

# 生体内取り込まれた遷移元素の化学： 金属酵素活性中心モデル



研究ノート

船橋 靖博\*

“Chemistry of Transition Metals in Biological Systems:  
Biomimetic Model Compound of the Active Sites in Metalloenzymes”

Key Words : Biomimetic model compound, Type III copper site,  
Dioxygen activation

## 1. はじめに

無機化学や無機化合物とは、生命に関わる有機化合物に相対するという古い概念にもとづくものであった。現代において“生物無機化学”<sup>1-3)</sup>という学問領域は、化学の一分野として確立されている。生命の起源は塩分の多い海にあり、生理食塩水は体液と同等の塩化ナトリウムを主成分とする。細胞膜内外のナトリウムイオンとカリウムイオンの濃度勾配は維持され、神経細胞ではイオンチャネルの働きで生じる膜電位パルスが軸索を伝わる。マグネシウムイオンはDNAやATPの働きに作用し、葉緑体で光エネルギーを吸収するクロロフィルにも含まれる。骨や歯の主成分であるカルシウムイオンは、蛋白質構造も安定化し、筋収縮の引き金や、細胞内の酵素を活性化するシグナルとしても働いている。このように主要元素として生体に多量に含まれるアルカリ金属やアルカリ土類金属元素のほかに、生命維持のために必須の微量元素と呼ばれるものがある。そこには、マンガン、鉄、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛などといった遷移金属が含まれ、生体高分子である金属蛋白質の機能の中心を担っている。遷移金属を含む金属蛋白質には、酸素運搬や電子移動に関与するものや、生体内の化合物の変換反応を行う触媒機能を持つ酵素があり、呼吸や光合成のシステムにも多数の金属蛋白質が関与している。これらの蛋白

質はセントラルドグマに従いDNAを設計図として生合成されるが、このように蛋白質中にごく微量の遷移金属を取り込んでその特性を活かすプログラムが成されていることは大変興味深い。生体内では4dや5d遷移金属であるモリブデンやタングステンも活用されているが、3d遷移金属が汎用されている。

## 2. 酸素の運搬と活性化を行う金属蛋白質とそのモデル化

ここでは、まず酸素運搬蛋白質について述べる。脊椎動物や無脊椎動物、ならびに軟体動物や節足動物などは、呼吸によって取り込まれた酸素が血液中の酸素運搬蛋白質と結合する。ヒトなどの脊椎動物ならばヘム鉄を有するヘモグロビンであり、軟体動物や節足動物ならばType III銅と呼ばれる二核銅中心を持つヘモシアニンである。血色素でもあるヘモシアニンのType III銅に酸素が結合すると血液は青くなる。ほかには海産の無脊椎動物などが有する非ヘム鉄の二核鉄中心を持つ酸素運搬蛋白質は、酸素が結合すると赤紫色となる。つぎに、これらの酸素運搬蛋白質に対して、類似の構造を有する酸化酵素や酸素添加酵素があり、ヘム鉄を有する酵素の例はペルオキシダーゼやP450であり、Type III銅中心を持つのはチロシナーゼで、非ヘム鉄の二核鉄中心を有する酵素には可溶性メタンモノオキシゲナーゼが良く知られている。

これらの金属蛋白質が酸素と結合する活性部位は、ポルフィリンのような豊かな分子構造を配位子とするヘム鉄中心と、それとは対極的に、ヒスチジン残基のイミダゾールやグルタミン酸残基のカルボキシル基など、ごく限られた平凡なアミノ酸残基のみから成る二核銅または二核鉄中心である。ヘム鉄を有する蛋白質の機能は、活性部位にあるヘム鉄中心自体の特殊な性質に依存しており、それを取り出した



\* Yasuhiro FUNAHASHI

1968年3月生  
名古屋大学大学院理学研究科化学専攻  
博士後期課程 (1999年)  
現在、大阪大学大学院理学研究科化学専攻 教授 名大理博 生物無機化学 錯体化学 無機化学  
TEL : 06-6850-5767  
FAX : 06-6850-5787  
E-mail : funahashi@chem.sci.osaka-u.ac.jp

