

## 【研究简报】

碳酸脱水酶催化  $\text{CO}_2$  可逆水化机制的理论研究曹泽星<sup>①</sup> Miquel Solà<sup>②</sup> Miquel Duran<sup>②</sup> 张乾二<sup>①</sup>

(①厦门大学化学系, 固体表面物理化学国家重点实验室, 厦门 361005;

②Institute of Computational Chemistry, University of Girona, Spain)

关键词 碳酸脱水酶  $\text{CO}_2$  可逆水化 量子化学计算

碳酸脱水酶(Carbonic anhydrase, CA)是一种含二价 Zn 的金属酶,对  $\text{CO}_2$  可逆水化这一重要过程具有极高催化活性. CA 在  $\text{CO}_2$  可逆水化过程中的生理活性与催化机制是酶学、生物学和生物化学等学科关心的重要课题<sup>[1-4]</sup>. CA催化 $\text{CO}_2$ 可逆水化整体上包括以下4个过程:

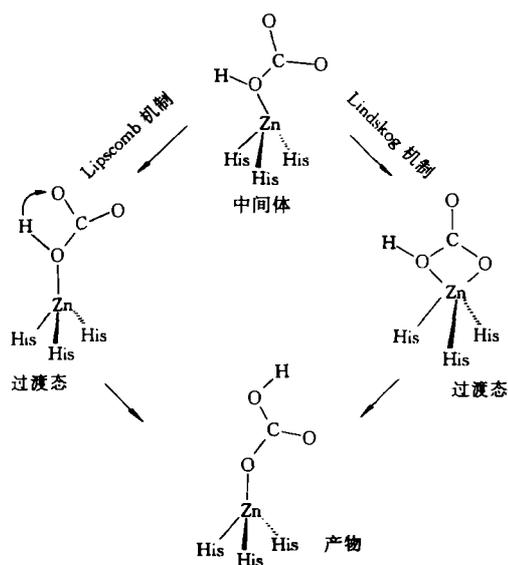
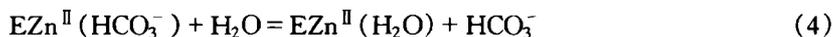
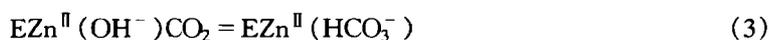
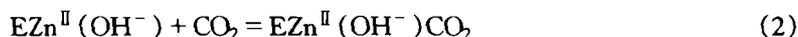
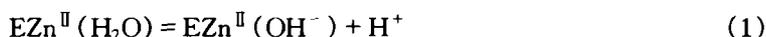


图1 形成  $\text{EZn}^{\text{II}}(\text{HCO}_3^-)$  的 Lipscomb 机制、Lindskog 机制

过程(3)有两种可能机制,即 Lipscomb 质子转移机制与 Lindskog 氧亲核进攻  $\text{Zn}^{\text{II}}$  机制(见图1)<sup>[5,6]</sup>. 实验和理论对这两种机制进行了广泛探讨,两种机制都受到了来自不同理论计算方法和实验事实的支持<sup>[2,3,5]</sup>. 然而,从一般化学成键的观点看,在 Lindskog 机制中,中间体(I)经过渡态(I)很难直接变成产物(I). 此外,在 Lipscomb 过程中,质子迁移的直接产物应为次稳定产物(II),通过 HO 的转动才能生成产物(I).

到目前为止,由于过渡态定位上的困难,有关反应(3)的详细反应途径信息还鲜为人知. 本文采用 3-21G 基组在 *ab initio* SCF 和 MP2 水平上,对 Lindskog 机制进行了调查. 同时,还进行了甲基替代  $\text{OH}^-$  中质子的比较研究,获得了 Lindskog 机制的完整反应途径信息. 无疑,这些结果对探讨酶催化微观动力学

22:221~227

8 件小南,周百成,曾呈奎. 藻胆蛋白和高等植物类囊体之间的能量传递. 植物学报,1993,35:657~663

9 赵东序,容寿榆,方昭希. 蓝藻藻胆体与类囊体膜之间光能传递的研究. 植物学报,1996,38:216~222

(1996-10-17 收稿,1997-01-15 收修改稿)

是重要的.

