

呼吸鎖複合体 I における電子トンネル移動

(University of California, Davis) ○林 友將, Alexei Stuchebrukhov

【序】呼吸鎖複合体 I (NADH:quinone oxidoreductase) は、ミトコンドリア内膜上で電子伝達系の入り口を構成し、電子を NADH から補酵素 Q へ 90Å にわたり転移させると同時に、その余剰エネルギーを用いることで ATP 合成に必要な膜内外のプロトン濃度勾配を発生させる。近年 Sazanov らにより結晶構造が報告されたが¹、電子移動の原子レベルでのメカニズムは未だ明らかではない。本研究では、FMN および 7 つの鉄硫黄クラスター (N3, N1b, N4, N5, N6a, N6b, N2) に沿った電子トンネル移動経路、電子移動速度定数を計算により求め、関与するタンパク質残基、タンパク質内部の水の役割について検討した。

【計算】計算は、鉄硫黄クラスター間の電子トンネル移動各ステップについて、始状態、終状態に対応する Broken-Symmetry 状態を非制限 ZINDO レベルで取り扱い、双直交化された多電子波動関数を用いてトンネル電子およびその他電子の分極効果を考慮した。トンネル電流密度は

$$\vec{J}(r) = -i \langle A | \hat{j}(r) | D \rangle$$

により得られ、電子トンネル行列要素は、ドナー、アクセプターを区切る平面を横切る全電流に等しい²。

$$T_{DA} = -\hbar \int (d\vec{s} \cdot \vec{J})$$

速度定数は Marcus 理論により求めた。

【結果と考察】FMN から N2 までの電子トンネル移動経路の計算結果を図1に示す。赤の色強度はトンネル電子がその原子を通過する相対的確率を表す。個々の鉄硫黄クラスターペア間の電子トンネル移動には、2つのシステイン配位子および1つの Mediator 残基を含む最大3つのタンパク質残基 (Key Residues) が寄与することがわかった (表1)。多くの鉄硫黄クラスターペアにおいて、2つのシステイン配位子

