

ロジウム微粒子および水溶性亜鉛ポルフィリンを用いた NADH 再生のための光酸化還元系

(大阪市大) ^{かたぎり} ○片桐 ^{たかゆき} 毅之・^{ひがし} 東 ^{まさのぶ} 正信・^{あまお} 天尾 ^{ゆたか} 豊

1. 緒言

酵素は常温・常圧など温和な条件下で優れた触媒作用や、反応基質に対する厳格な選択性を示す。そのため、食品分野や化学合成、医薬品など幅広い分野に用いられている。ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD⁺)は多くの酸化還元酵素の補酵素として機能する。この還元型(1,4-NADH)は、酵素を触媒として様々な基質を還元する。しかし、NADH は高価であり、工業的に利用するために NAD⁺から 1,4-NADH への還元(再生)が望まれている。そのため、これまで光化学的手法など様々な 1,4-NADH 再生が試みられている。しかし多くの場合、NAD⁺還元では酵素不活性な 1,4-NADH 異性体(1,2-および 1,6-NADH)あるいは NAD 二量体が生成する。¹⁾ 本研究では、親水性高分子であるポリビニルピロリドン(PVP)で分散させたロジウム微粒子(Rh-PVP)が、NAD⁺の酵素活性を有する 1,4-NADH への選択的還元触媒活性を有することを見出したので報告する。

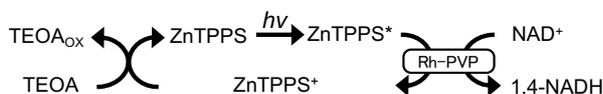
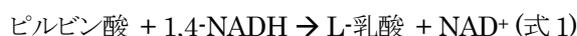


図1 Rh-PVP を触媒として用いた可視光駆動型 NAD⁺還元系

2. 実験

電子供与体としてトリエタノールアミン(TEOA; 0.2 M)、光増感剤として亜鉛テトラフェニルポルフィリンテトラスルホナート (ZnTPPS; 19 μM)、Rh-PVP (250 μM)、NAD⁺ (1.0 mM)を含む pH7.4 HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)緩衝液をアルゴン雰囲気下において可視光を照射することにより、NAD⁺還元活性を評価した。また、式(1)に示す反応を触媒する乳酸脱水素酵素(LDH)を用い 1,4-NADH の生成を確認した(ピルビン酸 Na; 2.0 mM, LDH; 2.0 U)。1,4-NADH 濃度は 340 nm の吸光度 ($\epsilon_{340} = 6.3 \times 10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) 変化から求めた。



3. 結果および考察

TEOA、ZnTPPS、Rh-PVP および NAD⁺を含む反応

溶液に可視光照射した結果、340 nm を極大とする吸光度の増加が見られた。これは、NAD⁺が 1,4-NADH もしくは NAD 二量体に還元されたことを示唆している。次に、生成した NAD⁺還元体にピルビン酸および LDH を添加した結果、340 nm を極大とする吸光度が減少し、光照射前のスペクトルとほぼ一致した。これは、生成した NAD⁺還元体は酵素活性を有する 1,4-NADH であり、ピルビン酸から乳酸への反応での補酵素として作用したことを示している。また、反応溶液を HPLC を用いて分析した結果、1,2-および 1,6-NADH に由来するピークは確認されず、1,4-NADH に由来するピークのみが検出された(図2)。一方、Rh-PVP 非存在下での同様の反応では、340 nm を極大とする吸光度の上昇は見られたが、LDH および基質を添加した際には変化しなかった。これは NAD⁺が NAD 二量体へと還元されたことを意味している。つまり、Rh-PVP が 1,4-NADH 再生に有効な触媒であり、ZnTPPS と Rh-PVP を組み合わせることで光をエネルギー源として NAD⁺を 1,4-NADH へ位置選択的に還元することに成功した。

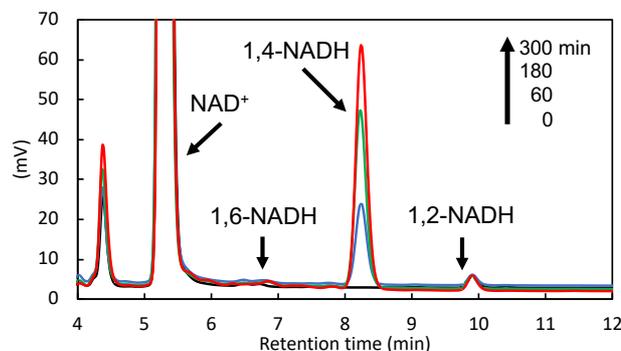
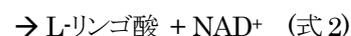


図2 光照射時間毎の反応溶液のクロマトグラム

さらに、可視光駆動型 NADH 再生系を利用し、式(2)に示す反応を触媒するリンゴ酸脱水素酵素(脱炭酸)を組み合わせ、可視光をエネルギー源とするピルビン酸への二酸化炭素付加反応を試みた。



可視光照射時間の増加に伴いリンゴ酸生成量が定常的に増加し、光照射 5 時間後のリンゴ酸への生成効率は 0.18%であった。

1) T. Saba, *et al.*, *ACS Catal.*, **11**, 283 (2021).