

3A14

植物体内におけるエチレン生合成機構に関する理論的研究 4

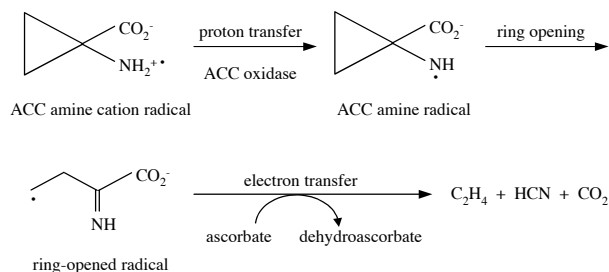
(立教大理^a・エコール・ノルマル・シューペリウール^b)

○伊藤三香^a, 李秀榮^b, 常盤広明^a

【序】 酵素反応に見られる高効率、高選択性を人工的に実現することは、化学者の長年の夢であり、酵素反応の機構を解明することは、化学の最も重要な課題の一つである。酵素反応の高効率、高選択性は、酵素—基質間に働く水素結合やファンデルワールス力といった弱い相互作用による遷移状態の安定化により説明されており、最近では、局所的な水分子を介した基質近傍の水素結合ネットワークについて、その役割が盛んに議論されている。一方、これまで得られた静的な描像に加え、基質を含む、活性中心近傍の柔軟な構造変化が酵素活性で重要な役割を果たすことが示唆されている。さらに、基質配向性の小さな変化が反応速度に大きな変化をもたらすことは興味深い。^{†1} 水分子を含む基質—酵素間相互作用の微視的描像を明らかにし、その変化と活性中心の構造変化、及び反応機構との相関を考察することで、酵素反応機構の本質に迫れるものと期待される。

本研究では、酵素によって触媒される生物体内反応の中でも、単純かつ洗練された反応の一例として知られている、エチレン生合成反応に着目する。エチレンは、植物の成長や発展において重要な役割を果たす植物ホルモンとして知られ、その生合成経路については多くの実験的研究がなされてきた。^{†2} しかし、この反応を触媒する酵素である 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase (ACCO) は、非常に不安定な非ヘム鉄タンパク質である。活性中心近傍の詳細な構造、および反応機構については未だ十分明らかでない。

本研究では、実験的に知られている生合成経路のうち、反応に不可欠な中間体とされる ACC アミンカチオンラジカルからの酸化分解 (Scheme 1) に着目する。初歩的な段階として、ACC と水 6 分子からなるモデル系を考え、活性中心を取り巻く水素結合ネットワーク環境の変化が、ラジカル種の安定化、及び反応機構に及ぼす影響について量子化学計算を行った。



Scheme 1. Reaction pathway of ethylene biosynthesis.

【方法】 量子化学計算には、波動関数として密度汎関数 B3LYP 法を、基底関数として Pople らの 6-31+G** を用いた。アミンカチオンラジカルからのエチレン脱離反応について、孤立系及び、周辺との相互作用下での反応のポテンシャルエネルギー曲線を求めた。周辺との相互作用は、連続誘電体モデル ($\epsilon = 20.0$)^{†3}、及び水 6 分子との相互作用を考えた。反応経路は、固有反応座標 (intrinsic reaction coordinate; IRC) 解析により求めた。全ての計算には、GAUSSIAN98 を使用した。

【結果】

1) ラジカル種の安定化

反応に不可欠とされる ACC アミンカチオンラジカルに対して、孤立系及び相互作用系において構造最適化を行った。(Figure 1) 孤立系、及び連続誘電体モデルを用いた相互作用系では、スピンのカルボニル基上に分布しており、アミンカチオンラジカルは安定種として求ま

らない。一方、水6分子との相互作用系では、スピンの主にアミン上に分布している。このことから、アミンカチオンラジカルが安定に存在するためには、基質周辺との局所的な相互作用が必須であることが伺える。

