

藤 井 浩（准教授）（1998 年 3 月 1 日着任）

A-1) 専門領域：生物無機化学，物理化学

A-2) 研究課題：

- a) ヘム酵素反応中間体の機能発現の分子機構の研究
- b) Jacobsen 触媒の不斉誘起機構の研究
- c) シアンイオンを NMR プローブとしたヘムタンパク質の機能解明

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 酸化反応に関わる金属酵素の機能制御機構を解明するため，高酸化反応中間体のモデル錯体を合成し，電子構造と反応性の関わりを研究した。オキソ鉄4価ポルフィリンπ-カチオンラジカル錯体は，チトクローム P450 の活性反応中間体として知られ，さまざまな炭化水素の水酸化反応を行う。シトクローム P450 によるアルカンの水酸化反応における水素原子のトンネル効果の作用機構を解明するため，オキソ鉄四価ポルフィリンπ-カチオンラジカル錯体を低温で合成し，ベンジル位に水素を持つ炭化水素の水酸化反応の反応過程を研究した。反応速度の温度依存性や H-D 同位体効果から，水素原子のトンネル効果について考察した。モデル錯体に結合する軸位の配位子を変化させることにより，モデル錯体の活性を変化させ水素原子トンネル効果への影響を研究した。また，異なる C-H 解離エネルギーをもつ炭化水素を用いて，C-H 結合エネルギーと水素原子トンネル効果に関わりを検討した。これらの実験から，水素原子トンネル効果を制御する因子を解明した。
- b) 不斉酸化能を有するマンガン3価サレン錯体の反応選択性の機構を研究した。エチレンジアミン部位に不斉を導入したマンガンサレン錯体は，Jacobsen 触媒として知られ，不斉エポキシ化反応を可能にする。我々は，Jacobsen 触媒がどのような機構で不斉エポキシ化反応を誘起しているのかを，活性反応中間体から研究を行ってきた。これまでの研究で，マンガンイオンが3価から4価に酸化されると，サレン骨格が不斉歪みを起こすこと，軸配位子の配位力の強さが不斉歪みを制御する因子であることを見出した。本年度は，エポキシ化反応の活性種と考えられているマンガンオキソ錯体の同定と反応性の解明に成功した。マンガン4価オキソ錯体を合成し，種々の分光法で同定することができた。マンガン4価オキソ錯体は，非常に容易にプロトン化を受けマンガン4価ヒドロキシ錯体を生成することを示した。これらオキソ錯体とヒドロキシ錯体の反応性を比較した結果，オキソ錯体が高い反応性を有することを見出すことができた。
- c) 金属酵素と強く結合するシアンイオンをプローブとした金属酵素の構造・機能測定法の開発を行った。我々はこれまで，ヘムタンパク質に結合したシアンイオンの ^{13}C ， ^{15}N NMR シグナルがヘム近傍の構造や水素結合ネットワークを検索する優れたプローブであることを明らかにした。この手法をペルオキシダーゼの変異体に適応した。ヘム近傍のアミノ酸を置換したさまざまな変異体を作成し，水素結合ネットワークと酵素機能の関わりを研究した。その結果，ヘムの軸位に配位するヒスチジン残基からの電子供与性効果と過酸化水素との反応により生成する活性種の生成速度が相関することを見出した。この相関がどのような機構で発現しているかを研究した結果，ヒスチジン残基からの電子供与性がヘム近傍の水分子とヘム鉄の結合の強さを変化させ，これが過酸化水素との反応速度を制御しているという新しい制御機構を提案することができた。

B-1) 学術論文

T. KURAHASHI, A. KIKUCHI, Y. SHIRO, M. HADA and H. FUJII, “Unique Property and Reactivity of High-Valent Manganese-Oxo versus Manganese-Hydroxo in the Salen Platform,” *Inorg. Chem.* **49**, 6664–6672 (2010).

H. ISHIMARU, H. FUJII and T. OGURA, “Resonance Raman Study of a High-Valent Fe=O Porphyrin Complex as a Model for Peroxidase Compound II,” *Chem. Lett.* **39**, 332–333 (2010).

