

2P043

シトクロム bc_1 複合体によるユビキノールの酸化反応機構に関する理論的研究

(三重大院工) 清水盛行、勝田直樹、三谷昌樹、○吉岡泰規

【序】シトクロム bc_1 複合体はミトコンドリア内膜に存在する電子伝達系 3 番目の酵素であり、 Q_p 部位においてユビキノールをユビキノンに 2 電子酸化する反応を触媒する。 Q_p 部位はリスキ鉄-硫黄クラスターとシトクロム b の Glu272 から構成されており、その間にユビキノールが納まり反応が進行すると考えられている (図 1)。ユビキノールが納まった X 線構造は得られておらず、阻害剤であるスティグマテリンが納まった構造が決定されている。ユビキノールの酸化は図 1 に示すように 4 段階から成り立っている。①ユビキノールから His181 へのプロトン移動、②ユビキノールからリスキ鉄-硫黄への 1 電子移動、③ユビキノールから Glu272 へのプロトン移動、④ユビキノールからヘム b_L への 1 電子移動である。実験サイドから 2 通りの異なる酸化機構が提案されている。その一つは、①と②が協奏的に起こりユビセミキノンラジカルが生成した後、③が起こりユビキノンラジカルアニオンが生成する。引き続き④が起こりユビキノンが生成する多段階機構である。もう一つは、①、②、③、④が同時に起こりユビキノンが生成する 1 段階機構である。我々は、計算化学の立場からユビキノールの酸化機構を明らかにすべく検討を行なった。

【計算】リスキ鉄-硫黄に配位している His161 と His181 をイミダゾールに、Cys159 と Cys178 を $-SCH_3$ に、Glu272 を $HCOO^-$ に、ユビキノールをキノールに置き換えたモデルを反応場モデルとした。酸化型鉄-硫黄に対しては、低スピン状態 $oxCbc1$ ($S = 0$) と高スピン状態 $oxCbc2$ ($S = 5$) を、還元型鉄-硫黄に対しては、低スピン状態 $oxCbc3$ ($S = 0$) と高スピン状態 $oxCbc4$ ($S = 5$) を検討した。反応系の構造は、各アミノ酸残基のペプチド鎖につながる部分を固定して、全ての構造パラメータを最適化して決定した。

計算は、ハイブリッド密度汎関数法 B3LYP 法を、低スピン状態の電子状態には broken symmetry 法を用いた。低スピン状態の反強磁性的相互作用の解析には自然軌道解析を使用した。用いた基底関数は VDZ レベルである。使用したプログラムは Gaussian 98 である。

【結果と考察】酸化型リスキ鉄-硫黄と Glu272 との間にユビキノールが納まった低スピン状態 $oxCbc1$ と高スピン状態

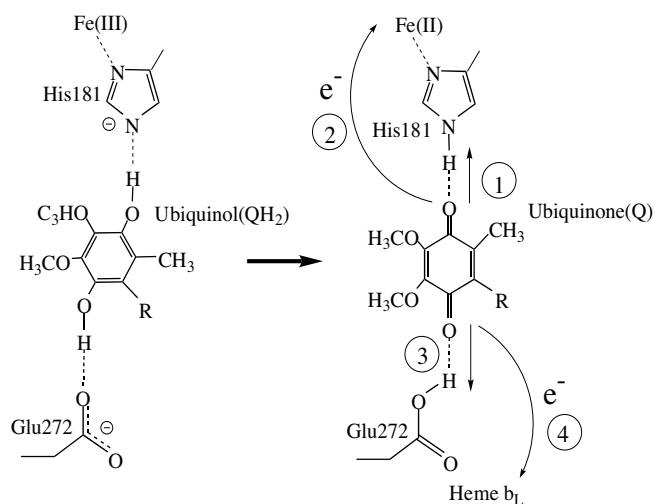


Figure 1. Schematic representation of oxidation of ubiquinol at Q_p -site.

