

## 2C15

### チトクロム *c* 酸化酵素の heme *a* の酸化還元における電子構造変化と プロトン移動との関係

(阪大蛋白研) ○鷹野優, 中村春木

*ytakano@protein.osaka-u.ac.jp*

【序】チトクロム *c* 酸化酵素は、呼吸の電子伝達系において酸素から水への4電子還元により得られた自由エネルギーによってプロトン輸送を行う。しかしながらX線結晶構造解析や分光学など多くの実験が行われているが、プロトン輸送経路・機構は未だ明らかにされていない。最近ウシチトクロム *c* 酸化酵素の高分解能のX線結晶構造解析から新しいプロトン輸送経路 (H 経路) が提唱された[1,2]。この経路の興味深い特徴としてペプチド結合を介したプロトン移動および heme *a* の酸化還元によるプロトン輸送の制御の可能性が示唆されているが、その分子レベルの機構は不明である。前回の討論会において、我々はペプチドを介したプロトン移動に関して密度汎関数法を用いてその反応機構を調べた[3,4]。その結果、heme *a* のプロピオン酸基のプロトン親和性の減少が必要であること、つづくケト・エノール転位では水分子や周りの残基などを利用してプロトンの受け渡しを行うプロトンワイヤモデルで起こることを明らかにした (図1)。本研究では、ペプチドを介したプロトン移動を制御していると思われる heme *a* の酸化還元における電子構造変化を、密度汎関数法を用いて明らかにし、プロトン移動との関係について調べた[5]。

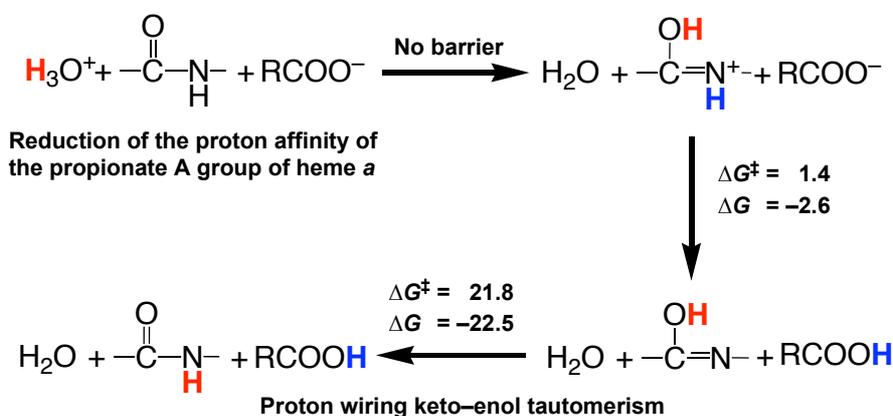


図1. ペプチド結合を介したプロトン移動の反応経路のまとめ

【計算方法】酸化型および還元型 heme *a* の構造は最近得られたウシチトクロム *c* 酸化酵素のX線結晶構造解析のデータ (PDB ID: 1v54 (酸化型)、1v55 (還元型)) をもとに、周りのメチル基、ビニル基、ファルネシルエチル基は水素に、軸配位子の His はイミダゾールに置き換えたモデルを構築した。それらに対して、基底関数として鉄イオンには Tatewaki-Huzinaga の 533(21)/53(21)/(41)[6] に Hay の d の diffuse 関数[7]を加えたものを、炭素、窒素、酸素には 6-31G(d) を、水素には 6-31G を用いて、B3LYP 交換相関汎

関数による密度汎関数計算を行った。またタンパク質環境の溶媒効果に関しては PCM (比誘電率 4.0) を用いて計算した。全ての計算には Gaussian03 を使用した[8]。

【結果・考察】密度汎関数法を用いて得られた酸化型 heme *a* の LUMO (a)、スピン密度分布 (b) および酸化還元における heme *a* の差分電子密度 (c) を図2に示す。酸化還元における heme *a* の電子構造はヘム鉄の酸化還元がヘムの周辺部位、特に Arg38 と水素結合をしている formyl 基やペプチドを介したプロトン移動に関わるプロピオン酸基 (Prop A) の電荷に影響を与えていることが明らかとなった。また構造最適化したものとの比較の結果、構造のゆがみ等は周辺部位の電荷変化にほとんど影響を与えないことがわかった。このような heme *a* は "flexible mediator" として電子移動に関わっていると考えられる[5]。

以上のことから heme *a* の酸化還元状態がプロピオン酸基の電荷変化を誘起しペプチド結合を介したプロトン移動の制御をおこなうのではないかと推察される。

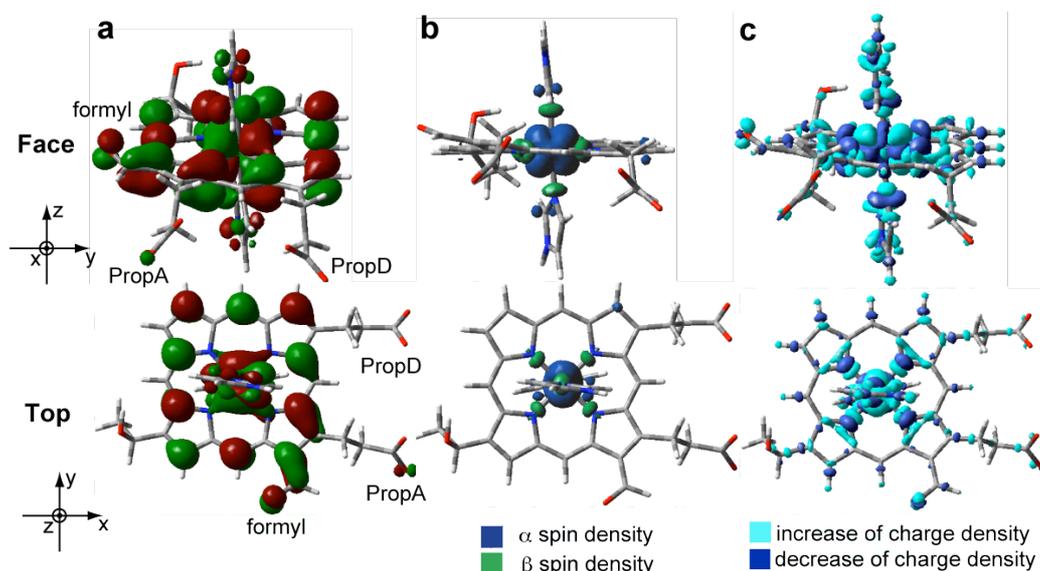


図2. 酸化型 heme *a* の LUMO (a) とスピン密度分布 (b) および酸化還元における heme *a* の差分電荷密度 (c)

#### 【参考文献】

1. T. Tsukihara et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100 (2003) 15304.
2. K. Simokata et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104 (2007) 4200.
3. Y. Takano and H. Nakamura Chem. Phys. Lett. 430 (2006) 149.
4. 鷹野・中村 分子構造総合討論会 2007 4E10.
5. Y. Takano and H. Nakamura in preparation.
6. H. Tatewaki, S. Huzinaga, J. Chem. Phys. 72 (1980) 339.
7. P.J. Hay, J. Chem. Phys. 66 (1977) 4377.
8. M.J. Frisch et al., Gaussian03, Gaussian, Inc.: Pittsburgh, PA.