

4P131 酸素分子の付加した酸化型シトクロム *c* 酸化酵素の密度汎関数計算 (三重大工) ○三谷 昌輝・羽場 優樹・吉岡 泰規

【序文】シトクロム *c* 酸化酵素には、活性部位にある遷移金属二核中心の酸化状態により、Fe(II)–Cu(I)の還元型とFe(III)–Cu(II)の酸化型の2種類が存在する。還元型シトクロム *c* 酸化酵素は酸素分子を還元して水分子を生成する反応を触媒し、多数の理論的および実験的研究から反応機構が検討されている。一方、酸化型シトクロム *c* 酸化酵素は酸素分子の還元反応には関与せず、理論的にも実験的にもあまり研究は行われていない。本研究では、酸化型シトクロム *c* 酸化酵素の反応中心に着目して電子構造の解析を行った。

また、酸化型シトクロム *c* 酸化酵素のX線構造においてFe–Cu二核中心を架橋する2つの酸素原子が確認されているが(図1)、これがどのような化学種であるのかは特定されていない。本研究では、X線構造の酸素原子を酸素分子と仮定して密度汎関数計算による構造最適化を行い、X線構造との比較から架橋酸素が酸素分子である可能性を検討した。

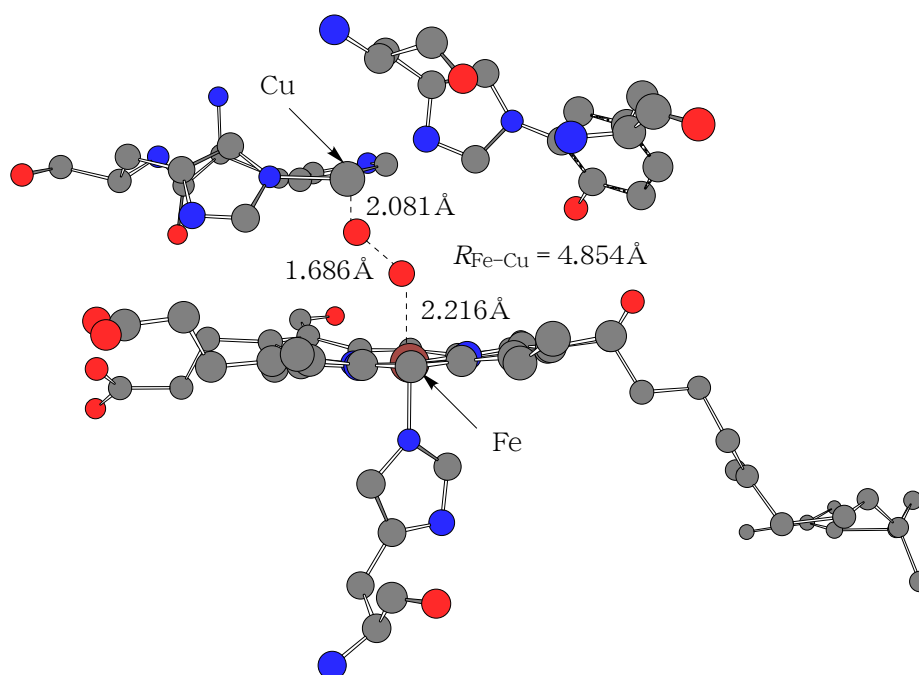


図1. 酸化型シトクロム *c* 酸化酵素の反応中心のX線構造 (PDB : 2OCC)

【計算】酸化型シトクロム *c* 酸化酵素の反応中心モデルとして、X線構造を基に次のような反応場モデルを構築した(図2)。①ヘム a_3 の置換基は、ポルフィリン環との π 共役が考えられるホルミル基とビニル基を残して、ファーネシルエチル基は–CH₂OH基に置き換える。②アミノ酸残基は、ヒスチジンをイミダゾールに、チロシンをフェノールに置き換える。③タンパク質主鎖は、ペプチド結合を取り除き、水素原子で終端する。また、我々の還元型シトクロム *c* 酸化酵素の反応機構に関する研究から、反応場にはアミノ酸残基と水素結合をしている水分子が存在すると考えられるので、水分子を追加してモデル分子とした。