## 1 计算方法

所有全电子Hartree-Fock自洽场计算采用3-21G基组. 相关能估算应用Moller-Plesset二级微扰方法(MP2). 由于计算上的限制, CA 活化位置中的 3 个咪唑基团 His94, His96 和 His119 用 3 个  $\text{NH}_3$  配体模拟. 这样, 活化位置的模型结构为  $(\text{NH}_3)_3\text{Zn}^{\text{II}}(\text{OH}^-)$ . 许多理论研究指出了这种用  $\text{NH}_3$  替代咪唑的合理性<sup>[5]</sup>. 中间体、过渡态和产物的平衡结构由 Schlegel 方法获得. 优化中,  $\text{NH}_3$  被冻结了, 其 N—H 键长为 0.102 nm, 键角 HNH 为四面体键角, 碎片  $(\text{NH}_3)_3\text{Zn}^{\text{II}}$  保持  $\text{C}_{3v}$  对称性. 位能面上稳定点和过渡态由 Hessian 矩阵正确的本征值数目确定. 通过 IRC 计算, 把中间体、过渡态和产物关联起来以获得反应途径信息. 优化计算中, 配体  $\text{NH}_3$  极易绕 N—Zn 键转动, 且产生一过渡态干扰活化位置过渡态的寻找. 我们通过先部分优化再做全优化的办法, 成功地获得了不同过程中的过渡态.

本文所有计算采用 GAUSSIAN 92 和 GAUSSIAN 94 程序 (Pittsburgh: Gaussian Inc, 1993/1995).

## 2 结果与讨论

图 2 绘出了中间体、过渡态和产物的平衡结构, 各态的 SCF 和 MP2 总能量的相对值列于

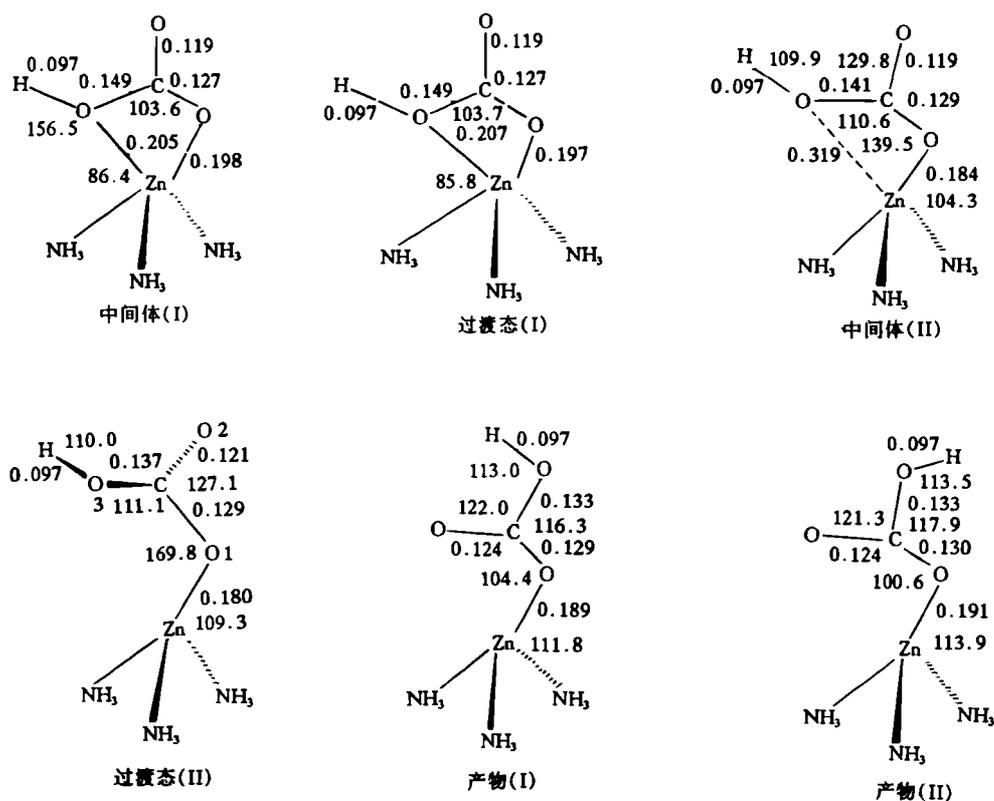


图 2 中间体、过渡态和产物的平衡结构  
键长用 nm, 键角用(°)

表1. 沿反应途径各态的 MP2 相以能量绘于图2. 从图2和表1数据可以看出, 中间体(I)与过渡态(I)的几何构型和能量都十分接近.

