

シトクロム c 酸化酵素の酸素還元反応による水分子 生成機構について

(三重大工) 吉岡泰規

【序】シトクロム c 酸化酵素(CcO)はミトコンドリア内膜に存在し、酸素分子を水分子に4電子還元する反応を触媒する電子伝達系の最終酵素である。この反応機構については、実験サイドから多くの提案がなされているものの未だに確定していないのが現状である。我々は、水分子の生成機構の解明と還元過程での電子状態の変化の解明を理論化学計算から試みた。

【活性部位のモデル】CcOの活性部位において、ヘム a には1個のヒスチジンが配位し Cu には3個のヒスチジンが配位し、そのうち1個のヒスチジンはチロシンと共有結合を形成している。理論計算をタイムリーに実施しさらに活性部位の性質を損なわないように、ヒスチジン残基はイミダゾール基にチロシンはフェノールに置き換え、ヘムの置換基も還元反応に重要と思われるものを残した。

【計算方法】生成機構を電子論的な立場から解明する目的で、電子相関効果を取り入れた密度汎関数法である B3LYP 法を用いて計算を行った。構造に関しては、酸素分子、水分子、および反応に関与する原子のみを最適化した。

【結果・考察】His290 と Tyr244 との間に同時に水素結合を有する水分子が1個存在し、この水分子から Tyr244 の OH、ファルネシルエチル基の酸素原子、さらに、別の水分子へと水素結合のネットワークがあり、K-channel に連結していることが判った。反応は、酸素分子が Fe に結合した Fe-OO を形成することから開始されることには意見が一致している。その後、Fe-OOH が形成されると多くの提案がなされているが、この Fe-OOH 形成の機構は未だに確定していない。我々は、この K-channel からプロトンが供給されると考えるのは合理的であり、His290 と Tyr244 との間の水分子をヒドロニウムイオンに変えて構造の最適化を行い WPT 機構を提案した(Chem. Phys. Lett., 374, 45(2003))。

この WPT 機構では、ヒドロニウムイオンが Fe-OO に接近し、酸素・酸素間の距離が 2.6 Å 付近でプロトンを Fe-OO に渡した後、水分子は元の水素結合の位置に戻り Fe-O-O-H が形成される。すなわちこの水分子は還元反応に必要な水素イオンを運搬する役割を担っている。プロトンを Fe-OO に渡すことによって、Fe 原子と OO にスピンの局在化した1重項ビラジカル状態であった Fe-OO が、down-spin が鉄原子に局在化し up-spin が Cu とポルフィリン環に非局在化した1重項ビラジカル状態の Fe-OOH に変化する。この時、Cu 原子は1価から2価に変化する。次に、活性部位付近に存在するヘム a から電子が供給されるとして活性部位に電子を注入すると、2重項状態である Fe-OOH が形成される。注入された電子は Cu とポルフィリン環に非局在化した軌道を占有し Cu 原子は1価に復帰する。この間、Fe 原子は3価のまま変化せず局在化したスピン1個を保持し続ける。

さらに水分子をヒドロニウムイオンに変えると、Fe-OOH 形成と同様に WPT 機構で Fe-OOH₂ が形成される。しかし、Cu 原子は2価に変化せず1価のままである。次に、活性部位に電子を注入すると Fe-OOH₂ から OO 結合が切れ H₂O が形成され水素結合によって保持されながら反応系外へと押し出される。