

シトクロム類の自己還元機構 ならびに電気伝導機構

(熊大院・自然¹, サニーシーリング研究開発², JAXA³)
吉武 清花¹, 市村 憲司¹, 中原 祐典², 井口 洋夫³

【序】シトクロム c およびシトクロム c₃ の固体膜の電気伝導性は、酸化状態に大きく依存する¹⁻³。また、酸化体の固体膜を水素雰囲気下におくと、還元が進行する。このことは、シトクロム類が自己還元機構を有することを示唆しているが、シトクロム c 水溶液中を水素に接触させると、自己還元反応が進行すること、また、変性の起こらない pH 領域でも、pH および緩衝剤・添加剤の種類により、自己還元反応が影響を受けることを明らかにしてきた。本研究では、シトクロム c 水溶液の自己還元反応に対する NaCl の添加効果、ならびに固体膜の変化について検討した。

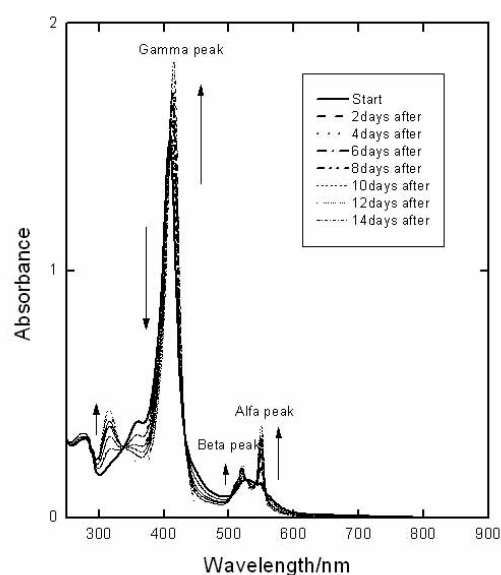


Figure 1. UV-visible spectra of cytochrome c water solution from 900nm to 250nm.

【実験】ウマの心臓由来のシトクロム c 0.6 mg を pH4.01 としてフタル酸塩緩衝液、pH6.86 として中性リン酸塩緩衝液、pH9.18 としてホウ酸塩緩衝液それぞれ 4ml に溶かし、油回転真空ポンプで脱気した後、1.5 気圧の水素を導入した。pH7 - 9 トリス系緩衝液についても、同様に調べた。シトクロム c の水溶液を調整した後、真空ポンプで脱気を行い 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30MPa の水素圧をかけた系、NaCl 濃度が 0.001 - 0.5M となるように、NaCl 水溶液とシトクロム c 水溶液を混合した後、脱気した系の経時変化を調べた。シトクロム c 水溶液からキャスト法により作成した固体膜の水素雰囲気下での、スペクトル変化を測定した。シトクロム c の電子スペクトル変化を波長領域 200-700nm で測定した。

【結果と考察】

シトクロムc水溶液の自己還元反応の水素圧依存性を0.05-0.3MPaの圧力範囲で調べたが、速度定数ならびに13日後の還元率は各々0.11-0.15day⁻¹および0.29-0.39で、この圧力範囲では依存性が小さいことが知られた。

pH依存性であるが、変性の起こらないpH領域である無機系ホウ酸塩緩衝液pH4.01ではスペクトルの変化がなく自己還元反応は起こらない。pH7の場合、水溶液では完全還元型へ変化するのに対し、無機系ならびにとリス系では各々0.13および0.22の還元率しか変化しない。pH8のとリス系緩衝液では、還元率は1である。pH9では、無機系およびとリス系の還元率は、各々0.1および0.22である。このように、自己還元挙動は、pHおよび緩衝剤の種類に依存することがわかる。

pH7での緩衝液の種類依存性を調べるために、NaClの添加効果を調べた結果、0.001 - 0.5M濃度の範囲で、還元率の濃度依存が見出され、0.1M濃度付近に最大が見出された。なお、本研究のNaCl濃度範囲では、スペクトルを見る限り、変性は起こっていない。

シトクロムc水溶液からキャスト法により作成した固体膜の水素雰囲気下での、スペクトル変化を測定した結果、反応速度定数が大きく低下するが、還元反応が進行することが確認できた。

変性の起こらないpH領域での以上の水素圧依存性、pH依存性、NaCl濃度依存性の結果は、水素とシトクロムcの酸化還元平衡式が、単純なネルンストの式には従わないことを示している。このことは、図に示すようなシトクロムcヘム周辺の水和、電荷、局所的コンフォメーションなどの状態が、自己還元機構ならびに電子伝達機構の支配因子であると考えられる。

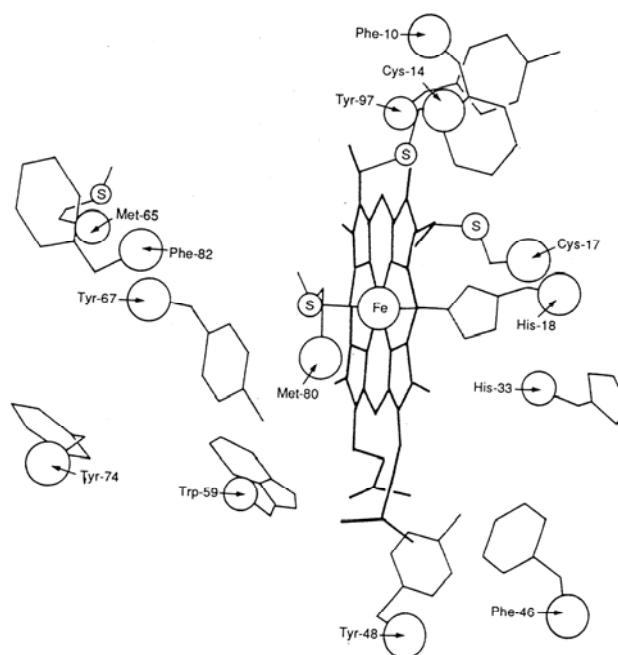


Figure 2. The environment of heme in cytochrome c.

- [1] K. Kimura, Y. Nakahara, T. Yagi and H. Inokuchi, J. Chem. Phys. 70, 3317(1979).
- [2] Y. Nakahara, K. Kimura, H. Inokuchi and T. Yagi, Chem. Phys. Letters, 73, 31(1980).
- [3] K. Ichimura, K. Kimura, Y. Nakahara, T. Yagi, and H. Inokuchi, Chem. Lett., 19(1982).