

環境とバイオテクノロジー
2022 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

加藤 俊介

大阪大学 大学院工学研究科
助教

高難度光ラジカル反応を実現する新規生体触媒の進化型開発

研究成果の概要

環境問題の解決や持続可能社会の実現にむけ、酵素や微生物などの「生体触媒」を利用した物質変換は、従来の化学合成プロセスを代替する新たな反応技術として注目を集めている。生体触媒の利点として、温和な条件下で高効率かつ高選択的に反応が進行すること、バイオマス等の再生可能資源を原料とするため環境低負荷であることなどが挙げられる。また、昨今の著しいバイオテクノロジーの発展に伴い、これら生体触媒を自在に編集・改変する遺伝子工学的手法が確立され、生体触媒を用いた反応技術は工業・医療・農業分野の産業構造を変革する新たな潮流を形成している。しかしながら、天然に由来する生体触媒では、現在の有機合成化学で必要とされる物質変換の全てを代替できないこともまた事実である。現に化学者が開拓したフラスコ内の化学反応の種類と比較すると、生体触媒を用いて実行可能な化学反応の種類は意外と少なく、現在の工業的物質生産のニーズに即した生体触媒の反応適用範囲の拡張は、生体触媒の実用化における喫緊の課題であるといえる。

そこで本研究では、酵素の反応適用範囲を光化学的に拡張することをめざし、光励起によるラジカルカップリング反応を促進する新規生体触媒の開発に着手した。具体的には、チアミンニリン酸依存性酵素の反応機構をベースに、光増感剤からの一電子移動プロセスを組み込むことで、自然界には見られないラジカル的な反応プロセスを酵素に付与することをめざす。特に 2022 年度の研究成果として、チアミンニリン酸依存性酵素の遺伝子ライブラリをスクリーニングすることで、目的のラジカルカップリング反応を触媒するチアミンニリン酸依存性酵素を同定することに成功した。本酵素は、ピルビン酸と 2-ブロモプロピオン酸エチルのラジカルカップリング反応に対して有望な触媒活性を示し、目的の 2-メチルアセト酢酸エチルを最大 15% の収率で与えることが判明した。さらに、このチアミンニリン酸依存性酵素の活性中心に対して、チロシンやトリプトファン等のアミノ酸残基を変異導入することで、そのラジカルカップリング反応に対する触媒活性が向上することが判明した。活性中心に導入されたチロシンやトリプトファンは、電子受容体として機能し、補因子からの電子移動によるラジカル反応の進行を仲介しているものと考えられる。

今後、同定したチアミンニリン酸依存性酵素のさらなる触媒活性と基質一般性の向上をめざし、酵素の活性中心に対する遺伝子工学的な改変を実施する。特に、基質であるハロゲン化アルキルと本酵素とのドッキングシミュレーション・分子動力学計算を実施し、チアミンニリン酸依存性酵素本来の高い基質特異性を緩和する有効な変異導入点を予測する。また、獲得された高活性酵素変異体に対して、反応速度論的解析・X 線結晶構造解析・EPR 測定等の詳細な解析を実施し、酵素の反応機構に対する知見を得る。

【代表的な原著論文情報】

1) “Evolutionary Engineering of a Cp*Rh(III) Complex-Linked Artificial Metalloenzyme with a Chimeric β -Barrel Protein Scaffold”, Journal of the American Chemical Society, in press, 2023