为了验证中间体(I), 我们从几种初始几何构型出发, 最后均优化到中间体(I). 且在从过渡态(I)开始的 IRC 计算中, 中间体(I)正是 IRC 上一端的稳定点. 计算结果表明, 当

表1 中间体、过渡态和产物的相对能量 ( $\times 4.184 0$  kJ/mol)

反应物	中间体(I)	过渡态(I)	中间体(II)	过渡态(II)	产物(I)	产物(II)
$(\text{NH}_3)_3\text{Zn}^{\text{II}}(\text{OH}^-)\text{CO}_2$						
SCF	0.0	0.015 1	-6.073 4	-1.289 5	-11.499 3	-10.972 2
MP2	0.0	0.419 8	-3.148 7	5.128 4	-7.945 2	-7.541 8
$(\text{NH}_3)_3\text{Zn}^{\text{II}}(\text{OCH}_3^-)\text{CO}_2$						
SCF	0.0	0.052 1	-4.514 1	0.372 1	-10.897 6	
MP2	0.0	0.335 1	-2.239 5	7.649 1	-6.532 1	

$\text{CO}_2$  中 O 向 Zn 的趋近时,  $\text{OH}^-$  渐渐远离 Zn, 先达到中间体(II), 然后,  $\text{HO}_3\text{CO}_2$  绕 C—O1 旋转经过过渡态(II)变成产物(I). 因此, Lindskog 机制实际上由两步完成, 两步历程中过渡态的虚频振动模式见图3.

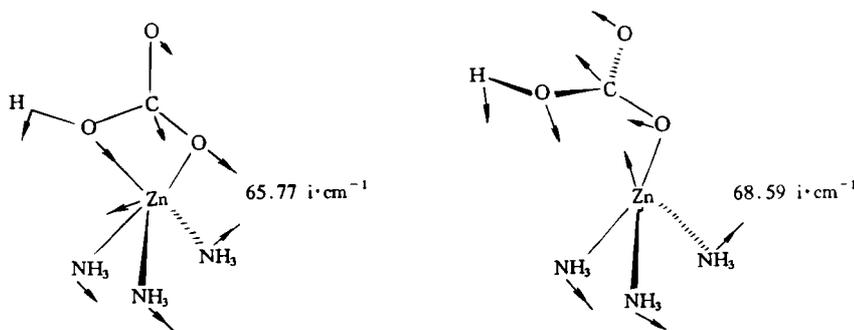


图3 过渡态(I)、过渡态(II)中虚频振动模式

在 MP2 水平上, 第1步存在一很小的  $0.42 \times 4.184 0$  kJ/mol 能垒, 第2步能垒为  $8.28 \times 4.184 0$  kJ/mol, 与  $\text{CO}_2$  催化水化最大允许值  $10 \times 4.184 0$  kJ/mol 接近. 在酶催化过程(3)

中, 甲基替代质子的 *ab initio* 计算结果表明, 反应途径与活化位置包含质子的情况完全类似. 在 SCF 和 MP2 水平上, 反应进程中各态的相对能量与活化位置质子模型的相对能量也十分接近(见图4), 由此可推测, 烷基替代  $\text{HCO}_3^-$  中的质子对酶催化过程(3)没有明显影响.  $\text{HCO}_3^-$  是 CA 酶的天然底物, 然而, 这种替换将戏剧性地改变替代产物  $\text{ROCO}_2^-$  的底物活性<sup>[2]</sup>. 从 Lindskog 机制看, 其真正原因不应在过程(3), 或过程(3)按 Lipscomb 机制进行. 已有研究表明 Lipscomb 机制具有较高的能垒, 但考虑到介质效应时, 质子转移能垒会降低很多<sup>[5]</sup>. 在 Lipscomb 机制中, 当

