

「多様な天然炭素資源の活用に資する革新的触媒と創出技術」
平成 27 年度採択研究代表者

H27 年度
実績報告書

荘司長三

名古屋大学大学院理学研究科
准教授

生体触媒の誤作動状態を利用するメタンの直接的メタノール変換

§ 1. 研究実施体制

(1)「荘司」グループ

- ① 研究代表者: 荘司 長三 (国立大学法人 名古屋大学 大学院理学研究科, 准教授)
- ② 研究項目
 - ・ デコイ分子を利用するメタン水酸化反応系の開発
 - ・ デコイ分子結合 P450BM3 の結晶構造解析
 - ・ 菌体内反応系の開発

(2)「杉本」グループ

- ① 主たる共同研究者: 杉本 宏 (国立研究開発法人 理化学研究所 放射光科学総合研究センター, 専任研究員)
- ② 研究項目
 - ・ デコイ分子結合 P450BM3 の基質アクセス経路解析
 - ・ メタン水酸化反応の動的構造解析

§ 2. 研究実施の概要

ヘム鉄を活性中心とする酸化酵素の中でも最も酸化力の強い酸化活性種を生成するシトクロム P450 (以下 P450)によるメタンの触媒的水酸化が可能なバイオ触媒系を創出することを研究目標として研究を進めている. P450 は, 不活性な飽和炭化水素の水酸化が可能な強力な酸化酵素であるが, メタンの触媒的水酸化を達成したとする報告はなく, ヘム鉄を活性中心とするヘム酵素では, メタンを水酸化することはできないと考えられてきた. 実際, ランダムな変異導入を繰り返す進化工学的手法により, プロパンやエタンなどのガス状アルカンの水酸化が可能な P450 の変異体を作成されてきたが, メタンを水酸化することができる P450 の報告はない. 我々は, 変異導入とは異なる酵素機能改変法の確立を目指して, 疑似基質(デコイ分子)を用いる手法の開発を続けてきた. 長鎖脂肪酸を選択的に水酸化する P450BM3 は, 通常は小分子アルカン類を水酸化することはできないが, 長鎖脂肪酸に構造の良く似たパーフルオロアルキルカルボン酸をデコイ分子として P450BM3 に取り込ませて, P450BM3 の誤作動を引き起こすことで, エタンやプロパンなどのガス状飽和炭化水素およびベンゼンとその誘導体を高選択的に水酸化できるようになる. また, パーフルオロアルキルカルボン酸のカルボキシル基をアミノ酸で修飾した第二世代デコイ分子を用いた場合には, プロパンとエタンの水酸化活性が大幅に上昇することを確認している. また, 第二世代デコイ分子を取り込んだ P450BM3 の結晶構造解析から, 活性部位のガス状アルカンが結合する空間が, メタンの結合には広すぎることなどが明らかになった. そこで, P450BM3 のヘム近傍のアミノ酸を置換した変異体を作製し, 一連の第二世代デコイ分子と組み合わせて活性を測定している. メタン水酸化の反応は, ^{13}C 標識メタンを用いて, ^{13}C -メタンと ^{13}C -ホルムアルデヒドを GC-Mass により検出することで, バックグラウンドのメタノールやホルムアルデヒドと明確に区別する評価系の確立に取り組んだ.

