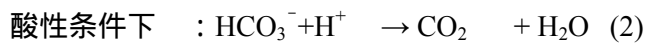
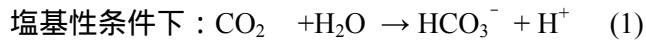
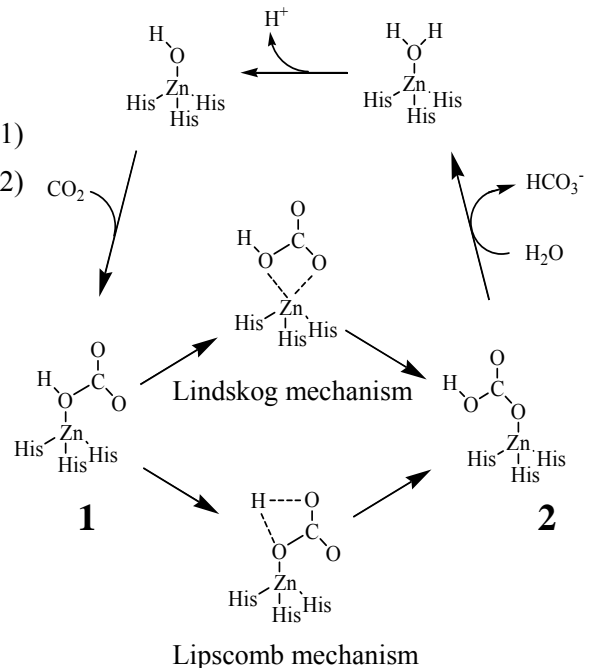


【序】

炭酸脱水酵素(CAII)は活性中心に Zn を有するコピキタスな酵素であり、動植物ならびに微生物に広く分布している。CAII は塩基性条件下では(1)式に示すように CO_2 を炭酸に変換し、酸性条件下では(2)式に示すように炭酸を CO_2 に変換する。



Scheme 1 に示した触媒サイクルはこれまでの実験結果から塩基性条件下において妥当と考えられているものである¹⁾。この機構で HCO_3^- がコンフォメーション変化する段階(1 → 2)は未だ詳細が明らかでなく、2つの機構が提案されている。Lindskog mechanism では Zn に配位する酸素原子が入れ代わるのに対して、Lipscomb mechanism では、プロトンが酸素原子から別の酸素原子に移ることで反応が進行する。本研究では電子状態理論により、塩基性条件下での反応機構の解明を試みた。



Scheme 1 塩基性条件下における触媒サイクル

【計算方法と計算に採用した酵素モデル】

計算には2種類の酵素モデルを採用した。図1に示したモデル(モデル1)と、点線内の原子を省略し水素原子で置換したモデル(モデル2)である。モデル1においては灰色の原子を構造最適化し、その他の原子はPDBの1ca2に従って固定した。モデル2ではZnに配位したOH基とThr199、Thr200のOH基、および CO_2 、 H_2O を構造最適化した。

また、 CO_2 はHis94とHis119の間から活性中心に接近することが実験から知られている²⁻⁵⁾ので、 CO_2 の初期配置はHis94とHis119の間に設定した。活性中心近傍には多数の水分子が存在するが、本研究では1つの水分子のみを考慮した。

計算パッケージはGaussian98を、計算方法

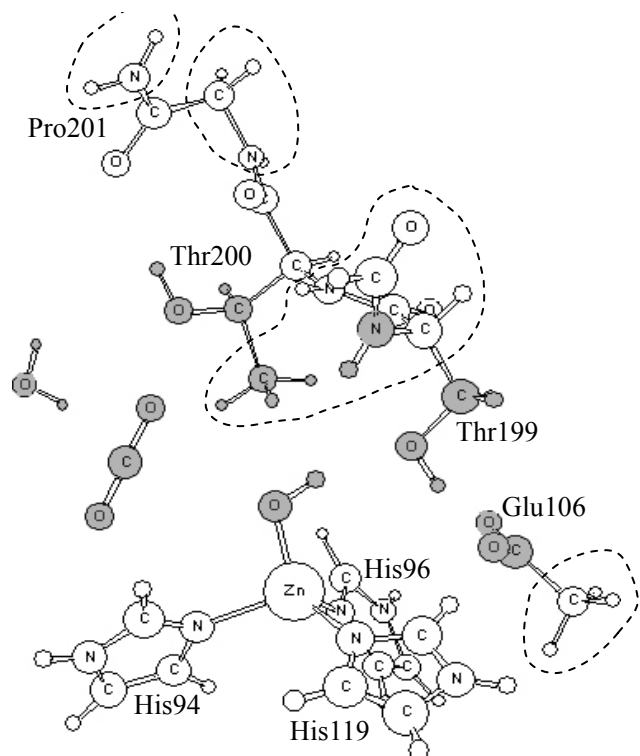


図1 計算に採用した酵素モデル

は DFT/B3LYP 法を用いた。基底関数は、酸素原子には 6-31+G*、その他の原子には 6-31G*を用いた。安定状態、遷移状態を確認するための振動解析は、一部の原子を固定したことを考慮して行った。