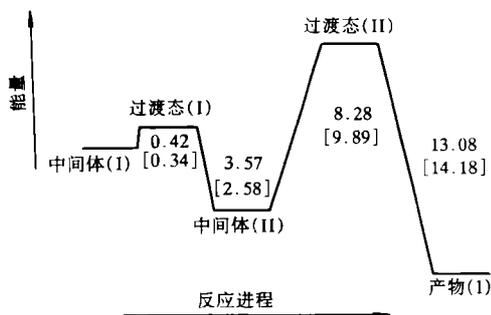


图4 形成  $\text{EZn}^{\text{II}}(\text{HCO}_3^-)$  和  $\text{EZn}^{\text{II}}(\text{CH}_3\text{OCO}_2^-)$  (括号中数值)过程中各态的 MP2 相对能量

## 【研究简报】

单颗粒锆石离子探针质谱定年结果对  
五台造山事件的制约王凯怡<sup>①</sup> 郝杰<sup>①</sup> 周少平<sup>①</sup> Simon Wilde<sup>②</sup> Peter A. Cawood<sup>②</sup>

①中国科学院地质研究所,北京 100029; ②School of Applied Geology, Curtin University, Australia

关键词 五台造山作用 锆石 SHRIMP 定年

五台及邻近地区,过去曾划分为三大群:五台群、恒山群和阜平群。通过多年的研究工作,这三大群实际已经解体<sup>[1-4]</sup>,有关五台造山带的概念已相继提出<sup>[3,5-7]</sup>,但不同的作者对五台造山带的理解还是有差别的。本文即基于本区大地构造相的划分<sup>[2]</sup>,再结合新近获得的高准确度的 SHRIMP 定年结果,将定年结果与造山事件对应起来。

## 1 区域地质概况

河北西部与山西东北部接壤处的太行山-五台山-恒山地区,可划分为三个不同的块体:阜平片麻杂岩,恒山片麻杂岩和五台花岗绿岩。阜平和恒山片麻岩的主体是 TTG 系列的灰色片麻岩<sup>[1,4]</sup>,其中还有表壳岩。后者虽然与灰片麻岩一同经历了变形,但从二者的宏观关系来看,表壳岩应老于灰片麻岩。夹持在阜平和恒山两个块体之间的是五台花岗绿岩带。基于变质级别和不整合关系对五台绿岩带的火山沉积岩系有三分<sup>[8]</sup>和两分<sup>[2]</sup>的不同划分方案。但由于对一些地层单元归属和不整合关系的不同认识(或新认识),有关地层的划分方案始终

OH<sup>-</sup>的质子被甲基替代后,甲基的迁移将变得极端困难,使其失去底物活性。有关这方面的工作有待进一步的理论研究。

致谢 本文大部分计算在西班牙吉罗纳大学计算化学研究所和 Catalunya 超级计算中心完成。

## 参 考 文 献

- 1 Sen A C, Tu C K, Thomas H, et al. In: Bertini I, Luchinat C, Maret W, et al eds. Zinc Enzymes, Boston: Birkhauser, Inc, 1986, I: 329~339
- 2 Pocker Y, Deits T L. The bicarbonate proton in carbonic anhydrase catalysis. J Am Chem Soc, 1983, 105:980
- 3 Solà M, Lledos A, Duran M, et al. In: Molecular Aspects of Biotechnology: Computational Models and Theories. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1992. 263, and references therein
- 4 Greener B, Moore M H, Walton P H. Preparations and structures of new *cis*-1, 3, 5-triaminocyclohexane based zinc complexes: development of new carbonic anhydrase models with variable superstructures. Chemical Communications, 1996, 1:27
- 5 Solà M, Lledos A, Duran M, et al. *Ab initio* study of the hydration of CO<sub>2</sub> by carbonic anhydrase: a comparison between the Lipscomb and Lindskog mechanisms. J Am Chem Soc, 1992, 114: 869, and references therein
- 6 Lindskog S. In: Spiro T G, ed. Zinc Enzymes. New York: Wiley, 1983

(1996-07-11 收稿, 1997-01-23 收修改稿)