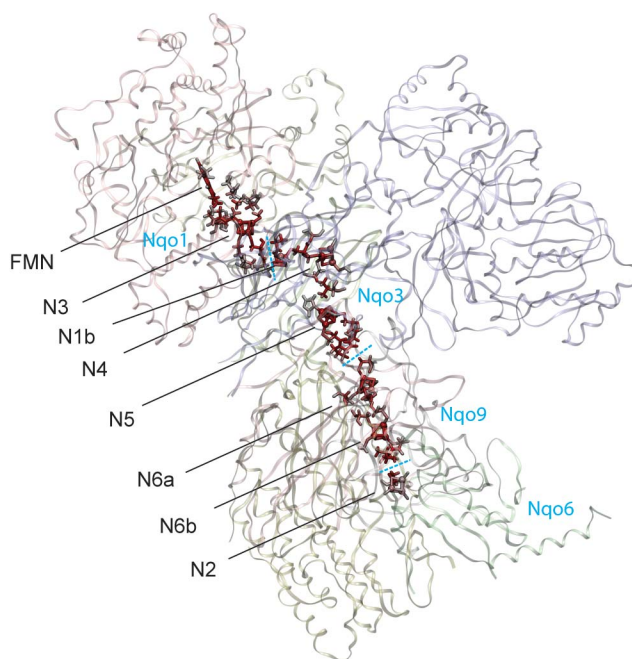


図 1 複合体 I 中の電子トンネル経路の計算結果

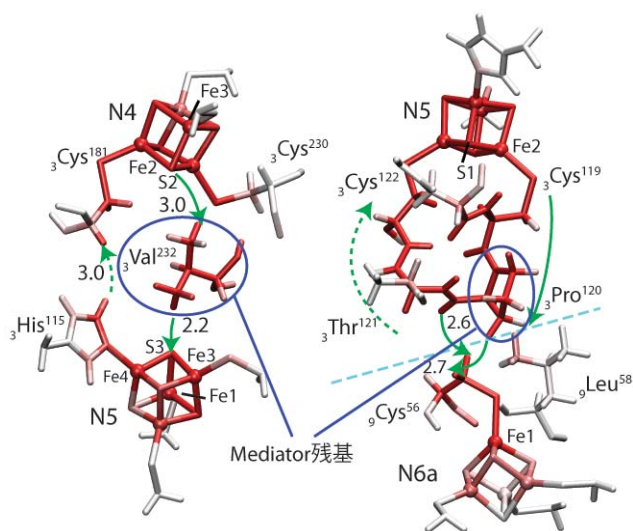


図 2 N4→N5(左)および N5→N6a(右)の電子トンネル経路と Mediator 残基

は互いに向きあうように配向することで電子移動に最適な配置になっている。タンパク質サブユニット間(Nqo3/Nqo9 など)には明確な空間的ギャップが存在し(図1シアン破線), 生体中では結合水で満たされていると考えられる。N4→N5においては Mediator 残基₃Val²³²のY型イソプロピル基の2つのδ-メチル基がドナー, アクセプター方向に位置することで, 効率的な電子移動が達成されることがわかる(図2左)。N5→N6aでは, トンネル電子の量子性に由来する干渉が見られる。電子波束はN5→₃Cys¹¹⁹→₃Pro¹²⁰→₃Thr¹²¹→₃Cys¹²²→N5から構成されるバックボーンループ上をN5→₃Cys¹¹⁹→₃Pro¹²⁰と移動し, 一部は₉Cys⁵⁶へ透過してN6へ, 残りは₃Thr¹²¹を経てN5へ向かう(図2右)。N4→N5およびN5→N6aのMediator残基は, 原核生物, 真菌, 無脊椎動物, ほ乳類など異なる生物種の複合体I一次配列においてよく保存され, またこれらをグリシンに置換した変異体の計算では速度定数が著しく減少した(表1:(N4→N5)*, (N5→N6a)*)。このことは, Mediator残基が生体中での電子移動に不可欠な役割をはたしていることを支持する。計算された電子移動速度定数は, サブユニット間に存在する水を考慮しない場合(表1:Dry), 律速段階である最遠距離ペアN5→N6aにおいて9 s⁻¹となり, 実験で観測された全体の速度定数(170~10⁴ s⁻¹)を再現できない。一方サブユニット間の電子トンネル経路上に水分子を配置した計算(表1:Wet)では, 速度定数が劇的(10²~10³倍)に増加し, 実験値を再現した。タンパク質内部の水を含んだ電子移動速度の対数(log₁₀)はトンネル距離に対して, 経験的に知られた³勾配-0.6の直線関係とよい一致を示した。

以上の計算により, 呼吸鎖複合体Iにおける電子トンネル移動経路が初めて原子レベルで明らかになり, サブユニット間の水が, 生体中での効率的な電子移動に必須の役割を果たしていることがわかった。

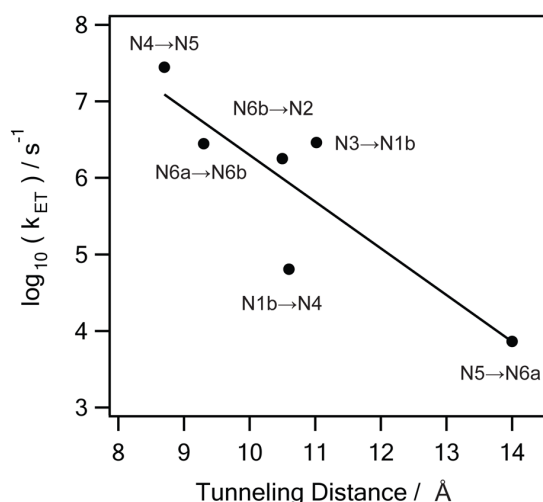


図3 電子移動速度のトンネル距離依存性

表1 トンネル距離, 電子トンネル移動に寄与するタンパク質残基, および電子移動速度定数

Pair	Distance [Å]	Key Residues			k_{ET} [s ⁻¹]	
		Exit	Entrance	Mediator	Dry	Wet
N3→N1b	11.0	₁ Cys ⁵⁶	₃ Cys ⁶⁴	₃ Ala ⁶³	1.3×10^3	2.9×10^6
N1b→N4	10.6	₃ Cys ³⁴	₃ Cys ¹⁸⁴	-	6.4×10^4	-
N4→N5	8.7	-	-	₃ Val ²³²	2.8×10^7	-
N5→N6a	14.0	₃ Cys ¹¹⁹	₉ Cys ⁵⁶	₃ Pro ¹²⁰	9.1	7.3×10^3
N6a→N6b	9.3	₉ Cys ⁵⁹	₉ Cys ¹⁰⁴	-	2.8×10^6	-
N6b→N2	10.5	-	₆ Cys ¹⁴⁰	₉ Ile ⁹⁹	1.9×10^4	1.8×10^6
(N4→N5)*	8.7	-	-	Gly	2.3×10^4	-
(N5→N6a)*	14.0	₃ Cys ¹¹⁹	₉ Cys ⁵⁶	Gly	1.2	0.3×10^2

¹ L. A. Sazanov and P. Hinchliffe, *Science* **311** (5766), 1430 (2006).

² A. A. Stuchebrukhov, *Theor. Chem. Acc.* **110** (5), 291 (2003).

³ C. C. Moser, C. C. Page, and P. L. Dutton, *Philos. T. R. Soc. B* **361** (1472), 1295 (2006).