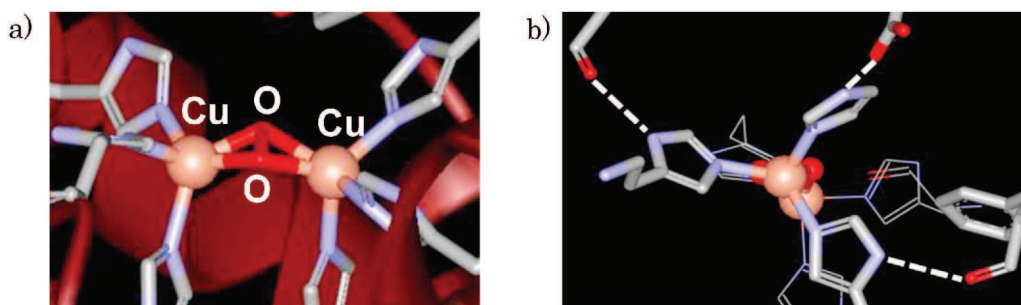


図1 a) 酸素が結合したチロシナーゼの Type III 銅中心の構造 ( $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo}$  種)  
b) その Type III 銅中心に結合したヒスチジン残基の水素結合ネットワーク<sup>4)</sup>。

り、他の高分子材料と組み合わせたりすることもできる。他方、ヘム鉄や Type III 銅中心などの金属活性部位は、完全に蛋白質の一部であり、そこから切り離して独立した分子として取り扱うことはできないので、その金属活性中心の構造と機能を取り出すには、その金属中心周りの構造を合成配位子で置き換えねばならない。しかしそれは、蛋白質中のものとは異なる分子であり、その単純に見える金属活性中心の分子設計の本質は、意外と分かりにくい。

そこで我々は、この後者の金属活性中心周りの構造に改めて注目した。通常の低分子金属錯体と異なり、蛋白質内では共有結合性の低い歪んだ配位構造が中心金属周りに施されていることが多い。ここで Type III 銅中心を例に挙げると、二つの銅中心にそれぞれ三つずつのヒスチジン残基のイミダゾールが結合しているが、その銅 (II) 状態の配位構造は、Jahn Teller 効果のある  $3d^9$  電子配置が好む平面四角形を基本とした構造から外れ、どちらかといえば四面体型に似た共有結合性の低い 5 配位構造を持っている (図 1)<sup>4)</sup>。そのような構造は、例えば電子移動蛋白質の Type I 銅中心の方が顕在化しており、これは銅 (I) 状態と銅 (II) 状態のいずれにおいても常に擬四面体型構造を持っている。通常、銅 (I) 状態は  $3d^{10}$  電子配置で結晶場安定化エネルギーがゼロとなるため、VSEPR 則 (原子価殻電子対反発則) により四面体型を好むとされているが、Jahn Teller 効果のある銅 (II) 状態でも四面体型構造であるのは、蛋白質の内部構造の強制によるものである。このような銅イオン周りの状況が、電子移動反応に及ぼす影響<sup>5,6)</sup>はともかくとして、蛋白質環境には、もともとペプチド骨格から出ている残基の配向が水素結合などによりしばしば規制されており、Type I 銅だ