S. NOZAWA, T. SATO, M. CHOLLET, K. ICHIYANAGI, A. TOMITA, H. FUJII, S. ADACHI and S. KOSHIHARA, “Direct Probing of Spin State Dynamics Coupled with Electronic and Structural Modifications by Picosecond Time-Resolved XAFS,” *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 61–63 (2010).

D. NONAKA, H. WARIISHI, K. G. WELINDER and . FUJII, “Paramagnetic ^{13}C and ^{15}N NMR Analyses of the Push- and Pull-Effects in Cytochrome *c* Peroxidase and *Coprinus cinereus* Peroxidase Variants: Functional Roles of Highly-Conserved Amino Acids around Heme,” *Biochemistry* **49**, 49–57 (2010).

B-4) 招待講演

H. FUJII and S. MOCHIZUKI, “Functional Role of Unique Heme d_1 in Nitrite Reduction by Heme-Containing Nitrite Reductase,” 60th Anniversary Conference on Coordination Chemistry, Osaka (Japan), September 2010.

T. KURAHASHI and H. FUJII, “Critical Factors for the Formation of a Chiral Conformation in Manganese Salen Complexes, Related to Enantioselective Epoxidation,” 60th Anniversary Conference on Coordination Chemistry, Osaka (Japan), September 2010.

藤井 浩, 「アキシシャル位配位子による高原子価サレンマンガン錯体の電子構造と反応性の制御」, 日本化学会第4回関東支部大会, 筑波大学, 筑波, 2010年8月.

藤井 浩, 「酸化反応を触媒する金属酵素の反応中間体の電子構造」, 第4回生物物質科学フォーラム, 東京工業大学, 東京, 2010年5月.

H. FUJII and D. NONAKA, “ ^{13}C and ^{15}N NMR Spectroscopy of Heme-Bound Cyanide ($^{13}\text{C}^{15}\text{N}$) in Ferric Heme Peroxidases,” Japan–Korea Seminars on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, Nagoya (Japan), December 2009.

B-8) 大学での講義, 客員

兵庫県立大学大学院生命理学研究科, 客員准教授, 2007年2月–.

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(B), 「高原子価オキソ金属錯体の反応性と反応選択性を制御する分子機構の解明」, 藤井 浩 (2010年–2013年).

科研費基盤研究(B), 「立体構造にもとづく基質結合サイトの再構築による酵素反応選択性の制御」, 藤井 浩 (2004年–2007年).

科研費基盤研究(B), 「単核非ヘム酵素反応中間体としての高酸化オキソ錯体の合成と反応性の研究」, 藤井 浩 (2002年–2004年).

科研費基盤研究(C), 「合成ヘムとミオグロビン変異体による亜硝酸還元酵素モデルの構築と反応機構の研究」, 藤井 浩 (2000年–2002年).

科研費特定領域研究「配位空間」(公募研究),「金属酵素のナノ反応空間における基質の配向および反応選択性の制御」, 藤井 浩 (2005年-2006年).

大幸財団海外学術交流助成金,「第3回ポルフィリンとフタロシアニンに関する国際会議での研究発表」, 藤井 浩 (2004年).

内藤財団科学奨励金,「ヘムオキシゲナーゼによる位置特異的ヘム代謝機構の解明」, 藤井 浩 (2000年).

C) 研究活動の課題と展望

生体内の金属酵素の構造と機能の関わりを, 酵素反応中間体の電子構造から研究している。金属酵素の機能をより深く理解するためには, 反応中間体の電子状態だけでなく, それを取り囲むタンパク質の反応場の機能を解明することも重要であると考え。これまでの基礎研究で取得した知見や手法をさらに発展させて, 酵素, タンパクのつくる反応場の特質と反応性の関係を解明していきたいと考える。また, これらの研究を通して得られた知見を基に, 酵素機能変換法の新概念を確立できるよう研究を進めたいと考える。