

還元型シトクロム  $c_3$  の全電子密度汎関数計算  
(東大生研) ○平野敏行, 上村(西野)典子, 佐藤文俊

【緒言】硫酸還元菌から抽出されるシトクロム  $c_3$  は、1分子中に4個の  $c$  型ヘムを含む電子伝達タンパク質である。シトクロム  $c_3$  はこの複核ヘムを利用し、生体内で電子のリザーバーとして、またプロバイダーとして働き、非常に複雑な電子伝達機能を実現している。他のシトクロム類と比較して非常に低い酸化還元電位を示す[1]ことも特徴の一つである。このような4つのヘム鉄の混合原子価状態を制御し、特異な物性を示すシトクロム  $c_3$  の機能には、ヘムを支持する周辺タンパク質が深く関与することが報告されている[2-5]が、その詳細な機構は明らかになっていない。本研究では、シトクロム  $c_3$  理論解析の第一弾として、シトクロム  $c_3$  の複雑な酸化還元種の一つである完全還元型の全電子密度汎関数計算を行い、酸化還元電位における周辺タンパク質の効果を明らかにすることを目的とした。

【モデル・方法】図1にシトクロム  $c_3$  の分子の計算構造を示した。NMR スペクトル解析で得られた、硫酸還元菌宮崎株から抽出された還元型シトクロム  $c_3$  の構造(PDB ID:1IT1)を用いた[5]。電子状態計算には、RI 法に基づくガウス型基底密度汎関数(DF)計算プログラム ProteinDF [6, 7] を用いた。基底関数には DZVP 基底、交換相関汎関数には B3LYP[8]を用い、 $d^6$  低スピン鉄完全還元型 RKS 計算を行った。SCF 計算における初期値の作成は、QCLO 法[9]に基づき段階的に行った。

【結果・考察】還元的状態下では、最もヘム1が電子受容的、ヘム3が電子供与的になり、電子の授受をヘム1、ヘム3で行っている可能性が指摘されている[10]。実験的に得られた酸化還元電位に対して、仮の指標として、全電子

DF 計算から得られた4つのヘム鉄周りのエネルギー準位を比較した。表1に実験によって得られた還元的状態での微視的酸化還元電位[1]と、①各ヘムと上下配位子からなる単体モデル、②ヘム及びその周辺タンパク質を含む部分モデル(図2)におけるDF計算結果から、各ヘムの鉄を主成分とする最も高い軌道エネルギーを表1に示した。③のタンパク質全体のモデルは現在計算中である。ヘム単体における計算(①)で、すでにエネルギー準位に差が見られるものの、周辺タンパク質を付加した②のモデルでは、その順序、差の大きさともに大きな変化が見られた。これらの結果は、周辺タンパク質がヘム鉄の電子状態に大きく作用していることを示している。DF 計算における、各ヘムの鉄を主成分とするエネルギー準位の順序は、実験から得られた微視的酸化還元電位と必ずしも一致していない。これは②のモデルでは周辺タンパク質の効果

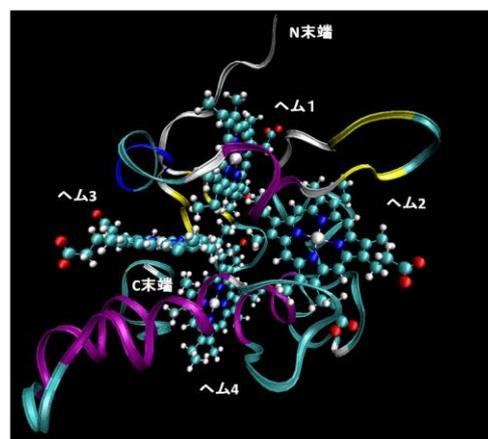


図1 シトクロム  $c_3$  の分子図  
ヘム部分はボール&スティック、  
タンパク質はリボンで表示した。

を部分的に取り入れることができたものの、シトクロム  $c_3$  の複雑な電子状態をシミュレーションするには、不十分であることも示唆している。タンパク全体を量子化学的に扱ったモデル(③)の計算結果が期待される。

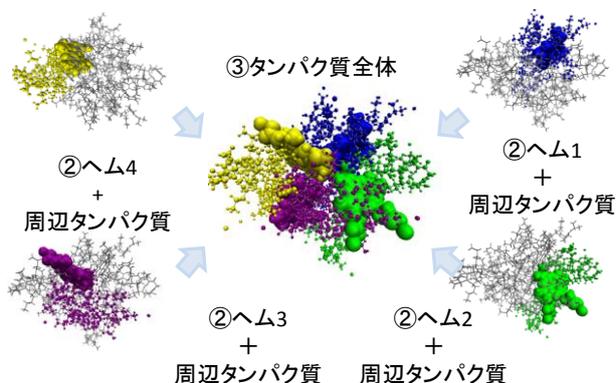


図2 各部分モデルの立体構造  
計算構造は色付けしており、ヘムは  
VDW モデル、タンパク部分はCPK  
モデルで表示している

	① ヘム単体 (eV)	② ヘム+周辺タン パク質(eV)	③ タンパク質 全体(eV)	微視的酸化還元電 位(mV/NHE) [1]
ヘム 1	-4.479	-6.201	(計算中)	-293
ヘム 2	-4.080	-4.501	(計算中)	-315
ヘム 3	-4.398	-6.018	(計算中)	-344
ヘム 4	-4.743	-5.073	(計算中)	-308

表1 各ヘムの鉄の3d軌道のうち最も高いエネルギーを持つ軌道の軌道エネルギーと還元的状態下の時の微視的酸化還元電位

#### 【参考文献】

- [1] H. Akutsu, Y. Takayama, *Acc. Chem. Res.*, **40**, 171 (2007).
- [2] Y. Takayama, ND. Werbeck, H. Komori, K. Morita, K. Ozawa, Y. Higuchi, H. Akutsu, *Biochemistry*, **47**, 9405, (2008).
- [3] K. Ozawa, Y. Takayama, F. Yasukawa, T. Ohmura, M. A. Cusanovich, Y. Tomimoto, H. Ogata, Y. Higuchi, Akutsu H. *Biophys J.*, **85**, 3367 (2003).
- [4] Y. Takayama, E. Harada, R. Kobayashi, K. Ozawa, H. Akutsu, *Biochemistry*, **43**, 10859, (2004).
- [5] E. Harada, Y. Fukuoka, T. Ohmura, A. Fukunishi, G. Kawai, T. Fujiwara, H. Akutsu., *J Mol Biol.*, **319**, 767 (2002).
- [6] F. Sato, T. Yoshihiro, M. Era, H. Kashiwagi, *Chem. Phys. Lett.*, **341**, 645 (2001).
- [7] H. Kashiwagi, H. Iwai, K. Tokieda, M. Era, T. Sumita, T. Yoshihiro, F. Sato, *Mol. Phys.*, **101**, 81 (2003).
- [8] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, **98**, 5648 (1993).
- [9] N. Nishino, T. Hirano and F. Sato, *J. Chem. Phys.*, **127**, 184106 (2007).
- [10] N. Yahata, T. Saitoh, Y. Takayama, K. Ozawa, H. Ogata, Y. Higuchi, H. Akutsu, *Biochemistry*, **45**, 1653 (2006).