$oxCbc2$ の構造を図 2 に示す。明らかにスティグマテリンに替わって、ユビキノールが His181

と Glu272 の間に水素結合を介して納まることを示している。表 1 に示したように *oxCbc1* は *oxCbc2* より 7.8 kcal/mol 低エネルギー側にある。*OxCbc2* の $\langle S^2 \rangle = 30.0240$ は純粋状態の値にほぼ一致しているが、*oxCbc1* の $\langle S^2 \rangle = 4.6393$ は純粋状態の 0 から大きくずれている。これは、この複合体内に 5 組の反強磁性的なスピン対があることを示している。Histidine 側の Fe のスピン密度は $-3.727e$ であり、cysteine 側の Fe のスピン密度は $3.681e$ であり、Fe(III) の電子配置 d^5 による形式的なスピン密度である 5 から大きく異なっている。しかしながら、自然軌道解析より 5 組の反強磁性的なスピン対は Fe(His)と Fe(Cys)の d -電子であることが判った。

次に、①と②が生じたとして、ユビキノールからプロトンを His181 の N に移動させ、電子がリスキ鉄-硫黄に移動した電子状態で構造最適化を行なった。図 2 に低スピン状態 *redCbc3* と高スピン状態 *redCbc4* の構造を示す。ここで興味深いことに構造最適化途中で、ユビキノールの Glu272 側の H がプロトンとして Glu272 側に移動した。期待されたユビセミキノンの構造は得られず、キノン構造が得られた。酸化型と同様に還元型においても、低スピン状態が高スピン状態より 11.2 kcal/mol 低エネルギー側に位置している。さらに、低スピン状態では酸化型と還元型とはほぼ等エネルギーであり、酸化型の方がやや低エネルギーである。*RedCbc3* の $\langle S^2 \rangle$ は 4.7308 と酸化型の値と変わらないことから、複合体内に 5 組の反強磁性的なスピン対があることがわかる。自然軌道解析から histidine 側の Fe の一つの d 軌道が電子 2 個に占有されており、Fe の電子配置が d^6 であることから、ユビキノールから移動した電子は histidine 側の Fe を優先的に占有することがわかった。残りの 4 個の d 電子は cysteine 側の Fe の d 電子と反強磁性的スピン対を形成している。cysteine 側の Fe に残った一つの電子はユビキノンの π 電子と反強磁性的スピン対を形成し、ユビキノールがラジカルアニオンであることがわかる。

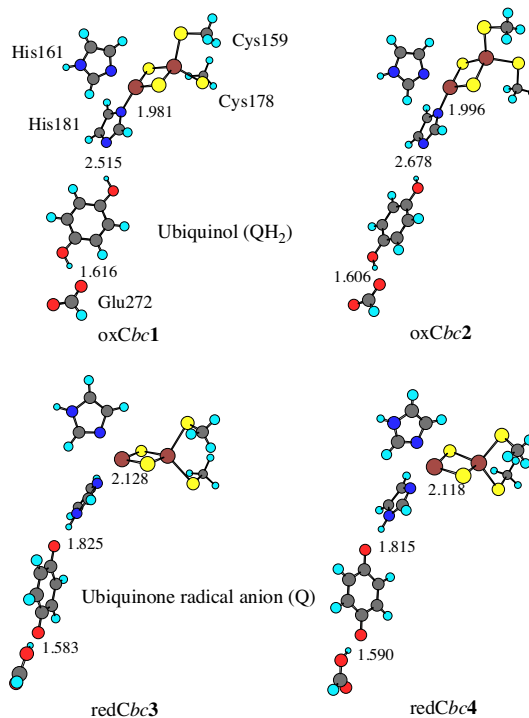


Figure 2. Optimized geometries of ubiquinol and ubiquinone docked in Rieske iron-sulfur and Glu272

Table 1. Spin angular momentums, total energies, and relative energies.

Complexes	($C, 2S+1$)	$\langle S^2 \rangle$	$E_{\text{tot}} + 5223$ (a.u.)	ΔE_{rel} (kcal/mol)
<i>oxCbc1</i>	(-2, 1)	4.6393	-0.672094	0.0
<i>oxCbc2</i>	(-2, 11)	30.0240	-0.659728	7.8
<i>redCbc3</i>	(-2, 1)	4.7308	-0.667982	2.6
<i>redCbc4</i>	(-2, 11)	30.0341	-0.650162	13.8