

## 学术讨论

# 细胞色素 c 氧化酶固态薄膜电子传递特性 与可擦写纳米存储器

王敖金 徐建兴\*

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

**摘要** 细胞色素 c 氧化酶的固态薄膜仍具有电子传递活性、其分子内金属活性中心的结构特点及其氧化还原和配位循环变化、光谱特征、物理性控制电子供体或物理性电子受体、开关特性等, 使得它适合于分子电子学研究和纳米分子器件的研制, 如可擦写纳米存储器。

**关键词** 可擦写纳米存储器, 细胞色素 c 氧化酶薄膜, 电子传递

**学科分类号** O484.4<sup>+</sup> 2, Q554<sup>+</sup> .9, TP333

根据美国半导体工业协会预计, 到 2010 年半导体器件的尺寸将达到 0.1  $\mu\text{m}$ , 这正好是纳米器件的最大长度. 小于这一尺寸, 所有的芯片需要按照新的原理来设计. 由于膜蛋白功能单元的纳米尺寸和系统的低热耗, 自从 1980 年 Carte 提出分子电子学概念以来, 膜蛋白分子电子学和纳米器件的研究一直受到极大的关注, 如 ATP 酶分子马达、数据存储器等. 在此我们介绍细胞色素 c 氧化酶的电子传递特性以及用其研制可擦写纳米存储器的构思.

## 1 细胞色素 c 氧化酶的特性

位于线粒体内膜上的细胞色素 c 氧化酶是氧化还原驱动的质子泵, 分子质量 160~170 ku. 在生理条件下, 它把由细胞色素 c 传来的电子再传给分子氧, 并与质子的跨膜转运相耦合, 建立的跨膜质子梯度可被用于 ATP 的合成<sup>[1,2]</sup>. 该酶晶体结构数据 显示酶分子内存在多个传递电子的金属活性中心<sup>[3,4]</sup>. 大量在溶液条件下分子内电子传递和催化循环的实验结果<sup>[5]</sup> 显示, 电子传递路线是由电子供体  $\Rightarrow \text{Cu}_A-\text{Cu}_A$  双铜中心  $\Rightarrow$  Heme a 中心  $\Rightarrow$  Heme a<sub>3</sub>-Cu<sub>B</sub> 双核中心  $\Rightarrow$  分子氧. 已经发现有多种人工底物可作为电子供体, 如  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{[1,5]}$ 、连二亚硫酸钠、抗坏血酸、亚铁氰化物, 以及钌复合物. 钌复合物, 如  $\text{Ru}_2\text{C}$  (a binuclear polypyridine ruthenium<sup>4+</sup> complex) 和三双吡啶钌复合物 (tris (bipyridyl) ruthenium<sup>2+</sup> complex) 可作为光激活电子供体, 它们结合在  $\text{Cu}_A$  附近.  $\text{Ru}_2\text{C}$  受光后形成金属配位电荷

传递激发态 ( $\text{Ru}_2\text{C}^*$ ), 迅速把电子传给  $\text{Cu}_A$  中心<sup>[5]</sup>. 接受还原的铁铜双核中心电子的氧化底物则限于分子氧、双氧水及其衍生物. 光脉冲也可直接还原 heme a 和 (或) heme a<sub>3</sub>. 跨膜的质子驱动力可导致电子的可逆传递<sup>[2]</sup>.

牛心细胞色素 c 氧化酶内电子传递金属活性的晶体结构显示<sup>[4]</sup>, 双铜中心含有两个硫桥 (亚基 2 的 Cys216 和 Cys220 的硫原子), 每个铜原子与一个组氨酸的咪唑氮配位, 剩下的配位一个是亚基 2 的 Met227 的硫原子, 另一个是 Glu218 的羰基氧. 该残基的酰胺键上的氮原子还与邻近的镁原子配位. 镁离子的其他配位原子是 His368 的咪唑氮, Asp369 的羰基氧和水分子的氧. 它们离 heme a 的卟啉环很近<sup>[3]</sup>. 两个血红素的轴向配位的 His378 和 His378 之间只有一个 Phe377. 结构变化可导致电子云的重叠, 尤其是  $\pi$  电子云. 这种结构安排可能很有利于电子的传递和开关的形成.

## 2 结构状态及其变化的表征

在溶液条件下, 细胞色素 c 氧化酶的催化循环反应至少涉及到  $\text{Cu}_A$ 、heme a、heme a<sub>3</sub> 和  $\text{Cu}_B$  等金属活性中心的金属原子的价数和配位变化<sup>[2]</sup>, 如在 heme a 中心,  $\text{Fe}_a^{3+} \rightarrow \text{Fe}_a^{2+} \rightarrow \text{Fe}_a^{3+}$ , 对于 heme a<sub>3</sub> 则有  $\text{Fe}_{a_3}^{3+}-\text{OH}_2 \rightarrow \text{Fe}_{a_3}^{2+} \rightarrow \text{Fe}_{a_3}^{2+}-\text{O}-\text{O} \rightarrow \text{Fe}_{a_3}^{4+}-\text{O} \rightarrow \text{Fe}_{a_3}^{3+}-\text{OH} \rightarrow \text{Fe}_{a_3}^{3+}-\text{OH}_2$  的循

\* 通讯联系人.

