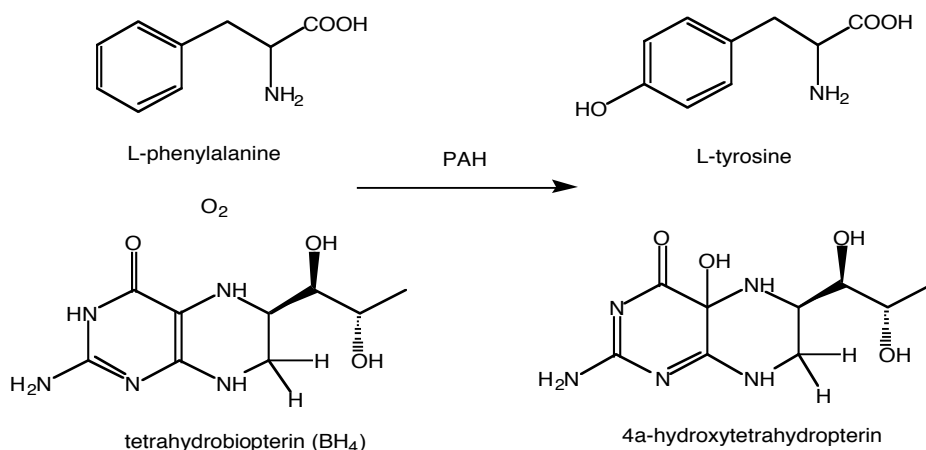


3Ca04 フェニルアラニンヒドロキシラーゼ (PAH) に関する理論的研究

(九大先導研) ○塩田淑仁・吉澤一成

【序】 フェニルアラニンヒドロキシラーゼ(PAH)はフェニルアラニンのベンゼン環を水酸化してチロシンに変換する酵素である。スキーム 1 に示すように、この反応は補酵素としてプテリンの関与する反応で、酸素分子を利用して水酸化を起こす。他の芳香族アミノ酸の水酸化酵素であるチロシンヒドロキシラーゼ(TyrH)やトリプトファンヒドロキシラーゼ(TrpH)とともに PAH は共通の反応中心をもち、活性点であるノンヘム鉄はいずれも 2 つのヒスチジン、1 つのグルタミン酸と 3 つの水分子の配位した構造をもつ。これらの酵素はアミノ酸の代謝過程で重要な働きをしており、過去に多くの研究がなされている。しかし、その活性化の仕組みや反応機構は分子レベルでは未だによく分かっていない。そこで本研究では、PAH の金属活性点のモデル化を行い、密度汎関数法を用いて活性種の構造を検討し、フェニルアラニンとの反応性を考察した。

スキーム 1



【方法】 計算方法は B3LYP 法、基底関数は鉄以外には D95**基底、鉄の基底関数には Wachters-Hay 基底を用いた。反応物、遷移状態、中間生成物及び生成物の構造最適化を実行した。安定構造、および遷移状態の構造を最適化した後に振動解析を行い、安定構造、遷移状態であることを確認した。スピン多重度は 3 重項、5 重項、7 重項の各スピン状態を考えた。

【結果】我々は活性点に配位した水分子のうち1つをオキシに置換した図1のようなモデル(O)を用いた。基底状態は5重項状態であり、3重項状態と7重項状態はそれぞれ、2.7、11.6 kcal/mol だけエネルギー的に不安定である。量子化学計算によって得られた反応経路は、まず基質であるフェニルアラニンがOと安定な反応物錯体(R)を作る。ついでC-H

