

4P084

再構成ミオグロビンの水酸化反応機構の解析

(京都大学) ○内田芳裕、林重彦

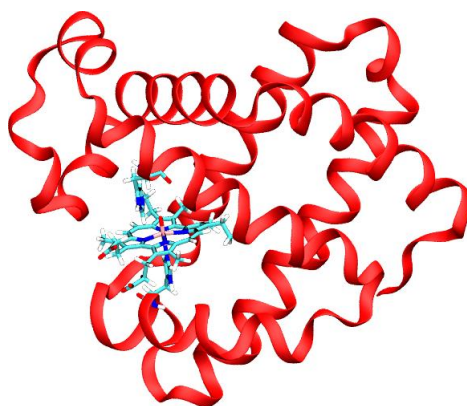
A Theoretical Research on Hydroxylation Reaction Mechanism of Reconstituted Myoglobin

(Kyoto Univ.) ○Yoshihiro Uchida, Shigehiko Hayashi

【はじめに】

ミオグロビンはヘム b 補因子をもつ球状タンパク質で、酸素分子貯蔵タンパク質として機能する。ヘムをもつタンパク質には、ペルオキシダーゼやシトクロム P450 など酸化反応を触媒する酵素が多くみられるが、このミオグロビンはほとんどペルオキシダーゼやモノオキシダーゼとしての活性をもたず、過酸化水素や過酸といった酸素ドナーの存在下でアルカンの水酸化反応に対して触媒作用を及ぼさない。そこで、ミオグロビンの酵素活性を人工的に上げるという研究が意欲的になされており、この課題の解決は私たちの天然の酵素に対する理解を深めるとともに新奇な酵素の設計に指針を与えることが期待されている。

a)



b)

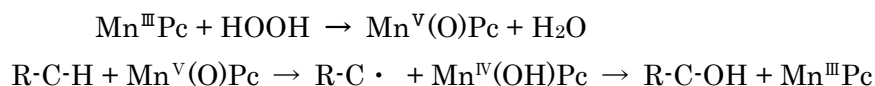


図 1. a) rMb の構造。中心に $\text{Mn}^{\text{V}}(\text{O})\text{Pc}$ が位置し、その周辺にはアルケン結合ポケットが存在する。b) rMb 中での水酸化反応の反応機構。C-H 結合の活性化が律速段階であることが実験的に分かっているため、本研究ではこの段階に着目する。

ミオグロビンの触媒作用をもたせる手法として、ヘムの周りのアミノ酸残基を変異させる、ヘムを人工的な物質に置換する等が考えられているが、鉄含有ポルフィリンをマンガン含有ポリフィセン(MnPc)に置換した再構成ミオグロビン(rMb)を合成することにより、ミオグロビンが C(sp³)-H 結合を活性化しアルカンの水酸化反応に対する触媒作用を取得するという報告がなされた[1] (図 1)。マンガン含有ポルフィリン類縁体は、単体としても C-H 結合活性化触媒として長く研究されている。しかし、その rMb の酵素反応の回転数は 13 回とあまり高くない。そこで、どのように rMb が水酸化反応に対する酵素活性を取得したのかを分子レベルで明らかにし、MnPc 周辺の環境をどのように設計すれば rMb の回転数を増加させることができるかという問題に対する知見を得たいと考え、この MnPc を補因子としてもつ rMb の分子シミュレーションを行った。

【方法】

まず、MnPc 単体の水酸化反応の分子機構を調べるために、MnPc とアルカンとの反応の遷移状態を探索し、電子状態の変化について解析を行った。次に、rMb 中での反応の分子機構を調べるために、ハイブリッド QM/MM 法を用いて遷移状態を探索し、MnPc とその周辺の反応に伴う構造変化について解析を行った。

【結果と考察】

MnPc 単体とアルカンの反応の分子機構を解析したところ、マンガンの 3d 電子だけでなくポリフィセンのπ電子も反応遷移状態の電子状態に深く関与していることが分かった (図 2)。このことが、rMb が触媒活性を得た要因だと示唆される。

さらに、rMb 中での反応の遷移状態の電子状態と分子構造、周辺の残基との相互作用についても解析を行う。

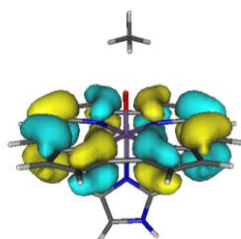


図 3. Mn^V(O)と強く相互作用するπ軌道。この軌道が一電子に占有されているため、C(sp³)-H 結合の電子を強く吸引する。

【参考文献】

- (1) Koji Oohara, Takashi Hayashi et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 17282.