Tel: 010-64888504, E-mail: aojin@moon.ibp.ac.cn

收稿日期: 2001-10-10, 接受日期: 2001-12-31

环变化 (注: 只标出部分有变化配位<sup>[2]</sup>). 这些状态及其变化可以用光谱或差光谱来表征, 包括电子顺磁共振、拉曼光谱、电子吸收光谱等. 人们早就发现伴随 heme a 和 (或) heme a<sub>3</sub> 的氧化还原状态的变化, 除了 α 和 β 带的差光谱特征外, 在 Soret 带区有更强的差光谱峰<sup>[6]</sup>. 固态薄膜在 Soret 带区也有很强的还原差光谱峰<sup>[7]</sup>.

### 3 酶的固态薄膜电子传递特性

已经发现细胞色素 c 氧化酶在固态薄膜中仍然具有电子传递活性<sup>[7]</sup>. 用保险粉作为电子供体的研究发现, 酸性条件下在两个血红素之间存在电子供体调控的电子开关, 控制着铁铜双核中心的还原<sup>[7]</sup>. 极低浓度的电子供体只导致 heme a 中心的还原; 低浓度的电子供体导致 heme a 和 Cu<sub>A</sub> 中心都还原; 高浓度的电子供体导致 heme a<sub>3</sub> 和 Cu<sub>B</sub> 双核中心还原, 但 heme a 中心是氧化的 (图 1). 尽管这种 heme a-His-Phe-His-heme a<sub>3</sub> 结构类型的开关机理尚待理解<sup>[4]</sup>, 但是这并不妨碍其在分子器件研究方面的应用.

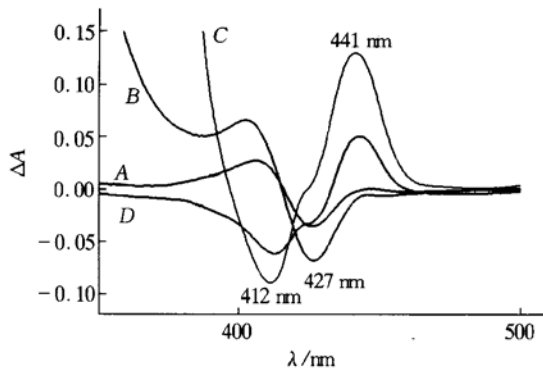


Fig 1 Dithionite induced difference spectra of cytochrome c oxidase film immersing in 50 mmol/L phosphate buffer, pH 5.8  
图 1 保险粉诱导的磷酸缓冲液 (50 mmol/L, pH 5.8) 中细胞色素 c 氧化酶薄膜的差光谱  
保险粉浓度分别为 91 mmol/L (A), 286 mmol/L (B), 10 mol/L (C), 以及清除保险粉后 (D).

### 4 该酶具有用于分子电子学和纳米器件研究的基本条件

综上所述, 细胞色素 c 氧化酶具有用于分子电子学和纳米器件研究的基本特点和条件:

电子传递与质子跨膜转运相耦合, 在催化循环反应中蛋白质结构变化也在循环; 膜蛋白可以人工有序组装, 存在化学与物理性电子供、受体; 众多

金属活性中心, 各活性中心及其氧化还原和配位变化具有特征性光谱; 电子传递的调控点多, 便于纳米器件设计; 取材方便, 结构可以改造等. 这些特征和条件极有利于构制可擦写纳米存储器.

### 5 可擦写纳米存储器原型

可擦写纳米存储器设计基本技术要素包括数据的存储、读写及其控制等. 细胞色素 c 氧化酶薄膜浸在酸性缓冲液中具有电子供体调节的电子开关特性. 该开关控制着电子从血红素 a 中心到血红素 a<sub>3</sub> 铜 B 双核中心的传递. 这里涉及至少四种氧化还原状态变化, 简单表示为  $Fe_a^{3+}-Fe_{a_3}^{3+}$ ;  $Fe_a^{2+}-Fe_{a_3}^{3+}$ ;  $Fe_a^{3+}-Fe_{a_3}^{2+}$  和  $Fe_a^{2+}-Fe_{a_3}^{2+}$ . 二进制的数只需两种状态来表示. 如果用  $Fe_a^{2+}-Fe_{a_3}^{3+}$  表示 '0',  $Fe_a^{3+}-Fe_{a_3}^{2+}$  表示 '1', 而  $Fe_a^{3+}-Fe_{a_3}^{3+}$  和  $Fe_a^{2+}-Fe_{a_3}^{2+}$  则可用于数据擦写控制. 如果让钉复合物静电结合在 Cu<sub>A</sub> 附近, 则信息输入可用闪光控制. 这里并不排除电脉冲直接作为电子源. 而信息的读出用差吸收法. 也就是说可用光脉冲 (或电脉冲) 控制写和读. 这样的可擦写纳米数据存储器原型可以预见会变成现实.

