

3-6 関連領域研究系

関連分子科学第一研究部門

渡辺 芳 人 (教授)

A-1) 専門領域：生物有機化学、生物無機化学

A-2) 研究課題：

- a) 高原子価状態にあるヘム酵素および鉄ポルフィリン錯体による基質酸化の分子機構
- b) 人工ペルオキシゲナーゼの分子設計
- c) 非ヘム酸化酵素のモデル系構築および不安定酸化活性種のキャラクタリゼーション
- d) 水溶液中での金属 - ハイドライド錯体の合成と基質還元反応の開拓

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) ペルオキシダーゼやシトクローム P-450 などの酸化反応を行うヘム酵素は、スルフィドやオレフィン類の酸化反応を高効率で触媒する。本研究では、低温ストップフロー法を用いることで反応素過程の直接観測を行い、上記反応過程が鉄に配位したオキソ酸素の基質への直接添加反応であることを明らかにした。現在、その詳細を検討中である。
- b) ヘムタンパク質は、補欠分子属としてヘム（鉄ポルフィリン錯体）を有する蛋白の総称であるが、実に多様な機能を分担しあっている。本研究では、ペルオキシダーゼの活性中心の構造と機能に着目し、ミオグロビンをヘムタンパク質全般のビルディングブロックとして利用して、ペルオキシダーゼ活性の発現に必須と考えられるヒスチジンを適切な位置に導入することで、高原子価状態 (O=Fe(IV)ポルフィリン カチオンラジカル 通常compound Iと呼ばれる) の観測に成功した。さらに、外来軸配位子の導入が可能なミオグロビンミュータントを作成し、高原子価生成過程に対する軸配位子効果の詳細を検討している。
- c) ヘム酵素と同じ機能をヘム以外の鉄や銅錯体を利用して行う酵素を非ヘム酵素と呼ぶ。本研究では、非ヘム酵素の活性中心モデルの構築を行い、酸素分子活性化機構解明を目的とした研究を行っている。現在、Fe, Cu, Ni (単核および複核) のパーオキサイド付加体の合成とキャラクタリゼーションに成功し、その反応性の検討を行っている。特に、「パーオキサイド付加体が基質酸化能をどの程度有しているのか」、さらに、「酸素 - 酸素結合の解裂によって高原子価状態を作り出すことが可能か」など酵素系では詳しい検討ができない点を明らかとしたい。
- d) 水溶液中で種々の化学反応を触媒的に進行させることは、環境調和型のプロセスとして重要と考えられる。本研究では、水溶液中で安定な金属 - ハイドライド錯体の合成と、有機化合物のハイドライド還元への展開を目指した研究を行っている。現在、種々のカルボニル化合物の還元反応に成功している。

B-1) 学術論文

Y. GOTO, T. MATSUI, S. OZAKI, Y. WATANABE and S. FUKUZUMI, "Mechanisms of Sulfoxidation Catalyzed by High-Valent Intermediates of Heme Enzymes: Electron Transfer vs Oxygen Transfer Mechanism," *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 9497-9502 (1999).

T. MATSUI, S. OZAKI, E. LIONG, G.N. PHILLIPS and Y. WATANABE, "Effects of the Location of Distal Histidine in the Reaction of Myoglobin with Hydrogen Peroxide," *J. Biol. Chem.* **273**, 2838-2844 (1999).

T. MATSUI, S. OZAKI and Y. WATANABE, "Formation and Catalytic Roles of Compound I in the Hydrogen Peroxide-Dependent Oxidations by His64 Myoglobin Mutants," *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 9952-9957 (1999).

T. MURAKAMI, I. MORISHIMA, T. MATSUI, S. OZAKI, I. HARA, H.-J. YANG and Y. WATANABE, "Effects of the Arrangement of Distal Catalytic Residue on Regioselectivity and Reactivity in the Coupled oxidation of Sperm Whale Myoglobin Mutants," *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 2007-2011 (1999).

S. OZAKI, H.-J. YANG, T. MATSUI, Y. GOTO and Y. WATANABE, "Asymmetric Oxidation Catalyzed by Myoglobin Mutants," *Tetrahedron: Asymmetry* **10**, 183-192 (1999).

S. TAKARA, S. OGO, Y. WATANABE, K. NISHIKAWA, I. KINOSHITA and K. ISOBE, "Direct Observation by Electrospray Ionization Mass Spectrometry of $[\text{Cp}^*\text{RhMo}_3\text{O}_8(\text{OMe})_5]^-$, a Key Intermediate in the Formation of the Double-Bookshelf-Type Oxide Cluster $[(\text{Cp}^*\text{Rh})_2\text{Mo}_6\text{O}_{20}(\text{OMe})_2]^{2-}$," *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **38**, 3051-3053 (1999).

