

立体選択的マイケル付加反応を触媒する人工金属酵素の構築

(¹大阪公大院農、²阪府大院生命) ○丸毛智史¹・松本隆聖¹・吉岡紗穂²・森田能次¹・藤枝伸宇^{1,2}

Development of Artificial Metalloenzymes for Stereoselective Michael Addition Reaction
(¹Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University, ²Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University)

○Tomohito Marumo, Ryusei Matsumoto, Saho Yoshioka, Yoshitsugu Morita, Nobutaka Fujieda

Artificial metalloenzymes which are constructed by incorporating metal complexes into proteins have been the hot topics in the bioinorganic chemistry.¹⁾ We have used TM1459 protein from hyperthermophiles and have constructed artificial metalloenzymes more easily by directly coordinating transition metal ions to the four histidine residues of this protein.²⁾ In this study, we produced mutants in which various amino acid mutations were introduced around this metal binding site. We screened the libraries thus obtained in the stereoselective Michael addition reaction, and found that several mutants showed high stereoselectivity.

Keywords : Artificial Metalloenzymes, Macromolecular Ligands, Stereodivergent reaction

近年、タンパク質に金属錯体を組み込んだ人工金属酵素の研究が盛んに行われている。¹⁾ 当研究室では超好熱菌由来の TM1459 タンパク質を用い、このタンパク質が持つ4つのヒスチジン残基に直接遷移金属イオンを配位させることで、より簡便に人工金属酵素の構築を行ってきた。²⁾ 本研究では、ヒスチジン残基のうち1つまたは2つをアラニンに変異させた変異体、これをベースに金属結合部位周辺に様々な変異を導入した変異体の作製を行った。これらに銅を導入し、不斉マイケル付加反応を用いてスクリーニングを行った。

モデル反応として、2-アザカルコンをアクセプター、ジエチルマロン酸をドナーとして用いた反応(図 1)を行なった。野生型を用いた場合には選択性を示さなかった。一方、H52A 変異体においてはエナンチオ選択性が 73 % e.r.となった。また、この変異体に対してさらなる変異を加えて作製した変異体 F41W/H52A では 91% e.r.と高い選択性を示した。アクセプターとしてエチルメチルマロン酸を用いた場合でも立体選択性が見られた。本発表ではこれらの詳細に加え、作製した変異体ライブラリーについても議論する。

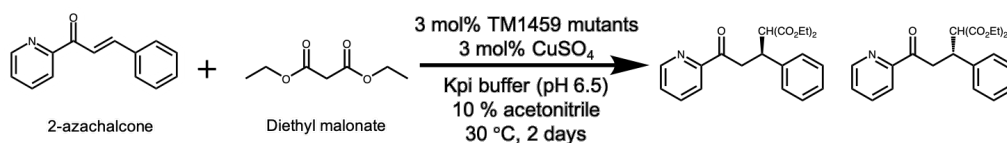


Fig 1. Model reaction in this study

1) (a) Schwizer, F.; Ward, T. R. et al., *Chem. Rev.* 2018, 118 (1), 142–231. (b) Hoarau, M.; Faller, P. et al., *Coord. Chem. Rev.* 2016, 308, 445–459. (c) Rioz-Martínez, A.; Roelfes, G., *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2015, 25, 80–87. 2) (a) Fujieda, N.; Itoh, S. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, 139, 5149. (a) Fujieda, N.; Itoh, S. et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, 59, 7717.