【結果と考察】

以前、行われた理論的研究⁶⁾では Zn に配位した 3 つの His と Thr199、Glu106 だけがアミノ酸残基として酵素モデルに含まれていた。本研究ではこれに加えて、反応機構に関与することが想像された Thr200、Pro201 をモデルに取り入れた。Thr200 の OH 基は、Thr200、Pro201 のペプチド結合由来のカルボニル酸素と水素結合を形成した配向が最も安定であることが分かった。この配向は他と比べて 10 kcal/mol 以上も安定であることから Thr200 の OH 基は回転できないものと考えられる。

図 2 に Lindslog mechanism の反応過程の一部を示した。Thr199 の OH 基と水素結合を形成していた HCO₃ の水素原子は、遷移状態を経由して Thr200 の OH 基と水素結合を形成する。このため、HCO₃ がコンフォメーション変化する過程において Thr200 の存在は無視できない。この過程の活性障壁はモデル 1、2 ともに 7 kcal/mol 程度と計算され、モデルへの依存性はない。

これまでは、プロトンが酸素原子から別の酸素原子に飛び移る Lipscomb mechanism を支持する結果が報告されていた⁶⁾。しかし、この論文は本研究でその重要性が明らかとなった Thr200 を考慮しておらず検討が不十分である。当日は、モデル 1 により計算された 2 つの機構の構造変化、エネルギー変化を示し、いずれの機構で反応が進行するのかを報告する。

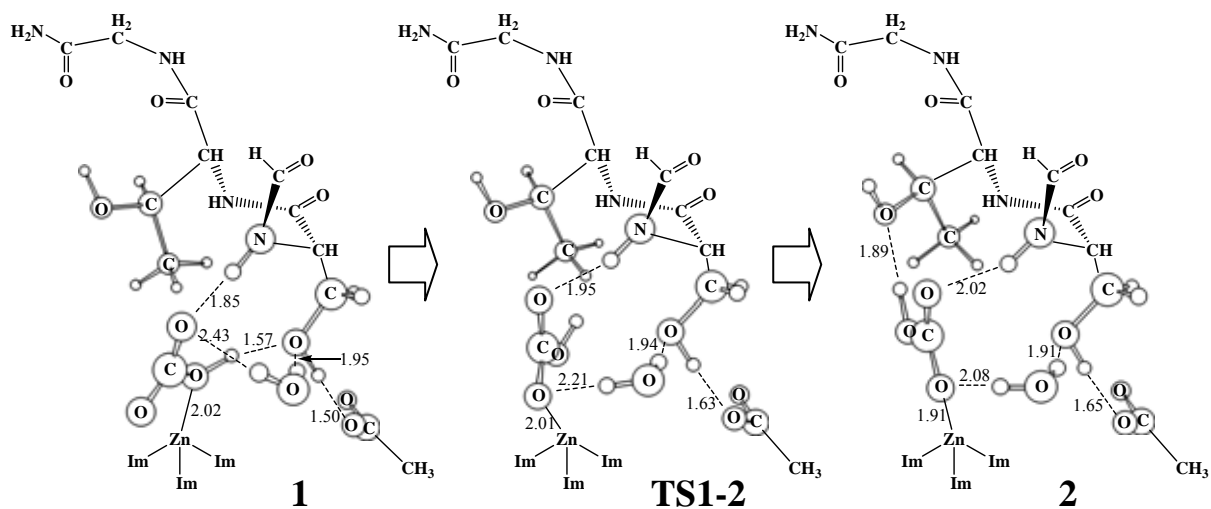


図 2 Lindslog mechanism での HCO₃ のコンフォメーション変化

Im=イミダゾール

- (1) Merz, K. M. Jr; Hoffmann, R.; Dewar, M. J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5636-5649.
- (2) Carol, A. F.; Tiffany, L. C.; Joseph, F. K. *Biochemistry* **1991**, *30*, 11054-11063.
- (3) Satish, K. N.; David, W. C. *Biochemistry* **1993**, *32*, 4506-4514.
- (4) Joseph, F. K.; Fazale, R.; Richard, A. D.; Carol, A. F. *Biochemistry* **1993**, *32*, 4496-4505.
- (5) Satish, K. N.; Peter, A. L.; David, W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3659-3660.
- (6) Bottoni, A.; Lanza, C. Z.; Miscione, G. P.; Spinelli, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1542-1550.