

## 양자계산을 이용한

# Formate Dehydrogenase (FDH)의 메커니즘 연구

김현욱, 이준성, 김용빈, 장락우

서울특별시 노원구 광운로 20, 광운대학교 화학과, 139-701.

전화: (010) 8900-0748, 이메일: hwgim12@gmail.com

Chemworks (or Chemworks2) ID: kw12150

## 초록

최근 이상기후의 원인으로 손꼽히는 물질의 중심에는 이산화탄소가 있으며 이를 제거하기 위한 여러 연구가 진행되고 있다. 최근에는 전극이 있는 수조에 미생물을 넣고 이산화탄소를 화학적 에너지로 사용할 수 있도록 알코올로 변환시켜주는 시스템이 발표되었다. 이에 따라 본 연구진에서는 이러한 전극 시스템에서 이용될 수 있는 효소를 찾고 효소촉매화 반응의 메커니즘을 자세히 연구하고자 하였다. 본 연구에서 사용된 효소인 *Formate dehydrogenase (FDH)* 는 *formate* 를 조효소인 *nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>)* 를 사용하여 이산화탄소로 산화시키는 반응을 촉진시키는 효소이다. 본 연구에서는 이러한 *FDH* 의 산화반응의 역반응을 이용하여 이산화탄소를 효과적으로 분해하는 메커니즘을 연구하기에 앞서 *wild type* 의 반응 메커니즘에 대해 깊이 연구하고자 *B3LYP* 방법의 양자계산을 하여 반응의 *transition state* 와 *potential energy* 를 조사하였다.

**핵심어** : *Formate dehydrogenase (FDH)*, 효소 촉매화 반응, *B3LYP*, *NAD<sup>+</sup>*

## 서론

최근에 전극이 있는 수조에 미생물을 넣고 이산화탄소를 화학적 에너지로 사용할 수 있도록 알코올로 변환시켜주는 시스템이 발표되었다.<sup>1</sup> 이에 따라 본 연구진에서는 이러한 전극 시스템에서 이용될 수 있는 적합한 효소를 찾던 중  $\text{NAD}^+$ -dependent 탈수소효소 중의 한 가지인 formate dehydrogenase (FDH) 에 주목하게 되었다. FDH 는 formate 에서 hydride 를 조효소인  $\text{NAD}^+$ 로 이동시키면서 formate 가 이산화탄소로 되는 반응을 촉진하는 효소이다.<sup>2</sup> 이러한 효소촉매화 반응의 메커니즘은 computational 또는 experimental 하게 연구되어졌고 많은 종류의 FDH 에 대한 X-ray crystal structure 가 보고되어 있다. 그 중에서도 특히 Gaussian 94 를 사용하여 transition state 를 찾고 이때의 potential energy 를 구해낸 연구가 있었다.<sup>3</sup> 본 연구진은 이 연구를 바탕으로 Gaussian 09 에서도 동일한 결과를 나타내는지 확인하는 연구를 진행 하였다.

## 이론 및 계산방법

소프트웨어는 Gaussian09<sup>4</sup> 를 이용하여 DFT 중의 하나인 B3LYP 방법을 이용하였으며, basis set 으로는 3-21G 를 이용하였다. Transition state 를 찾기 위해 Synchronous Transit-Guided Quasi-Newton (STQN)<sup>5</sup> 방법을 이용하였다. 이 방법을 이용하기 위해 반응물과 생성물을 geometry optimization 을 수행하였다. 계산된 결과는 모두 frequency 계산을 통하여 optimization 의 경우 imaginary frequencies 가 없는 것을 확인하고, transition state 의 경우 단 한 개의 imaginary frequency 가 있는 것을 확인하였다. 또한 계산된 transition state 의 확실한 검증을 위해 Intrinsic Reaction Coordinate (IRC)<sup>6</sup> 계산을 수행하였고 IRC 계산에서 얻어진 반응물과 생성물을 토대로 다시 optimization 을

수행하여 반응물과 생성물이 되는 것을 확인하고 각각의 frequency 를 계산하여 zero-point energy correction term 을 구했다. 그리고 마지막으로 각각의 에너지를 계산하였다.

