

実用化に向けた酸素添加酵素の分子設計

渡辺 芳人

(名古屋大学・物質科学国際研究センター・教授)

【研究の概要等】

不活性なアルカン類の水酸化反応を触媒する P450 は、その高い酸化能力から、合成反応への応用を意識した研究が世界中で展開されている。しかし、P450 による反応系の最大の問題点は、「非常に高価な NADH や NADPH を基質に対して等モル量消費する」点にある。合成反応への応用を考えると、安価な過酸化水素を酸化剤として用いる酵素系の創出が必須条件であり、我々がこれまで行ってきた「ミオグロビンミュータントに P450 活性を導入する際、過酸化水素を酸化剤として利用する蛋白の分子設計」に固執してきた理由もまさにそこにある。現在、高い酸化活性を示すミオグロビンミュータントの作成に成功しているが、時間とともにヘム分解が進行し、合成反応への応用という点で問題点を残していた。そこで、本申請課題では、基礎的な研究成果を基盤に、実用化に向けた酸化酵素の創成を目的に、以下の三点に焦点を絞って研究を展開する。

- 1) 触媒条件下で丈夫なヘム酵素の設計
- 2) P450_{BSβ} に対する基質多様性の賦与
- 3) ミオグロビンミュータントへの基質認識能の賦与

【当該研究から期待される成果】

過酸化水素を酸化剤として用い、不活性なアルカン類の水酸化反応が毎分数百回のターンオーバーで進行するヘム酵素を作製する。同時に、基質認識能を有するミオグロビンミュータントの設計を通じて、高い選択性を有する酸化酵素の実用化に向けたプロトタイプ

のヘム酵素を提供する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- O. Shoji, T. Fujishiro, H. Nakajima, M. Kim, S. Nagano, Y. Shiro, and Y. Watanabe, "Hydrogen Peroxide Dependent Monooxygenations by Tricking the Substrate Recognition of Cytochrome P450_{BSβ}," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 3656-3659, 46 (2007).
- T. Ueno, N. Yokoi, M. Unno, T. Matsui, Y. Tokita, M. Yamada, M. Ikeda-Saito, H. Nakajima, and Y. Watanabe, "Design of Metal Cofactors Activated by Protein-Protein Electron Transfer System." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 9416-9421 (2006).
- T.D. Pfister, T. Ohki, T. Ueno, I. Hara, S. Adachi, Y. Makino, N. Ueyama, Y. Lu, and Y. Watanabe, "Monooxygenation of an Aromatic Ring by F43W/H64D/V68I Myoglobin Mutant and Hydrogen Peroxide," *J. Biol. Chem.* **280**, 12858-12866 (2005).
- Y. Watanabe and T. Hayashi, "Functionalization of Myoglobin," in *Progress in Inorganic Chemistry*, vol. 54 (ed., K.D. Kiriln), 449-493 (Wiley) (2005).

【研究期間】 平成19年度－23年度

【研究経費】 29,300,000 円
(19年度直接経費)

【ホームページアドレス】

<http://bioinorg.chem.nagoya-u.ac.jp>