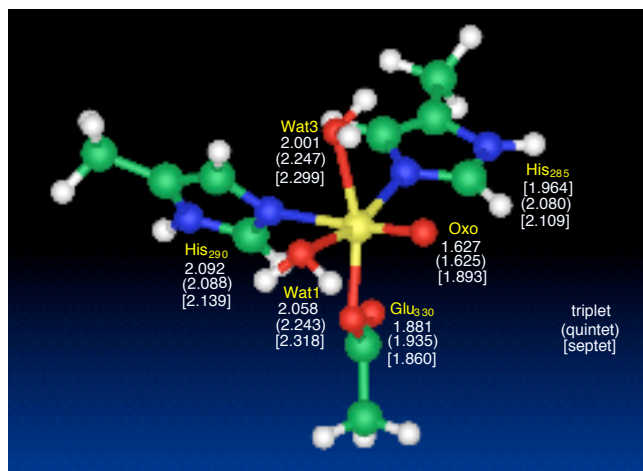


図1 PAHの活性点モデル

結合開裂の遷移状態 TS1 を経て、ラジカル中間体(I)となる。さらに酸素と炭素ラジカルが再結合する遷移状態 TS2 を通って生成物錯体(P)に至る。図2に反応のエネルギーダイアグラムを示す。基底状態は最初5重項状態であるが、Iでは7重項状態が最安定となるが、その後は不安定化してゆく。3重項状態は常に5重項状態よりも不安定なので、実質的にこの反応は5重項状態でのみ進行することが明らかとなった。また、遷移状態 TS1 と TS2 のポテンシャルエネルギー比較から最初の水素引き抜き過程が律速段階であることがわかった。

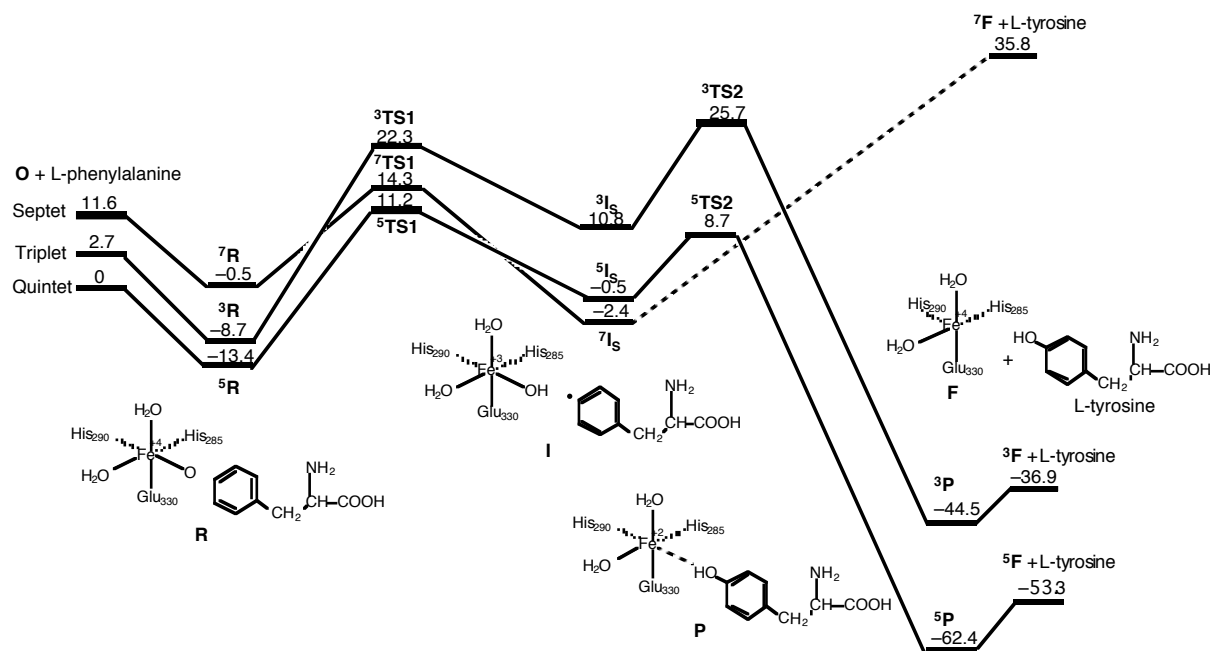


図2 エネルギーダイアグラム