### 결과 및 토의

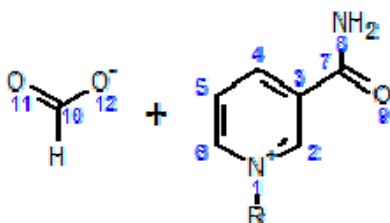


그림 1. 연구에 사용된 NAD<sup>+</sup> 및 formate의 구조

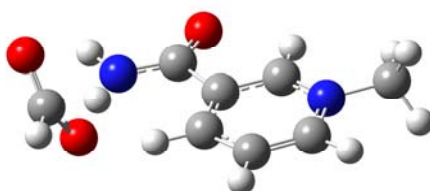


그림 2. Reactant의 optimization 수행 후 분자구조.

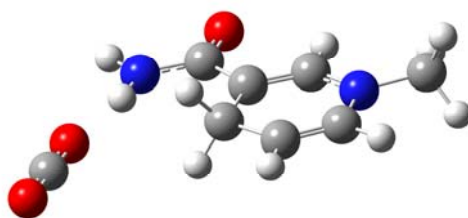


그림 3. Product의 optimization 수행 후 분자구조.

연구에 사용된 NAD<sup>+</sup> 는 X-ray crystal structure (PDB ID : 2NAD)<sup>7</sup> 를 이용하여 계산의 효율성을 위해 그림 1 의 R 그룹을 CH<sub>3</sub> 로 바꿔주었고 formate 로는 직접 PDB 를 디자인 하여 사용하였다. Formate 의 위치는 여러 가지 배치를 시도해 보았는데 그 중에서도

formate 의 수소를 4 번 탄소 쪽을 바라보게 위치 시켰을 때에만 product 로 optimization 이 되는 것을 확인하였다. 만약 10Å 정도 떨어진 거리에 formate 를 위치시키게 되면 formate 의 음전하를 띄는 산소원자가 4번탄소에 반응을 하려고 하거나 1 번 질소에 가서 반응이 진행되려는 모습을 보이는 경향을 확인하였다. 이러한 내용을 바탕으로 product 의 optimization 은 순조롭게 진행되었으나 reactant 의 optimization 의 경우만 그림 1 의 4 번탄소와 10 번 탄소를 freeze 해 놓고 optimization 을 수행하였다. 위의 방법으로 optimization 한 구조는 그림 2 와 그림 3 이다.

이러한 방법으로 구한 reactant 와 product 의 optimization 된 구조를 이용해서 transition state 를 찾기 위해 QST2 계산을 수행하였다. 이 결과로 얻어진 구조는 그림 4 이다. 이 때 pyrimidine ring 의 평면은 평평해야 하지만 4 번 탄소가 아주 약간 위쪽으로 올라간 boat form 같은 양상을 보여주는 것을 확인하였다. 이와 마찬가지로 8 번 질소 또한 formate 의 음전하를 띄는 12 번 산소원자 쪽으로 비틀어지는 모습을 확인할 수 있었다. (그림 5) 이러한 결과는 기존에 발표되어있던 논문의 내용과 매우 유사한 것을 확인하였다.

Transition state 를 찾아낸 후에는 이러한 transition state 의 구조가 합당한지를 확인하기 위해 IRC 계산과 frequency 계산을 수행하였다. 예상했던 대로 transition state 에서 reactant 와 product 로 분리되는 모습을 확인할 수 있었다. 그렇지만 product 쪽과 reactant 쪽에서의 minimum 구조는 찾아내지 못하였다. 어쩔 수 없이 IRC 계산 결과로 얻어진 가장 낮은 에너지 상태의 구조를 minimum 이라고 예상하고 다시 optimization 을 수행하였더니 input 으로 넣어주었던 reactant 와 product 와 유사한 계산 결과를 구하였다. 이 결과로서 transition state 가 맞을 것이라고 예상하고 더욱 확실한 결과를 확인하기 위해 frequency 계산을 수행하였다. Frequency 계산에서는 imaginary

frequency 를 갖는지를 확인하려고 하였다. 단 1 개의 imaginary 를 결과로 확인하고 찾아낸 transition state 가 합당하다고 판단 할 수 있었다. 이 때의 진동모드는 11 번, 4 번 탄소원자와 formate 의 수소원자, 4 번 탄소원자에 결합하고 있는 수소원자의 진동임을 결과로 확인하였다.

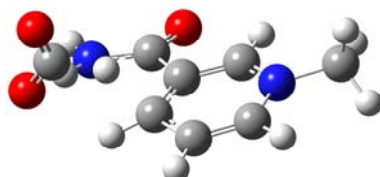


그림 4. Transition state optimization 수행 후 분자구조.

