

Title	The Role of NH...S Hydrogen Bonding and Aromatic Groups in the Metal Center of Iron-Sulfur Proteins
Author(s)	孫, 為銀
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38094
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	孫 為 銀
博士の専攻分野の名称	博士 (理 学)
学位記番号	第 10608 号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科高分子学専攻
学位論文名	The Role of NH...S Hydrogen Bonding and Aromatic Groups in the Metal Center of Iron-Sulfur Proteins (鉄-硫黄蛋白質の金属中心における NH...S 水素結合と芳香環の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 中村 晃 (副査) 教授 蒲池 幹治 教授 勝部 幸輝 助教授 上山 憲一

論 文 内 容 の 要 旨

鉄-硫黄蛋白質の一種であるルブレドキシソ (Rd) は *Clostridium pasteurianum* などの嫌気性細菌に含まれ、一つの鉄イオンに四つのシステインチオラート配位子で囲まれた活性中心を持つ。これまでに十数種類の Rd が発見されている。これらの蛋白質は Fe (II) / Fe (III) の redox couple を利用して生体内で電子伝達をする。酸化還元電位は凡そ -0.057 V vs. NHE (-0.31 V vs. SCE) であるが、詳細な機能及び蛋白質のどの部分が電子伝達機能に関連しているかは天然の蛋白質などの研究から明らかにされていない。

本研究では、Rd の活性中心に着目し、鉄イオンの周りのアミノ酸残基がどのように蛋白質の性質を制御するかなどを調べるため、システイン残基を含むオリゴペプチド-Fe (II) 錯体を合成し、そのスペクトル及び電気化学的性質について研究を行なった。

錯体の合成はアセトニトリルなどの有機溶媒中で $(Et_4N)_2 [Fe^{II}(S-t-Bu)_4]$ と SH-free ペプチド配位子との交換反応によって行なった。アミドNHを重水素置換した N^2H -ペプチドはペプチド配位子と CH_3OD との 1H - 2H -交換により合成した。全ての操作はアルゴン気流下で行なった。

NH...S 水素結合について：キレートペプチド配位子を持つ Fe (II) 錯体、例えば $[Fe(Z-cys(1)-Pro-Leu-cys(2)-OMe)_2]^{2-}$ (1) 及び $[Fe(Z-cys(1)-Pro-Leu-cys(2)-Gly-Val-OMe)_2]^{2-}$ (2) を合成し、可視紫外吸収スペクトル、CD 及び 1H -NMR スペクトルなどで同定した。これらのモデル錯体は天然の Rd と同様に 312 nm 付近に LMCT 吸収極大を示した。また CD スペクトルにおいても錯体 1, 2 はいずれも天然の Rd とよく似たパターンのスペクトルを示した。錯体 1, 2 の 1H -NMR も報告された *D. gigas* Rd の 1H -NMR スペクトルとよく似ており、鉄イオンからのコンタクトシフトを受けた $CysC_\beta H_2$ シグナルが 180 と 250 ppm の間に現れた。しかも、これらのシグナルの温度変化が Curie-Weiss 則に従うことから、ペプチド配位子が Fe (II) にキレート配位し、天然の Rd とよく似ている単核の FeS_4 コアを持つことがわかる。

これらのモデル錯体の酸化還元電位を調べた結果、錯体 1, 2 の酸化還元電位は CH_3CN 中それぞれ -0.54, -0.46 V vs. SCE であり、 $[Fe(SCH_2CH_3)_4]^{2-}$ (-1.08 V vs. SCE in CH_3CN) のような Fe (II) -アルカンチオラート錯体に比べ正側にシフトすることがわかった。特に、より非極性溶媒である DME 中では錯体 1 の酸化還元電位は -0.59 V vs. SCE であるのに対し、錯体 2 は天然の Rd の -0.31 V vs. SCE に近い -0.35 V vs. SCE に可逆的な酸化還元電位を示した。

これらの酸化還元電位の挙動についてアミドの NH を N^2H に置換したペプチド錯体の 2H -NMR を測定して調べ

た。錯体 1, 2 の $^2\text{H-NMR}$ では Cys (2)- N^2H と Leu- N^2H がそれぞれ 40, -5 ppm 付近に観測され, Cys (2)- $\text{N}^2\text{H} \cdots \text{S-Cys}$ (1) と Leu- $\text{N}^2\text{H} \cdots \text{S-Cys}$ (1) の形成によるものである。また, 錯体 2 ではさらに Val- N^2H が, -20 ppm に現れ, Val- $\text{N}^2\text{H} \cdots \text{S-Cys}$ (2) の形成を示した。より非極性溶媒 DME 中ではこの Val- $\text{N}^2\text{H} \cdots \text{S-Cys}$ (2) 水素結合がより強固になり, 天然の Rd に近い酸化還元電位を示すことがわかった。これらのモデル錯体の研究から天然の Rd の活性中心は同様の $\text{NH} \cdots \text{S}$ 水素結合の形成によって酸化還元電位を正側シフトさせていると類推できる。

芳香環の役割について: $[\text{Fe}(\text{Z-cys}(1)\text{-Pro-Leu-cys}(2)\text{-Gly-X})_2]^{2-}$ [$\text{X}=\text{NH-C}_6\text{H}_4\text{-p-F}(3)$, $\text{NH-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-p-F}(4)$, $\text{NH-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-p-F}(5)$, $\text{Phe-OMe}(6)$] を合成し, 芳香環の効果について調べた。天然の Rd で観測された 330 nm 付近の吸収は錯体 1, 2 では現れないが, 錯体 3, 4, 5, 6 では強い吸収として観測された。また, 錯体 3, 4, 5 のフッ素を利用して, $^{19}\text{F-NMR}$ を用いて調べた結果, これらの錯体では芳香環と硫黄原子の間に相互作用があることがわかった。この芳香環と硫黄原子との相互作用と $\text{NH} \cdots \text{S}$ 水素結合との協同作用により, 芳香環を含有する錯体 3, 4, 5, 6 が酸素及び水に対してより安定になることが判明した。この安定性によって, これらの錯体はミセル中で比較的安定であり, その錯体的挙動について調べることが出来た。

天然の Rd でも同様の $\text{NH} \cdots \text{S}$ 水素結合及び Phe, Tyr などの芳香環が FeS_4 コアの近傍に存在し, 生体系の中に FeS_4 コアの形成と共に電子伝達などの働きに重要な役割を果たしていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

鉄・硫黄蛋白質には, 鉄イオンにシスティンの硫黄原子が結合し, 主鎖のアミド結合の NH 基により生ずる $\text{NH} \cdots \text{S}$ 型の水素結合が存在すると推定されている。この水素結合の役割を系統的なペプチド鉄錯体の合成と広範な NMR 研究によって調べ, 電子移動反応を合目的に調節している事を見出した。従って本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。