 (2013)