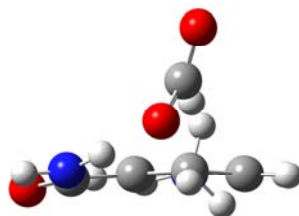
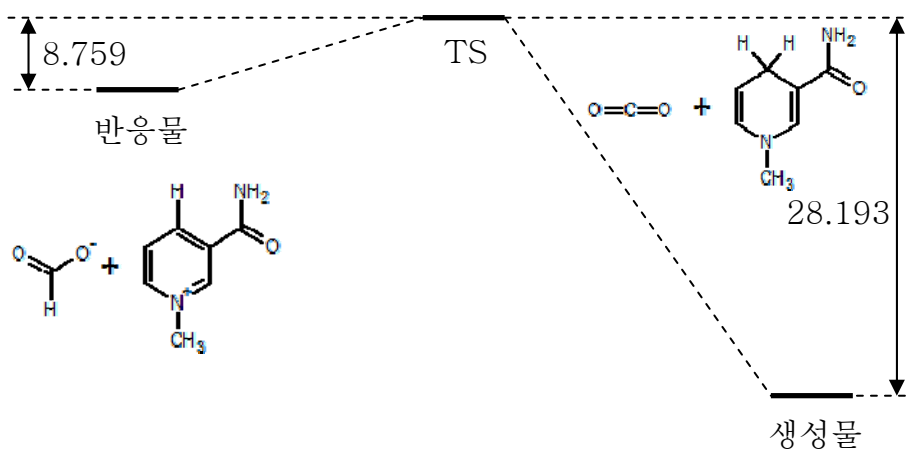


그림 5. Transition state optimization 수행 후 옆에서 본 분자구조.

각각의 에너지를 계산하기 위해서 IRC 에서 얻어낸 reactant 와 product 를 사용하고 transition state 는 QST2 계산의 결과를 사용하였다. 각각의 에너지는 기존의 발표되었던 논문의 결과와 약 4 hartree 정도의 차이를 나타내었다. 이는 논문의 결과와 basis set 이 다르기 때문에 약간의 차이는 보일 것으로 예상되었다. 그러나 reactant 와 transition state 의 에너지 차이, product 와 transition state 의 에너지 차이는 상당히 다른 결과를 보여준다. 이것은 단순히 basis set 의 차이라기 보다는 IRC 계산의 결과가 완벽하지 않기 때문에 아직 발견해내지 못한 minimum 이 있을 것이라고 생각된다. 또한 reactant 의 optimization 에서는 특정 원자를 freeze 시켜놓았기 때문에 자유롭게 원자들이 자유롭게

움직이면서 minimum 을 찾는 것을 방해하였으므로 이러한 결과가 나온다고 생각한다.



**그림 6.** 반응물과 생성물의 에너지 도표. 그림에 있는 숫자는 각각 reactant와 transition state의 에너지의 차이, product와 transition state의 에너지의 차이 (kcal/mol) 이다. 또한 계산의 정확성을 위해 각각의 에너지에 zero-point correction term으로 보정해주었다.

State	Energy(hartree)	Zero-point correction term(hartree)
Reactant	-642.46543145	0.179377
TS	-642.45065843	0.178563
Product	-642.49675779	0.179732

**표 1.** 각각의 상태에서의 에너지 계산 결과. 각각의 상태는 그림 5의 상태이다.

## 결론

본 연구에서는 EDISON 사업의 결과로 나온 Chemworks2 를 사용하여 formate dehydrogenase 의 반응 메커니즘에 대해 연구하였으며 기존의 연구결과와 비교하였을 때 경향성은 비슷한 것을 확인하였다. 향후 연구에서 신뢰성이 높은 결과를 얻기 위해서는 더 많은 initial coordinate 가 필요하며, 더 높은 수준의 basis set 을 사용하는 연구가 필요할 것이다.

## 참고문헌

1. H. Li et al., *Science*. **2012**, *335*, 1596.
2. T. Shinoda et al., *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 17068–17075.
3. B. Schiøtt et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7192–7200.
4. Gaussian 09, Revision A.1, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.
5. C. Gonzalez et al., *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 5523.
6. C. Peng et al., *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 49–56.



7. V. S. Lamzin et al., *J. Mol. Biol.* **1994**, *236*, 759-785