

[Ni-Fe]型及び[Ni-Fe-Se]型ヒドロゲナーゼの電子状態の研究

(東大院・工¹, 東大・生産技術研究所², 岡山大院・自然科学³)○黒田 敬史^{1,2}, 平野 敏行², 田村 隆³, 佐藤 文俊^{1,2}

【序章】ヒドロゲナーゼは硫酸還元菌等に含まれる酵素であり, H^+ から H_2 への可逆的な酸化還元反応を触媒する。水素はクリーンエネルギー源の一つとして期待されており, ヒドロゲナーゼを用いた応用研究が行われているが, 空気中の酸素分子に対し失活しやすい性質を持っている。ニッケルと鉄を含む[Ni-Fe]型ヒドロゲナーゼは数時間程度で失活するのに対し, システインに含まれる硫黄原子をセレン原子に置換した[Ni-Fe-Se]型ヒドロゲナーゼは数日から数週間で失活することが知られている^[1]。本研究では[Ni-Fe-Se]型と[Ni-Fe]型のモデル分子を作成, 電子状態計算を行うことにより, 水素分子生成過程ならびに酸素分子との反応を解析することを目的とした。

【実験】X線結晶構造解析から得られた[Ni-Fe]型(PDB code: 2FRV), 及び[Ni-Fe-Se]型(PDB code: 1CC1)の座標を元に, モデル分子を作成した。

(1) 活性中心近傍モデル分子として, [Ni-Fe]型の及び [Ni-Fe-Se]型の Ni-SI1(活性状態), Ni-B(失活状態)モデル 4種類を作成した(図 1)。各モデル分子の電子状態は, 密度汎関数計算により求めた。プログラムは Gaussian 09 B.01を使用した。交換相関汎関数は B3LYP, 基底関数として Ni と Fe には 6-31G*, Se には 6-311G, その他の原子には 6-31Gを用いた。構造最適化計算を行った後, それぞれのモデル分子に対し電子状態を比較した。中心金属の電子状態は Ni-SI1 モデルでは Ni(II), Fe(II), Ni-B モデルでは Ni(III), Fe(II)とし, スピン状態はいずれも低スピンとして計算を行った。

(2) 活性中心周辺のアミノ酸残基の効果を調べるため, (1)のモデル分子に対し半径 4 Å以内に含まれる周囲アミノ酸 32 残基を付加した 8 種類のモデルを作成した。[Ni-Fe]型, [Ni-Fe-Se]型の活性中心近傍のアミノ酸は共に 32 残基であり, アミノ酸配列に相同性は見られるものの同一ではない(表 1)。(1)のモデル分子 4 種類に対し, [Ni-Fe]型, [Ni-Fe-Se]型それぞれの周辺アミノ酸残基を加えた計 8 種類のモデルを用いて構造最適化計算を行った(図 2)。

【結果】(1) 活性中心近傍モデルの構造最適化計算から得られた原子間距離・角度において, X線構造解析結果^[2]と同様の結果が得られたことから, モデルの中心金属の電子状態は妥当であると判断した。Ni-SI1, Ni-B モデルにおける各原子の NBO 電荷は, [Ni-Fe]型と [Ni-Fe-Se]型とで同様の値が得られた。活性中心近傍モデルでは, [Ni-Fe]型と [Ni-Fe-Se]型とは同様の電子状態であると示唆された。活性中心近傍モデルでは [Ni-Fe]型と [Ni-Fe-Se]型との間で電子状態の明らかな違いを見出すことはできなかった。

(2) 活性中心近傍モデルに周辺アミノ酸残基(32 残基)を加え, 活性中心近傍の構造最適化計算を行った。架橋配位子持たない Ni-SI1 モデルでは, 周辺アミノ酸残基が変化したことによる構造的な違いは見出すことができなかったが, [Ni-Fe-Se]型の周辺環境を持つ Ni-Bモデルにおいて, Ni-Fe間の原子間距離が[Ni-Fe]型よりも 0.5 Åほど長い結果が得られた。これに伴い Ni-S3-Fe, Ni-S4-Feの角度も大きくなっていった(表 2)。[Ni-Fe]型に比べて[Ni-Fe-Se]型の周辺環境は, OH 架橋配位子を持つ Ni-B モデルにおいて活性中心周りに影響を与えることが示唆された。