けでなく、Type III 銅中心や、他の蛋白質中の金属活性中心においても、共有結合性の低い歪んだ金属周りの構造が見られるところに、我々は着目した。そこで歪んだ配位環境を強制するネットワーク型の骨格を有する配位子である  $\alpha\text{-isosparteine}$  ( $\alpha\text{Sp}$ ) を適用した Type III 銅中心のモデル化合物を合成した。 $\alpha\text{Sp}$  とその異性体は、立体化学的に配位窒素原子の 2p 軌道と第一遷移金属原子の 3d 軌道の軌道の重なりが小さくなり、結合した金属イオン周りに四面体型のような共有結合性の低い構造を強く誘起するジアミン型配位子である<sup>7,8)</sup>。その銅 (I) 錯体と酸素を反応させると  $-80^\circ\text{C}$  の有機溶媒中で酸素が結合した二核銅錯体が形成するが、我々は二核銅 (II)  $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo}$  種と高原子価の二核銅 (III) のそれぞれの熱力学的安定性が、軸配位の架橋カルボン酸の有無によって制御できることを初めて明確に示した (図 2 b,c)<sup>9,10)</sup>。これは、剛直な骨格を持つ支持配位子が、金属中心に対して歪んだ共有結合性の低い配位をした場合、さらに外部からの配位によって、金属中心の性質に大きく摂動を与えることを可能にしているのである。これ以前の Type III 銅錯体モデルの研究は、蛋白質中でも形成する  $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-peroxo}$  種<sup>11)</sup> と、モデル系での見出されたより高原子価の二核銅 (III) bis( $\mu\text{-oxo}$ ) 錯体<sup>12,13)</sup> との間の平衡が、エネルギーギャップの小さい双安定性のものであるとされたが、カルボン酸を外部配位子として導入することにより、金属中心の酸化状態と、段階的な還元反応の進行による O-O 結合の開裂が、制御できることが分かった。このことは、可溶性メタンモノオキシゲナーゼにおいて、鉄 (III)  $\mu\text{-peroxo}$  種 (Compound P) から、メタンをメタノールに転換する酸化活性種である高原子価の二核鉄 (IV) oxo 種

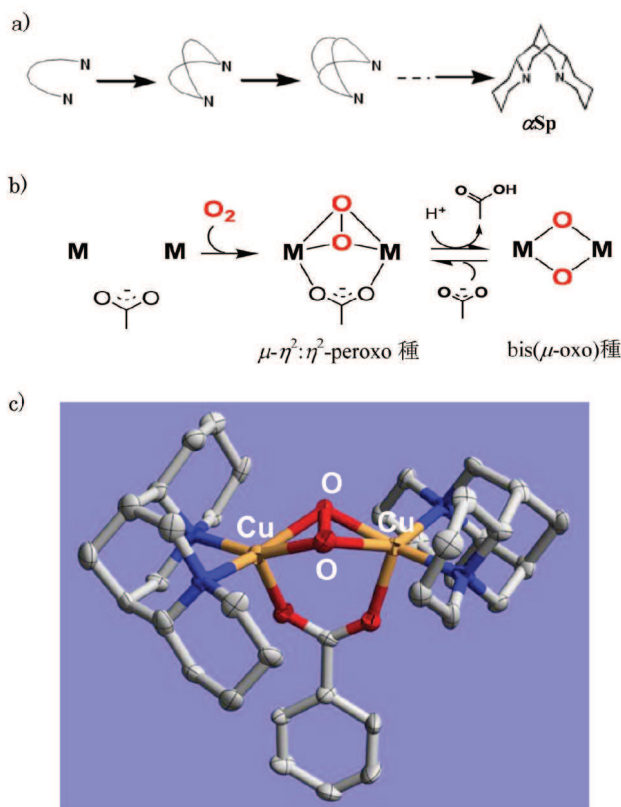


図2 a) ジアミン配位子の骨格のネットワーク化と  $\alpha$ -isosparteine ( $\alpha$ Sp)  
 b) 二核遷移金属中心における段階的酸素還元・活性化  
 c) 安息香酸イオンの結合によって安定化した二核銅(II)  $\mu$ - $\eta^2$ : $\eta^2$ -peroxo 種の結晶構造<sup>9)</sup>。

(Compound Q) へと段階的に進む際に、二核鉄中心架橋するグルタミン酸残基のカルボキシル基の重要性を示している可能性もある。また、光合成の明反応における酸素発生中心のマンガンカルシウムクラスターの反応との関連性と考えている。Type III 銅中心モデルとしては、安息香酸がチロシナーゼの阻害剤であるため<sup>14)</sup>、安息香酸イオンの結合によって安定化した二核銅(II)  $\mu$ - $\eta^2$ : $\eta^2$ -peroxo 種は、その反応阻害過程の中間体種のモデル化合物であり、同様にその基質であるチロシンのフェノール残基の水酸化反応に繋がる前段階として、フェノートが銅に結合した二核銅(II)  $\mu$ - $\eta^2$ : $\eta^2$ -peroxo 種が生成することを構造学的に示唆する重要な結果である。

