

## 2P096

### シトクロム *c* 酸化酵素 CuA サイトの酸化還元電位に及ぼす周辺残基の効果についての理論的研究

(東大院工 \*, 阪大蛋白研 \*\*, 兵庫県立大・生命理学 \*\*\*)

○ 小泉健一\*, 鷹野優\*\*, 重田育照\*\*\*, 神谷克政\*\*\*, 中村春木\*\*, 押山淳\*

[序] シトクロム *c* 酸化酵素は呼吸鎖電子伝達系に属する膜蛋白質であり、酸素を四電子還元するとき得られた自由エネルギーによってプロトン輸送を行なう。はじめに CuA サイトでシトクロム *c* からの電子を受け取り、heme *a* を介して、酵素の触媒部位 (heme *a*<sub>3</sub>-CuB サイト) に電子を送る。このため、その還元ポテンシャルがどのように制御されているかは電子移動経路や反応機構を理解する上でも重要である。CuA サイトは、二核の銅イオンが二つのシステイン残基によって架橋され、銅-硫黄クラスターを形成しており、この周辺に二つのヒスチジン及びグルタミン酸が配位し、銅から 2.6Å ほど離れたところにメチオニンが配位して非対称な配位子場を構成している。今回、周辺残基が、銅-

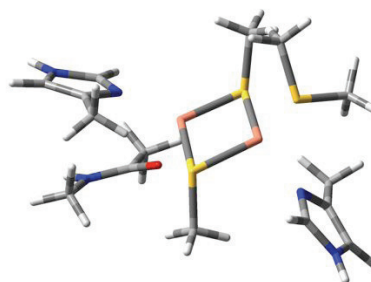


図1:計算に用いたモデル

硫黄部位の酸化還元電位に与える影響を計算化学的手法を用いて調べた。  
[計算方法] 月原等によって報告されている X 線構造解析の結果を用いて [1]、CuA 活性中心の構造をモデル化した。モデル化にあたっては側鎖をメチル基でキャップした。まず最小モデルとして、銅イオンとそれに配位するシステインのみからなる銅-硫黄クラスターモデル (モデル 1) を構築した。次に第一配位圏までを考慮したモデル (モデル 2) を作った (図 1)。計算にはハイブリッド DFT である B3LYP 法, B2LYP 法を用いて計算を行った。硫黄を含む系では、基底関数依存性が大きいとの報告があり、小さい基底関数として、銅イオンに藤永の MIDI+pd その他に 6-31G\* のもの(A)、銅イオンに MIDI+pd、硫黄に 6-311+G\*, その他に 6-311G\* を用いたもの(B)を用意し、大きいものとして、銅イオンに Wachters+f、硫黄に 6-311+G\*, その他に 6-311G\*を置いた (C)。また蛋白質環境には PCM (比誘電率 4.0) を用いた。

[計算結果]計算により得られた還元ポテンシャルを表に示す。周辺残基が存在する時としない時のクラスター部位の還元ポテンシャルを比較すると、手法、基底関数に関わらず約 1.6V もの違いが現れた。

表. 還元ポテンシャル(eV)

	A	B	C
モデル 1	5.31	5.36	5.32
モデル 2	3.64	3.81	3.67

A,B,C は上記基底関数に対応。還元ポテンシャルは Olsson 等 [2] の定義を用いた。手法は B3LYP

電子伝達蛋白質群が 0.1V のオーダーの酸化還元電位を示していることから、銅-硫黄クラスター部位に対する周辺残基の酸化還元電位への影響は非常に大きいことが明らかとなった。電子流入に関わる軌道は、酸化状態における  $\beta$  LUMO であるが、周辺残基を考慮することで軌道エネルギーが上昇した。この結果は、周辺残基によって還元ポテンシャルが大幅に変化することを示唆している。 $\beta$  LUMO の形状は、残基が存在しないクラスター構造の場合、対称的であるが、残基が存在する時には、周辺の非対称な配位構造を反映して非常に歪んだものになった (図 2)。また、 $\beta$  LUMO の形状は、酸化型と還元型の差分電荷密度の形状に一致しており、これは、酸化状態に電子が流入したときの電子密度の増分であるから、電子流入には  $\beta$  LUMO がキーポイントになっており、周辺残基がクラスター部位の  $\beta$  LUMO を非対称に歪めることによってクラスター部位の酸化還元電位を都合の良い値に調整しうるということがわかった。さらに現実系に近い大きなモデル(第二配位圏まで含めたもの)なども計算中で、当日報告する予定である。

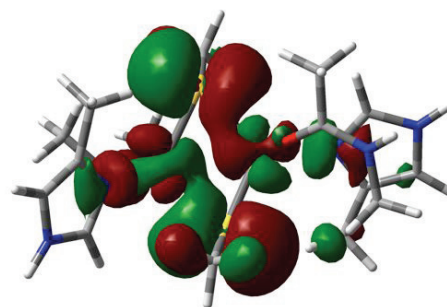


図 2  $\beta$  LUMO の様子

[1] Tsukihara et al. PNAS, 2003, 100, 15304-15309.

[2] Olsson and Ryde J. Am. Chem. Soc, 2001, 123, 7866-7876.