A. WADA, S. OGO, Y. WATANABE, M. MUKAI, T. KITAGAWA, K. JITSUKAWA, H. MASUDA and H. EINAGA, "Synthesis and Characterization of Novel Alkylperoxo Mononuclear Iron(III) Complexes with a Tripodal Pyridylamine Ligands: A Model for Peroxo Intermediates in Reactions Catalyzed by Non-Heme iron Enzymes," *Inorg. Chem.* **38**, 3592-3593 (1999).

S. OGO, N. MAKIHARA and Y. WATANABE, "A Unique pH-Dependent Transfer Hydrogenation of Water-Soluble Carbonyl Compounds with $[\text{Cp}^*\text{Ir}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ ($\text{Cp}^* = \eta^5\text{-C}_5\text{Me}_5$) as a Catalyst Precursor and HCOONa as a Hydrogen Donor in Water," *Organometallics* **18**, 5470-5474 (1999).

B-2) 国際会議のプロシーディングス

Y. WATANABE, "Rational Molecular Design of a Catalytic Site: Engineering of Catalytic Functions to the Myoglobin Active Site Framework," *J. Inorg. Biochem.* **74**, 56 (1999).

Y. GOTO, T. MATSUI, S. OZAKI, Y. WATANABE, S. FUKUZUMI, J.P. DINNOCENZO and J.P. JONES, "Reaction Mechanisms of N-Demethylation and Sulfoxidation Catalyzed by Heme Enzymes," *J. Inorg. Biochem.* **74**, 146 (1999).

T. MATSUI, S. OZAKI and Y. WATANABE, "Formation and Reaction of Compound I in Myoglobin," *J. Inorg. Biochem.* **74**, 225 (1999).

M. P. ROACH, S. OZAKI and Y. WATANABE, "Quantitation of the Proximal Heme Iron Ligand Push Effect: Use of Myoglobin Cavity Mutant H93G and Substituted Imidazoles to Investigate Heme-Enzyme Catalyzed Peroxide O-O Bond Cleavage," *J. Inorg. Biochem.* **74**, 277 (1999).

H. HAYASHI, S. FUJINAMI, M. SUZUKI, S. NAGATOMO, S. OGO, Y. WATANABE and T. KITAGAWA, "Synthesis and Reactivity of a Bis(μ -oxo)dicopper(III) Complex," *J. Inorg. Biochem.* **74**, 308 (1999).

A. WADA, S. OGO, Y. WATANABE, K. JITSUKAWA, H. MASUDA and H. EINAGA, "Novel Non-Heme Iron Complexes as Oxidation Catalysts in Alkene Functionalization," *J. Inorg. Biochem.* **74**, 331 (1999).

B-3) 総説、著書

Y. WATANABE, "High-Valent Intermediates," in *The Porphyrin Handbook*, K. M. Kadish, K. M. Smith and R. Guilard, Eds., Academic Press; San Diego, Vol. 4, pp. 97-118 (1999).

B-4) 招待講演

Y. WATANABE, "Rational Molecular Design of a Catalytic Site: Engineering of Catalytic Functions to the Myoglobin Active Site Framework," The 9th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, Minneapolis (U. S. A.), July 1999.

Y. WATANABE, "Myoglobin Compound I as a Protein Model for the Active Species of P450," 11th International Conference on Cytochrome P450, Sendai, August 1999.

B-6) 学会および社会的活動

学協会役員、委員

触媒学会生体関連触媒研究会幹事(1988-).

基礎生物工学会幹事(1994-).

日本化学会生体機能関連化学部会幹事(1997-).

日本化学会東海支部常任幹事(1999-).

日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員(1999-).

学術雑誌編集委員

Journal of Inorganic Biochemistry, Editorial Board (1997-).

B-7) 他大学での講義

富山大学工学部, 1999年1月, 12月.

C) 研究活動の課題と展望

酸化反応を触媒するヘム酵素の反応機構に関する基礎研究から, 活性中心を構成するアミノ酸の役割を分子レベルで明らかとしてきた。こうした研究成果に基づいて, 人工的なヘム酵素の構築を現在目指している。具体的には, ミオグロビンを人工酵素構築のためのビルディングブロックとして利用し, 酵素活性発現に必要なアミノ酸を適切に配置することによって, 目的とするヘム酵素を合成する試みを行っている。現時点では, 高い光学選択性を有するペルオキシゲナーゼの構築に成功しているが, 反応の多様性, 非天然型補欠分子族導入による生体系にはない化学反応を触媒する人工酵素への展開を現在の目標としている。一方, 非ヘム酸化酵素の分子レベルでの機構解明のためのモデル系による研究では, ヘムと非ヘム酵素の本質的な差異と生体における酸素活性化戦略の総合的な解明を行いたい。水溶液中での新たな反応の開拓は, 今後ますます重要な化学反応系として展開したい分野であり, 現在は, 還元反応を中心に研究を行っている。