

高難度物質変換反応を指向した人工金属酵素の開発

工学研究科 応用化学専攻

准教授 大洞 光司

Researchmap <https://researchmap.jp/Oohora>



研究の概要

本研究では、ヘムタンパク質ミオグロビンの反応性を電子的に精密制御する新しい手法として、天然ヘムをトリフルオロメチル基を導入した人工鉄ポルフィリンに置換した (Figure 1)。酸化還元電位を体系的に変化させた結果、FePor(CF₃)₂を導入した再構成ミオグロビンは、カルベン中間体の生成と反応性を大幅に高め、脂肪族や内部アルケンなど従来触媒困難な基質に対しても高効率なシクロプロパン化反応を実現した (Figure 2)。さらに、電子構造設計が中間体の性質を左右することを明らかにし、補因子改変による人工金属酵素設計の新概念を提示した。

研究の背景と結果

ヘムタンパク質は酸化還元反応や酸素結合の天然の機能に加えて、カルベンやナイトレン挿入反応など、多様な非天然化学変換も触媒することが知られている。これまでその反応性制御は主にタンパク質変異導入によって行われてきたが、構造改変のみでは金属中心の電子状態を自在に制御することは困難であり、触媒反応性や中間体の性質を本質的に変えることは難しかった。そこで本研究では、タンパク質骨格を保持したまま補因子の電子特性を改変することで、金属中心の酸化還元電位を系統的に変化させる「レドックスエンジニアリング」を提案した。具体的には、ミオグロビン (Mb) の天然ヘムを、β位にトリフルオロメチル基を1個または2個導入した人工鉄ポルフィリン FePorCF₃ および FePor(CF₃)₂、さらに還元的な鉄ポルフィセン FePc に置換した。これらの Fe (II) /Fe (III) 酸化還元電位は +147 mV から -198 mV (vs NHE) の範囲にあり、FePor(CF₃)₂ を組み込んだ Mb は最も正にシフトした電位を示した。触媒試験の結果、rMb (FePor(CF₃)₂) は従来の天然ヘム-Mb や他の人工ヘム系を凌駕する高活性を示し、特に非活性な脂肪族アルケンや内部アルケンに対してもシクロプロパン化反応を効率的に進行させた。一方、Mb (FePc) ではカルベン中間体の生成は速いが基質反応性が低く、生成物の選択性も異なった。速度論的解析およびスピントラップ実験から、rMb (FePor(CF₃)₂) ではラジカル性中間体、Mb (FePc) では求電子的中間体が関与していることが明らかになった。さらに、ハメットプロット解析により、補因子の電子特性が反応中間体の性質と生成物選択性を支配していることが定量的に示された。これらの結果から、金属中心の酸化還元電位が触媒反応の経路と選択性を決定づける要因であることが明らかとなり、補因子の電子状態設計による人工金属酵素の新しい構築指針が確立された。

研究の意義と将来展望

本研究は、タンパク質変異導入ではなく、補因子の電子構造を制御して触媒機能を自在に調整するレドックスエンジニアリングに基づく人工酵素設計の新しい方向性を示した。FePor(CF₃)₂ を導入した再構成ミオグロビンは、酸化還元電位の正方向シフトによりカルベン種の反応性を飛躍的に高め、酸素存在下でも高い触媒活性と選択性を発揮した。この成果は、炭化水素変換やグリーンケミストリー、精密合成

への応用に加え、今後は酸化還元反応、光触媒反応、CO₂還元などへの展開も期待される。電子状態に基づく酵素設計は、持続可能な化学技術創出に寄与する基盤技術となる。

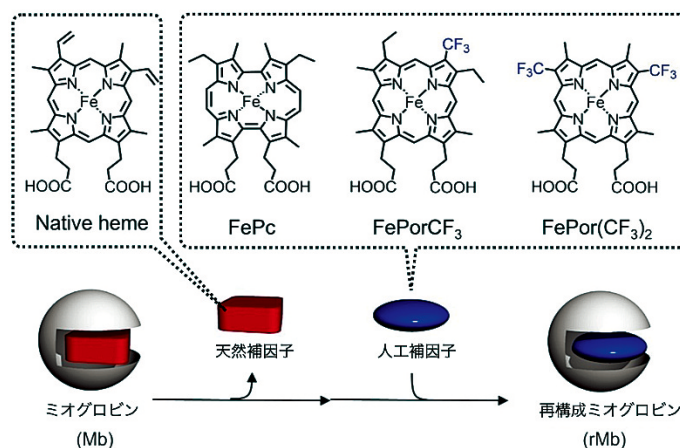


Figure 1 天然および人工補因子の化学構造と再構成ミオグロビン調製の模式図

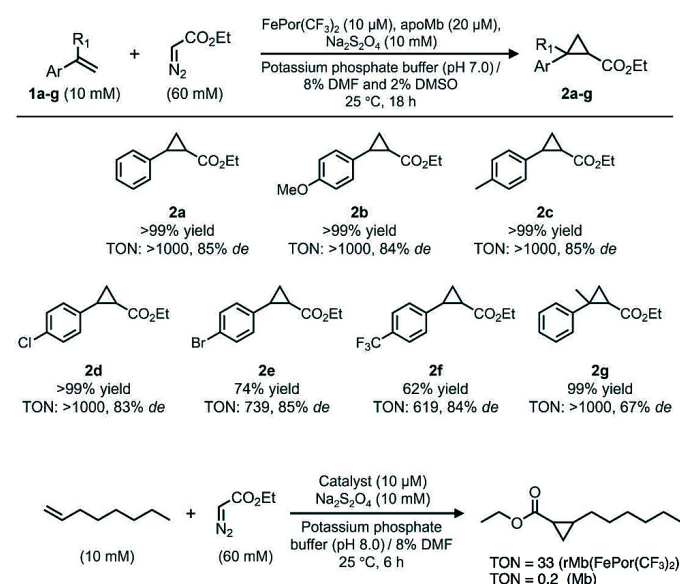


Figure 2 (上) スチレン誘導体シクロプロパン化の収率と TON (触媒回転数) (下) 1-octene の TON

特許

論文 Kagawa, Yoshiyuki; Oohora, Koji; Hayashi, Takashi et al. Redox engineering of myoglobin by cofactor substitution to enhance cyclopropanation reactivity. *Angewandte Chemie International Edition*. 2024, 63(36), e202403485. doi: 10.1002/anie.202403485

参考URL <http://www.applied-bioinorganic.jp/jp/profile/oohora/>

キーワード 人工金属酵素、補因子工学、レドックス制御触媒