### 3. おわりに

生命はその発生・進化の過程で金属イオンを積極的に取り入れ、自然淘汰の果てに生き残り現在に至

っている。そこでは、これまでの人工的な分子性触媒に重用されているパラジウムや白金、ルテニウムやロジウムなどは、金属蛋白質の反応活性中心には用いられていない。したがって、卑近な 3d 遷移金属イオンを活用する分子設計のエッセンスを、生体触媒である金属酵素の活性中心に求めるのは自然である。そして、生物無機化学における酸素の化学は、酸素を変換する錯体化学である。しかし、生体内にある平凡な金属と、イミダゾールやカルボン酸などの普通の配位子が繰り返される反応のメカニズムを理解するのは、一見簡単な様で非常に難しい。天然の蛋白質は、多様な分子の集団の中で自発的に決められた方向に反応経路を進めるため、分子認識や構造変化などの機能を実現するための構造が必要で、さらにそれらが自己組織化するための情報までプログラムされているために、巨大な構造を有している。人工的な反応系では、ある程度まで状況を整えることで、そこまで巨大な構造でなくとも、①反応場の機能を補償する技術と、それとは別に、②反応の心臓部である金属活性中心の機能を抽出する技術を、それぞれ開発して最終的な合体ができればよいはずである。今回は②として、生体金属の歪んだ第一配位子圏の化学について述べた。さらに今後の研究の進展によって、二核よりもより多核の生体金属活性中心の化学についても、その進捗状況を述べたい。

### 参考文献

- 1) Lippard, S. J., Berg, J. M. Principles of Bioinorganic Chemistry; University Science Books: Mill Valley, CA, 1994.
- 2) 増田秀樹, 福住俊一 編著, 錯体化学選書 1 生物無機化学 - 金属元素と生命の関わり -; 三共出版, 2005 年.
- 3) 山内脩, 鈴木晋一郎, 櫻井武, 朝倉化学体系 12 生物無機化学; 朝倉書店, 2012 年.
- 4) Matoba, Y., Kumagai, T., Yamamoto, A., Yoshitsu, H., Sugiyama, M., *J. Biol. Chem.*, **281**, (2006), 8981.
- 5) Vallee, B. L., Williams, R. J. P., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **59**, (1968), 498.
- 6) Holm, R. H., Kennepohl, P., Solomon, E. I., *Chem. Rev.*, **96**, (1996), 2239.



- 7) Funahashi, Y., Nakaya, K., Hirota, S., Yamauchi, O., *Chem. Lett.*, (2000), 1172.
- 8) Jasiewicz, B., Inazumi, T., Inagaki, Y., Wasada-Tsutsui, Y., Funahashi, Y., Masuda, H., *J. Mol. Struct.*, **984**, (2010), 176.
- 9) Funahashi, Y., Nishikawa, T., Wasada-Tsutsui, Y., Kajita, Y., Yamaguchi, S., Aii, H., Ozawa, T., Jitsukawa, K., Tosha, T., Hirota, S., Kitagawa, T., Masuda, H., *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, (2008), 16444.
- 10) Funahashi, Y., Toyama, T., Yoshii, K., Nishikawa, T., Kishida, M., Kajita, Y., Inomata, T., Ozawa, T., Wasada-Tsutsui, Y., Masuda, H., *J. J. Appl. Phys.*, **50**, (2011), 01AJ07/1.
- 11) Kitajima, N., Fujisawa, K., Moro-Oka, Y., Toriumi, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, (1989), 8975.
- 12) Halfen, J. A., Mahapatra, S., Wilkinson, E. C., Kaderli, S., Young, V. G. Jr., Que, L. Jr., Zuberbühler, A. D., Tolman, W. B., *Science*, **271**, (1996), 1397.
- 13) Mirica, L. M., Ottenwaelder, X., Stack, T. D. P., *Chem. Rev.*, **104**, (2004), 1013.
- 14) Wilcox, D. E., Porras, A. G., Hwang, Y. T., Lerch, K., Winkler, M. E., Solomon, E. I., *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, (1985), 4015.