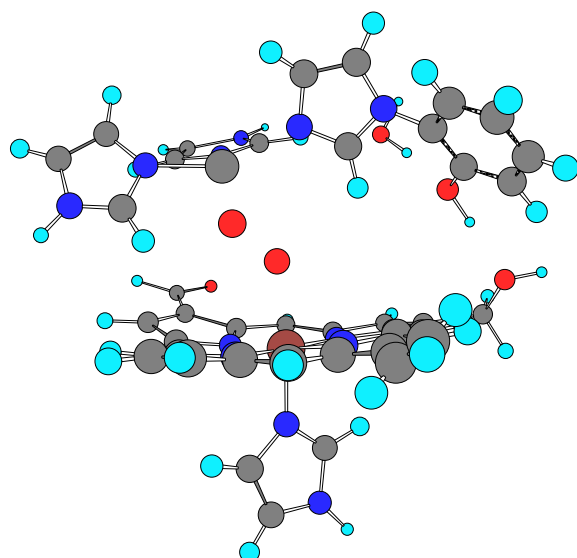


図2. 酸化型シトクロム *c* 酸化酵素の反応中心モデル

電子構造計算には非制限型の B3LYP 法を適用し、基底関数には Wachters の DZ 基底 (Fe・Cu)、6-31G* (水分子・フェノール分子・架橋酸素分子の酸素原子)、3-21G (他の原子) を用いた。Fe-Cu 二核中心とポルフィリン環およびアミノ酸残基は X 線構造に固定し、水分子とフェノール分子の水素原子および架橋酸素分子のみを構造最適化した。

酸化型シトクロム *c* 酸化酵素の電子配置は 1 重項と 3 重項が可能であり、酸素分子は 3 重項であるので、反応中心の電子配置として 1 重項・3 重項・5 重項を検討した。

【結果】 反応中心の電荷密度とスピン密度を表 1 に、架橋酸素の最適化構造を表 2 に示す。

表 1 より、スピンは Fe-Cu 二核中心と架橋酸素分子およびポルフィリンにほぼ局在していることがわかる。また、酸素分子とポルフィリンに 1 個ずつのスピンが現われていることから、ポルフィリンから酸素分子への電子移動が起きていると考えられる。

表 2 より、架橋酸素の原子間距離は X 線構造よりも短くなっていることがわかる。最適化構造は酸素分子が Fe に配位したような構造となっているが、Fe-Cu 二核中心を架橋するという特徴は保持されていた。X 線構造との比較から、Fe-Cu 二核中心を架橋する酸素は酸素分子ではない可能性が示唆される。

表 1. 酸化型シトクロム *c* 酸化酵素の反応中心の電荷密度とスピン密度

電子配置	電荷密度				スピン密度			
	Fe	O-O	Cu	Por	Fe	O-O	Cu	Por
1 重項	1.696	-0.588	1.154	-0.074	1.086	-1.054	0.615	-0.991
3 重項	1.697	-0.575	1.148	-0.056	-1.068	1.161	0.611	0.948
3 重項	1.699	-0.607	1.157	-0.043	0.995	1.013	-0.617	0.951
5 重項	1.703	-0.607	1.146	-0.012	1.022	1.078	0.606	0.975

表 2. 酸化型シトクロム *c* 酸化酵素の反応中心における架橋酸素の最適化構造

電子配置	Fe-O	O-O	O-Cu
1 重項	2.009	1.307	2.186
3 重項	2.045	1.304	2.170
3 重項	2.019	1.308	2.165
5 重項	2.037	1.310	2.162
X 線構造	2.216	1.686	2.081