2) 反応機構に及ぼす局所的相互作用の影響

水6分子との相互作用下で反応のポテンシャルエネルギー曲線を求めた結果、エチレン生成は、1) アミンカチオンラジカルから周辺水分子へのプロトン移動、2) 三員環の部分壊裂を経て、3) エチレン放出へと至ることがわかった。2) の三員環の開環反応について計算された速度定数は $9.01 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ (298.15 K)であり、実験値 $>10^8 \text{ s}^{-1}$ (298.15 K)^{†4} と良い一致を示す。1) のプロトン移動によって、水素結合ネットワーク構造が大きく変化する。この変化によって、基質部分の遷移状態及び中間体の構造は、孤立系のものとは顕著に異なる。孤立系では、基質のNCCO部分がほぼ平面を保ったまま反応が進行するのに対し、相互作用下ではNCCO部分がねじれて反応が進行する。このことから、周辺環境との局所的相互作用の存在により、基質部分の構造が柔軟に変化しうることを示唆される。また、1) のプロトン移動は、その後続くエチレン生成過程に大きな影響を及ぼすものと考えられる。

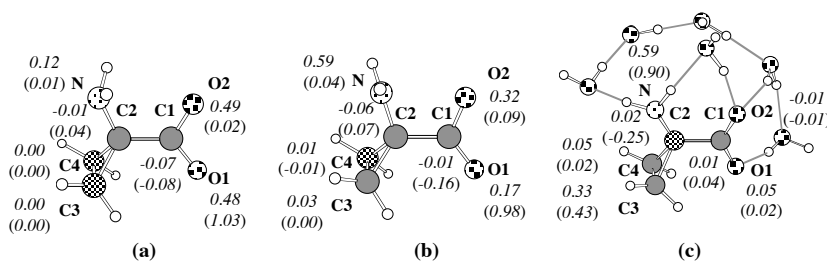


Figure 1. The structures and atomic spin densities of the ACC amine cation radical in the isolated system (a), aqueous solution using the PCM (b), and hydrogen-bonding network (c) optimized at the B3LYP/6-31+G(d,p) level. The numbers in parentheses are those obtained at the MP2/6-31+G(d,p) level.

【考察】 小さなモデル系の計算に基づく描像ではあるものの、基質周辺の構造変化が、基質部分の構造、及び反応機構に著しい影響を及ぼすことは興味深い。生体内の環境では、酵素の柔軟な構造変化が、水素結合などの弱い相互作用を介して、基質の構造や反応機構を巧みに制御しているものと考えられる。本モデル系の構造は、三日月形の水の鎖を時計の長針に見立てると、長針の動きによって、短針にあたる基質部分の動きが誘発されているように見える。したがって、「時計仕掛け」の立体配座変化を伴う反応機構と見て取れる。(Figure 2) 今後、酵素反応場をより現実的に記述し、QM/MM計算などを用いて、酵素反応場の構造変化と、基質の構造及び反応機構との関連を検討してゆく。

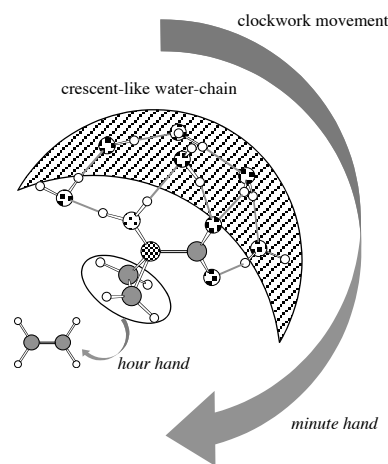


Figure 2. Proposed crescent-like water-chain clock model for ethylene biosynthesis.

【参考文献】

- † 1 Mesecar, A. D.; Stoddard, B. L.; Koshland, D. E., Jr. *Science* **1997**, *277*, 202–206.
- † 2 Rocklin, A. M.; Tierney, D. L.; Kofman, V.; Brunhuber, N. M. W.; Hoffman, B. M.; Christoffersen, R. E.; Reich, N. O.; Lipscomb, J. D.; Que, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 7905–7909.
- † 3 Antosiewicz, J.; MacCammon, J. A.; Gilson, M. K. *Biochemistry* **1996**, *35*, 7819–7833.
- † 4 Pirrung, M. C. *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 711–718.