

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 鈴木 和人

論 文 題 目

External Additives-Controlled Stereoselective Chemical Transformations
Catalyzed By Cytochrome P450

(シトクロム P450 が触媒する立体選択的化学変換の外部添加物による制御)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士(工学) 荘司長三

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士(工学) 田中健太郎

委 員 理化学研究所 専任研究員 博士(理学) 杉本宏

論文審査の結果の要旨

申請者は、酵素反応の立体選択性を、外部添加した分子によって制御する新奇手法を開発した。微生物由来のシトクロム P450 の一種である P450BM3 へ「デコイ分子」と呼ばれる基質を模倣した化合物を添加し、(1) 水酸化反応、(2) エポキシ化反応、(3) シクロプロパン化反応と、三種の異なる反応様式に対して、デコイ分子による立体選択性の制御が可能であることを報告した。さらに、それぞれの反応の立体選択性変化の要因を明らかとすべく、結晶構造解析を中心とした機構解明にも取り組んだ。

エチルベンゼン等の芳香族化合物のベンジル位水酸化反応に対し、P450BM3 にデコイ分子を加えるという操作のみで、反応の立体選択性が変化することを明らかとした。インダンの水酸化反応では、利用するデコイ分子に応じて生成物の RS 立体配置が完全に逆転しており、デコイ分子によって立体選択性を切り替えることも可能であることを見出した。また、デコイ分子が結合した P450BM3 の結晶構造解析を行い、デコイ分子の結合により P450BM3 が構造変化を起こすことを突き止めた。コンピュータを利用したシミュレーションから、デコイ分子による P450BM3 の構造変化が、立体選択性の変化に関連することを示唆する結果も得ている。さらに、P450BM3 への変異導入とデコイ分子を組み合わせることで、スチレンのエポキシ化反応の立体選択性を向上させることにも成功した。野生型の P450BM3 では、デコイ分子による選択性の変化がほとんど見られなかったのに対し、P450BM3 の F87 変異体は、デコイ分子に応答した鋭敏な選択性変化を示した。デコイ分子及びスチレンと、オキソモリブデンメソポルフィリン錯体を複合化した P450BM3 の結晶解析にも成功し、スチレンが、実際のエポキシ化反応の立体選択性と一致する配向で P450BM3 内部に結合することを明らかとした。スチレンのシクロプロパン化反応では、生理学的な P450 の反応ではないにも関わらず、デコイ分子がその立体選択性を制御するツールとして利用可能であることを明らかとした。既報である P450BM3 の T268A 変異体は、シクロプロパン化反応がデコイ分子によって阻害を受けるのに対し、申請者によって設計された P450BM3 の F87A/T268A 二重変異体は、デコイ分子の添加によって生成物の(1*S*,2*R*)選択性が大幅に改善し、既存のヘム酵素では達成されてこなかった高いジアステレオ選択性およびエナンチオ選択性を達成している。また、鉄フタロシアニン再構成した P450BM3 を利用した、カルベン挿入による CH 結合のアルキル化反応を行い、イソクロマンのアルキル化反応で、エナンチオ選択的に反応が進行することを確認した。

酵素反応の立体選択性を改変する手法としてこれまでに最もよく用いられてきた指向性進化法は、選択性の劇的な改善に至らない場合も多い。それにもかかわらず、酵素の立体選択性変換を可能とする手法は数少なく、指向性進化法が実質的に唯一の選択肢であった。本報告における外部添加分子による選択性制御という概念は、酵素反応の制御法に新たな選択肢を提示し、酵素科学の分野に漂う閉塞感を打破するものであり、今後は P450BM3 のみならず、様々な酵素での応用が期待される。また、申請者が取り組んだ、立体選択性の機構解明に関する実験結果は、P450BM3 を利用した反応開発における今後の触媒設計の指針へ多大な貢献をするものと見込まれる。以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資質があるものと認められる。