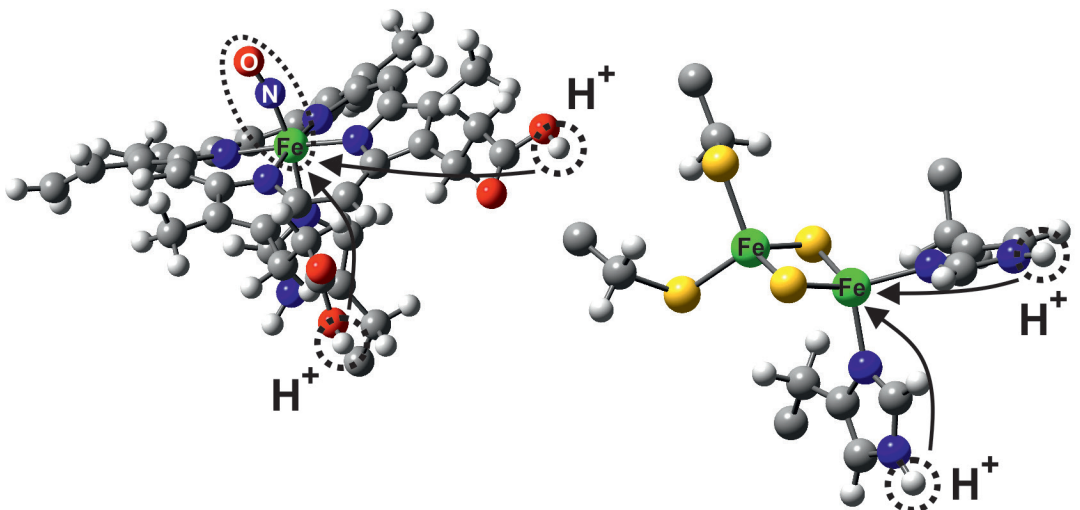


# Auswirkungen von Protonierung auf die elektronischen und vibronischen Eigenschaften von Eisenzentren in Häm- und Eisenschwefel-Proteinen

Hendrik Auerbach



Berichte aus der Biophysik

**Hendrik Auerbach**

**Auswirkungen von Protonierung auf  
die elektronischen und vibronischen  
Eigenschaften von Eisenzentren in  
Häm- und Eisenschwefel-Proteinen**

D 386 (Diss. Technische Universität Kaiserslautern)

Shaker Verlag  
Düren 2019

**Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek**

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Kaiserslautern, TU, Diss., 2019

Copyright Shaker Verlag 2019

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-6777-4

ISSN 1439-7897

Shaker Verlag GmbH • Am Langen Graben 15a • 52353 Düren  
Telefon: 02421 / 99 0 11 - 0 • Telefax: 02421 / 99 0 11 - 9  
Internet: [www.shaker.de](http://www.shaker.de) • E-Mail: [info@shaker.de](mailto:info@shaker.de)

## Zusammenfassung

Die Regulation der Aktivität und Funktion von Proteinen findet in biologischen Systemen über verschiedene Prozesse statt. Einer davon ist z. B. eine pH-bedingte Konformationsänderung der Tertiärstruktur des Proteins. Diese kann Einfluss auf die Funktion des Proteins haben. Handelt es sich dabei um einen reversiblen Prozess kann die Proteinfunktion aktiv über den pH-Wert gesteuert werden. Im Rahmen dieser Arbeit werden die Auswirkungen von Protonierungen auf die elektronischen und vibronischen Eigenschaften von Eisenzentren in den zwei großen Untergruppen der Metalloproteine, den Häm- und den Eisenschwefel-Proteinen, untersucht. Hierzu werden die konventionelle Mössbauerspektroskopie sowie synchrotron-basierte, resonante, elastische (NFS) und inelastische (NIS) Streuexperimente in Kombination mit Dichtefunktionaltheorie-Rechnungen (DFT-Rechnungen) benutzt. Die ausgewählten Methoden geben sowohl Aufschluss über Oxidations- und Spinzustände der Eisen-Ionen als auch über deren dynamische Eigenschaften im Protein.

Das Protein Nitrophorin (NP) ist ein Hämprotein mit der Fähigkeit NO reversibel an das dreiwertige Eisen-Ion des Hämrings zu binden. Die Freisetzung von NO wird dabei über den pH-Wert des umgebenden Milieus gesteuert. Die experimentell ermittelten pDOS der mit NO ligandierten Isoformen NP2 und NP7, sowie der Mutanten Leu132Val von NP2 und Glu27Val von NP7 zeigen ein komplexes Schwingungsbandenmuster bis  $400\text{ cm}^{-1}$ . Oberhalb tritt eine ausgeprägte Bande um  $\sim 600\text{ cm}^{-1}$  auf. Diese ist charakteristisch für Fe-NO Komplexe mit einer elektronischen Konfiguration, die zu  $\{\text{FeNO}\}^6$  Komplexen konsistent ist.

Die DFT-Simulationen an Kristallstrukturen der verwendeten Proteine mit verschiedenen protonierten Carboxylresten des Hämrings und den daraus bestimmten simulierten pDOS zeigen deutlich wie Protonen direkte Auswirkungen auf die Fe-NO Schwingungen besitzen. Darüber hinaus erlaubt die Charakterisierung der Molekülorbitale (MOs) einen tieferen Einblick in die zugrundeliegende elektronische Struktur der Fe-NO Einheit.

Neben den Nitrophorinen wurde in der Arbeit das Eisenschwefel-Protein APD1 untersucht. Die Charakterisierung des Proteins mittels konventioneller Mössbauerspektroskopie hat ergeben, dass das Protein einen  $[\text{2Fe-2S}]$ -Cluster enthält, der im nativen Zustand die Gesamtladung „2+“ und einen diamagnetischen Grundzustand besitzt. Die ermittelten Werte für Isomerieverschiebung und Quadrupolaufspaltung sind charakteristisch für eine Rieske-ähnliche Clusterkoordination. Rieske-ähnliche Fe/S-Cluster können zusätzlich zum Transfer von Elektronen ebenfalls Protonen, durch die Protonierung oder Deprotonierung der Imidazolringe der koordinierten Histidine, transferieren. Zur Überprüfung dieses Verhaltens, wurde der pH-Wert der Proteinlösung variiert, was einen nachweisbaren Einfluss auf die elektronische Struktur des Eisen-Ions mit nicht Cystein-Liganden des  $[\text{2Fe-2S}]$ -Clusters hat.

Die am Synchrotron durchgeführten NIS-Experimente haben zusätzlich gezeigt, dass eine geänderte elektronische Struktur einen nachweisbaren Einfluss auf das vibronische Verhalten des  $[\text{2Fe-2S}]$ -Clusters insgesamt besitzt. Die Positionen einzelner charakteristischer Banden in den experimentell bestimmten pDOS zeigen einen pH-abhängigen Versatz. Die durchgeführten DFT-Rechnungen an einem Strukturmodell für den  $[\text{2Fe-2S}]$ -Cluster erlauben die teilweise Klassifizierung der zugrundeliegenden Schwingungen.