

ONIOM法を用いた[2Fe-2S]フェレドキシンの水素結合とイオン化ポテンシャルの関連に関する理論研究

阪大院基礎工

○江良伊織, 多田隼人, 青木笙悟, 寺本玲奈, 北河康隆, 中野雅由

Theoretical Study on the Relationship between Hydrogen Bonds and Ionization Potential of [2Fe-2S] Ferredoxin Using ONIOM Method

○Iori Era, Hayato Tada, Shogo Aoki, Rena Teramoto,
Yasutaka Kitagawa, Masayoshi Nakano

Department of Engineering Science, Graduate School of Osaka University, Japan

【Abstract】 The electron-transfer proteins play an important role in the redox reactions in biological systems. Some of them utilize the Iron-Sulfur clusters as their active sites. It has been suggested that their redox potentials are well controlled by hydrogen bonds around the active sites from the experimental studies on the structure-function relationship. However, a mechanism of the control has not been clarified. In this study, we focus on the active site of 2Fe-2S ferredoxin. We have constructed several models and have elucidated a relationship between ionization potentials and hydrogen bonds by density functional theory (DFT) calculations and ONIOM calculations. The results indicate that the ionization potentials are in proportion to the number of the hydrogen bonds around the active site. It is expected that a single hydrogen bond reduces the ionization potential by about 0.27 eV.

【序】 近年、光合成メカニズムの解明にむけて、生体内の酸化還元システムが注目を集めている。また、生体内で電子伝達を担う機能物質を模倣し、人工的な触媒反応に応用しようとする研究も行われている。電子伝達タンパク質の一つであるフェレドキシン(Fd)は、鉄-硫黄(Fe-S)クラスターを活性中心に有し、生体内で特定の酸化状態をとる。本研究で扱う[2Fe-2S]Fdは酸化状態 $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{Cys})_4]^{2+}$ 、還元状態 $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{Cys})_4]^{3-}$ のみが存在する。[2Fe-2S]Fdにはプラント型、アドレノドキシニン型などの種類があるが、同じ構造の活性中心を持つにも関わらず酸化還元電位が異なることが知られている。しかし、酸化還元電位が制御される機構については未だ不明な点が多い。この酸化還元電位の変化は、活性中心に含まれる2Fe-2Sクラスターのイオン化ポテンシャル(IP)変化が主たる原因であることが報告されており[1]、その機構として、クラスター周辺の硫黄原子がペプチド結合由来のN-Hと $[\text{S}\cdots\text{H}-\text{N}]$ 型の水素結合を形成することが示唆されている。しかし、X線構造解析結果から推定されているだけにとどまり、具体的な証明はなされていない。実験的には配位子のもたらす水素結合の効果と、周囲に存在する水分子がもたらす水素結合の効果を分けて考えることは難しい[2]。他方、当研究グループでは高電位鉄タンパク質において水素結合が[4Fe-4S]活性中心に及ぼす静電的な寄与を量子化学計算より明らかにしてきた[3]。そこで本研究では、2Fe-2S活性中心付近の水素結合の効果に着目し、水素結合とIPの関係を密度汎関数法(DFT)計算とONIOM法によって調べた。

【計算方法】 *Anabaena* PCC7119由来の酸化型[2Fe-2S]Fd(PDB ID: 1QT9)の構造を用いてモデルを構築した(Fig. 1)。活性中心周囲の水素結合がもたらす影響を調べるために、[2Fe-2S]クラスターと、周辺の水素結合しているアミノ酸残基を含んでいるモデ

ルを構築した[3]。モデル構造に取り入れるアミノ酸残基の数や種類を変えていくことにより、各水素結合が IP に及ぼす影響を調べた。計算手法は DFT 法を用い、汎関数として B3LYP を用いた。活性中心のスピンの極性を考慮するために、スピン非制限型計算を実行した。基底関数は、S に関しては 6-31+G*、その他の原子においては 6-31G*を用いた（水素の部分構造最適化の際は Fe、C、H に対しては 6-31G、N、O に対しては 6-31G*、S に対しては 6-31+G*を用いた）。また、活性中心周囲のタンパク場がイオン化ポテンシャルに及ぼす影響を調べるために、タンパク質全体を含んだ ONIOM 計算も行った。すべての計算において Gaussian 09 を用いた。

【結果・考察】 IP は上述の酸化型構造で計算した酸化状態と還元状態のエネルギーの差 ($E_{\text{ox}} - E_{\text{red}}$) から求めた。水素結合を含まないモデル(Fig.1 (1))での IP は -5.06 eV であったのに対し、全ての活性中心周囲の水素結合を含んだモデル(Fig.1 (2))の IP は -1.62 eV となった。詳細な解析の結果、これは、水素結合によってクラスター周辺に正の静電場が作られることによりクラスターの負電荷が中和され、その結果、還元状態が安定化されたことが原因であることがわかった。活性中心の周囲には複数の水素結合があるが、それぞれの効果を調べるために、個々の水素結合のみを含むモデル構造を構築し IP を求めた。すると、それぞれの水素結合が活性中心の IP に与える変化量には違いがあまり見られなかった。他方、水素結合の数に対して IP をプロットすると Fig. 2 のようになった。この結果より、水素結合の数が増えるほど、還元状態が安定化され、活性中心の IP が正の方向に移動することが示された。また水素結合 1 つあたり 0.27 eV 程度 IP を変化させることも明らかとなった。

これらの結果より、酸化還元電位は活性中心付近の水素結合の数により変化させることができ、新規触媒の設計指針となりうることが明らかになった。本研究では、タンパク質による場の効果をさらに考察するために、ONIOM 法を用いてタンパク質全体の計算も実行した。その結果の詳細は当日報告する。

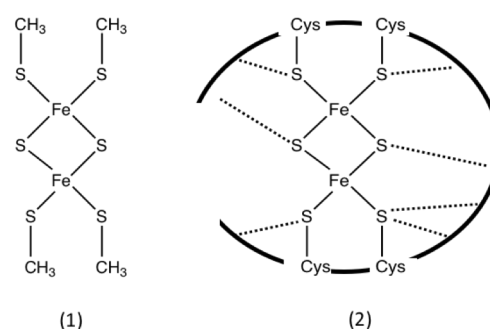


Figure 1. Model structures: (1) model excluding hydrogen bonds, and (2) model including hydrogen bonds of the amino residues. Dotted lines express the hydrogen bonds.

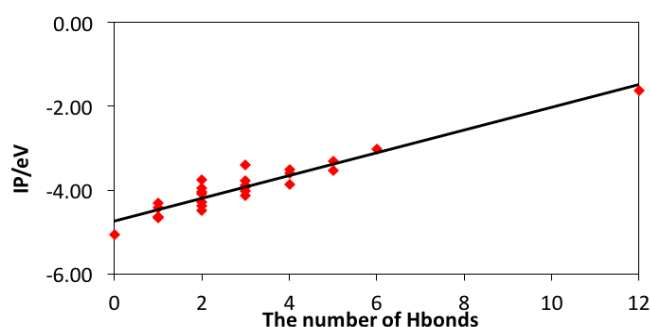


Figure 2. Number of hydrogen bonds vs. ionization potential.

【参考文献】

- [1] L. Noodleman *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 1923(2003).
- [2] James A. Birrell *et al.* *Biochemistry.* **55**, 4344(2016).
- [3] Y. Kitagawa *et al.* *Int. J. Quant. Chem.* **108**, 2881 (2008); *Quant. Sys. Chem. Phys.* **26**, 345 (2012).