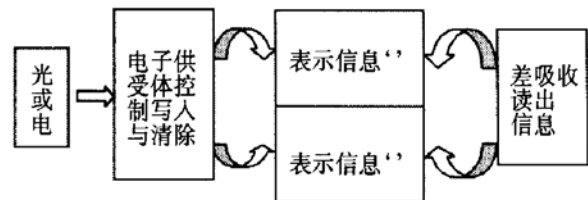


Fig 2 Scheme of prototype of an erasable byte nanostorage  
图 2 可擦写纳米存储器原型示意图

### 参 考 文 献

- Zaslavsky D, Gennis R B. Proton pumping by cytochrome oxidase: progress, problems and postulates. *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1458** (1): 164~ 179
- Wikström M. Mechanism of proton translocation by cytochrome c oxidase: a new four stroke histidine cycle. *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1458** (1): 188~ 198
- Saraste M. Oxidative phosphorylation at the fin de siècle. *Science*, 1999, **283** (5407): 1488~ 1493
- Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E, *et al.* Structures of metal sites of oxidized bovine heart cytochrome c oxidase at 2.8 Å. *Science*, 1995, **269** (5227): 1069~ 1074
- Zaslavsky D, Sadoski R C, Wang K, *et al.* Single electron reduction of cytochrome c oxidase compound F: Resolution of partial steps by transient spectroscopy. *Biochemistry*, 1998, **37** (42): 14910~ 14916

6 Fabian M, Palmer G. The interaction of cytochrome oxidase with hydrogen peroxide: the relationship of compounds P and F. *Biochemistry*, 1995, **34** (42): 13802~ 13810

7 Wang A J, Xu J X. A switch in electron transfer from heme a to binuclear center of cytochrome c oxidase. *Chin Phys*, 2002, **11** (5): 506~ 508

## Properties of Electron Transfer in Cytochrome c Oxidase Thin Solid Film and Erasable Byte Nanostorage

WANG Ao-Jin, XU Jiar-Xing\*

(*Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*)

**Abstract** Activity of electron transfer in cytochrome c oxidase remains in its thin solid film. The characteristic metal active sites and their structural cycle during catalytic reaction, characteristic spectra, physical electron donor or donor-physically controlled, and switch property, which make the oxidase a candidate for study of molecular electronics and design of nanodevices, for example, erasable byte nanostorage.

**Key words** erasable byte nanostorage, cytochrome c oxidase-film, electron transfer

\* Corresponding author. Tel: 86-10-64888504, E-mail: aojin@moon.ibp.ac.cn

Received: October 10, 2001 Accepted: December 31, 2001

## 2002 年国际生物芯片技术论坛即将召开

2002 年 11 月 9~ 13 日, 北京国际会议中心

生物芯片已被国际公认为是正在和将要给 21 世纪的生物科学、医药、农业、环保、国防等领域带来革命性变化的新兴技术, 同时也是最具有商业前景的技术领域. 2000 年 10 月 11~ 14 日, 在北京举办了第一次在国内召开的国际生物芯片技术论坛, 获得各界好评. 时隔两年, 2002 年国际生物芯片技术论坛将在北京再次举办. 相信会有更多的新技术、新概念、新面孔在此次论坛上展现. 本次会议由清华大学、生物芯片北京国家工程研究中心、科技部、教育部、国家自然科学基金委员会共同主办, 由生物芯片北京国家工程研究中心具体筹办.

会议议题将主要包括以下内容:

- DNA、蛋白质、细胞及组织微阵列芯片技术;
- 微流体及缩微芯片实验室技术;
- 芯片药物筛选技术;
- 生物信息学技术.

会议已邀请到三十余位国际上最具权威性的生物芯片专家来做大会特邀报告, 其中既有从事生物芯片前沿性探索研究的科研院校的著名教授, 也有从事生物芯片研发的知名商业公司的总裁或部门经理, 是国内学者和投资机构进行交流和学习的良机. 有关会议的详细信息请浏览会议网站: <http://www.capitalbiochip.com/IFBT2002/>, 如需咨询请与会议组委会联系, 联系人: 生物芯片北京国家工程研究中心, 邢婉丽博士, 地址: 北京市海淀区清华西路甲 2 号, 邮政编码: 100084. 电话: 010-62654112, 传真: 010-62566806, E-mail: wlxing@tsinghua.edu.cn.