The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【30】

氏　　名	孫（そん）　為（い）　銀（ぎん）
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ン（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 Vvs.NHE（-0.31 Vvs.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 $(Et_4N)_2[Fe^{II}(S\text{-}t\text{-}Bu)_4]$ 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^{1}H-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^{1}H-NMRも報告されたD.gigas Rdの^{1}H-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,-0.46Vvs.SCEであり，$[Fe(SCH_2CH_3)_4]^{2-}$（-1.08Vvs.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 Vvs.SCEであるのに対し，錯体2は天然のRdの-0.31 Vvs. SCEに近い-0.35 Vvs. 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^{2}H-NMRを測定して調べ

た。錯体1，2の^{2}H-NMRではCys(2)-N^{2}HとLeu-N^{2}Hがそれぞれ40,-5 ppm付近に観測され，Cys (2)-N^{2}H …S-Cys (1)とLeu-N^{2}H…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^{2}H が,-20 ppmに現れ，Val-N^{2}H…S-Cys (2)の形成を示した。より非極性溶媒DME中ではこのVal-N^{2}H…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NH…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：[Fe (Z-cys (1)-Pro-Leu-cys (2)-Gly-X)$_2$]$^{2-}$ [X＝NH-C_6H_4-p-F(3), NH-CH_2-C_6H_4-p-F(4), NH-CH_2-C_6H_4-p-F(5), 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}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NH…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NH…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NH…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。