架橋配位子の酸素原子に注目すると, [Ni-Fe-Se]型の周辺環境を持つ架橋モデルの方が, [Ni-Fe]型に比べて負に帯電していた(表 3)。また OH 架橋配位子の結合エネルギーは, [Ni-Fe-Se]型周辺アミノ酸残基を持つモデルの方が低い結果が得られた。したがって[Ni-Fe]型と[Ni-Fe-Se]型との酸素耐性の違いは, 活性中心近傍の S/Se の影響よりも周辺タンパク質の影響が大きい可能性が示唆された。詳細なアミノ酸残基の影響について検討を行っている。

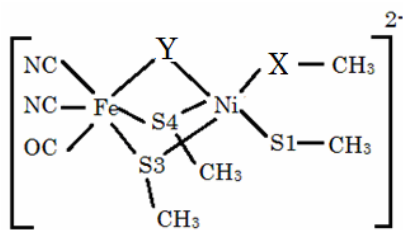


図1. 活性中心近傍モデル

Niに配位しているSをS1, S2, Ni-Fe間に架橋しているSをS3, S4とした.

モデル	X	Y
1	S	無
2	Se	無
3	S	OH ⁻
4	Se	OH ⁻

表1. 拡大モデルにおいて加えた周辺アミノ酸残基

アミノ酸残基	
[Ni-Fe]型	C//E/QRACGVCTYVH/Q/D//H//APR/L/VPS/DPCIACGVH
[Ni-Fe-Se]型	C//E/QRI CGVCPTAH/N/S//H//APR/L/SAT/DPULGCAVH

表2. 各モデルの Ni-Fe 距離(Å)および Ni-S3-Fe, Ni-S4-Fe の角度(°)

モデル	Ni-Fe	Ni-S3-Fe	Ni-S4-Fe
5	2.83	74.43	70.29
6	2.84	74.51	71.73
7	2.86	74.49	70.16
8	2.89	74.32	72.46
9	2.76	74.87	69.36
10	3.35	85.59	86.43
11	2.72	74.20	70.08
12	3.35	85.32	85.22

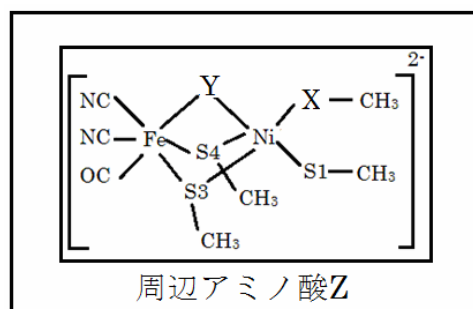


図2. 周辺アミノ酸を加えたモデル

表3. OH 架橋酸素原子の NBO 電荷および結合エネルギー(kcal/mol)

モデル	NBO電荷	結合エネルギー
3	-0.51	63.5
4	-0.56	61.4
9	-0.37	63.8
10	-0.64	60.6
11	-0.46	61.8
12	-0.67	58.1

モデル	X	Y	Z
5	S	無	[Ni-Fe]
6	S	無	[Ni-Fe-Se]
7	Se	無	[Ni-Fe]
8	Se	無	[Ni-Fe-Se]
9	S	OH ⁻	[Ni-Fe]
10	S	OH ⁻	[Ni-Fe-Se]
11	Se	OH ⁻	[Ni-Fe]
12	Se	OH ⁻	[Ni-Fe-Se]

参考文献

- [1] C. P. Wang, R. F. Jose, J. G. Moura, I. Moura, and E. P. Day, *J. Bio. Chem.*, **267**, 7378-7380 (1992)
 [2] P. Jayapal, M. Sundararajan, I. H. Hillier and N. A. Burton, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 4249-4257 (2008)