

第4章 バイオテクノロジーの新しい展開 人工酵素

誌名	食品微生物バイオテクノロジー
ISSN	
著者名	
発行元	農林統計協会
巻/号	19号
掲載ページ	p. 416-422
発行年月	1993年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



8. 人工酵素

酵素の高い触媒作用を人工的な化合物で代替したものが人工酵素であるが、特に有機化学者の立場からは、酵素のような複雑な物質ではなく簡単な有機化合物で酵素に匹敵するような触媒活性をもつものを合成すること及び酵素の機能を有機化学のレベルで理解し一般化することを目的としている。また同時に酵素は一般的に不安定であるので酵素に代わり安定で比較的安価容易に得られる化合物で同様な触媒活性をもつ物質を得ることにより産業的な利用をも考慮するものである^{5, 35)}。多くの研究が行われているので、総説及び最近の文献を中心に紹介する。

最近、このような人工酵素の研究とは異なり、合成化合物でないが優れた物質認識活性をもち触媒活性をもたない抗体に触媒活性を付与することにより新たな酵素類似物を得ようとする抗体酵素 (Catalytic antibody) の研究が行われているので関連事項としてここで簡単に紹介する。

(1) 合成人工酵素

酵素類似機能をもつ簡単な構造の有機化合物の研究は種々な化合物を用いて行われているが、大別すると金属あるいはその化合物を活性に必須な補酵素 (補欠分子族, コファクター) とする金属酵素の類似物として金属による触媒機能を用いる場合、環状化合物を酵素基質結合部位類似物として用いる場合あるいはミセル、膜、リポゾームなど小分子の集合体による酵素基質結合機能を利用する場合などがあげられる。これらの人工酵素設計原理は複合して用いられるので単純に分類できないが、おおよそこれらの分類に沿って例をあげる。

1) 金属化合物

酵素の中には金属が触媒活性を直接に行なっているものがある。この金属による触媒機能に着目して人工酵素を構築する試みが多い。

金属ポルフィリン化合物を代表とする金属錯体化合物を補酵素 (補欠分子族) として、触媒機能を発揮するものがある。例えばプロトヘムすなわちプロとポルフィリンと鉄の錯塩はカタラーゼ、ペルオキシダーゼ、シトクロムP-450などの酵素の補欠分子族としてそれらの酵素の触媒機能を担っているし、亜鉛ポル

フィリン錯体はクロロフィルとして光合成の反応中心として働いている。これらの酵素の触媒機能を金属ポルフィリン化合物を用いた人工酵素として実現しようとするいろいろな試みがなされている。

シトクロムp-450のような酸素添加酵素の反応を触媒する人工酵素としては三価マンガン・テトラピリジンポルフィリン類錯体を用いてオレフィンのエポキシ化¹⁷⁾や鉄ポルフィリンによるスルフィドの酸化が行われている⁷⁾。

ポルフィリン錯体を用いて光化学反応を起こさせる人工光合成の研究は多くのグループのよって行われている^{6, 13)}。

ビタミンB12を補酵素とする酵素反応に関する人工酵素としてはシアノコバラミンの周辺アミドに疎水基を導入して疎水性ビタミンB12類似物をつくり、これを二分子膜ベシクルに導入して人工酵素を構築することにより炭素骨格の組換え反応や五員環化合物の六員環化合物への環拡大反応を起こさせることが出来る^{20, 22, 23)}。

[Co(triethyleneteramine)(H₂O)₂]³⁺などのコバルト(Ⅲ)錯体を用いるとRNAの磷酸ジエステル結合を効率的に切断できる¹⁶⁾。

ビタミンEは2, 3, 6-トリメチルフェノール(TMP)のスルホン化と二酸化マンガンによる酸化という2段階反応による2, 3, 6-トリメチル-p-ベンゾキノン(TMQ)の合成を経て行われているが、銅蛋白質酵素をモデルとして、塩化第二銅と窒素化合物((CH₃)₂C=NOH·HCL, (NH₂OH)₂·H₂SO₄など)によりこの2段階反応を効率的な空気酸化に置き換えた³⁷⁾。

悪臭を放つアルデヒド、硫化水素、チオール、インドール、スカトールなどは酵素反応により酸化され、その臭いが緩和されるが、この金属酵素をモデルとして金属フタロシアンを含むレーヨン繊維を用いて消臭効果が得られている³²⁾。その他重合反応¹⁴⁾、オレフィンの酸化の触媒²⁶⁾、ビタミンB6酵素モデル³⁴⁾など各種のポルフィリン人工酵素が試みられている。

その他、各種金属複合体を用いてスーパーオキシド・ジスムターゼ活性の発現¹⁹⁾、制限酵素類似物など^{2, 24)}の試みもある。

2) シクロデキストリン誘導体

酵素では活性部位の基質結合部位に基質が取り込まれ触媒基に対して適当な位

置に固定される。これを真似して人工酵素では各種環状化合物が基質捕捉のために用いられる。よく用いられる化合物はシクロデキストリンで、Breslow, 田伏らによって各種の官能基の導入により種々の反応の触媒が工夫され、現在多くの人工酵素がシクロデキストリン誘導体を用いてつくられている。きわめて文献が多いので最近の数例のみをあげる^{8, 10, 15, 18, 29)}。

3) その他の環状化合物

シクロデキストリンと同様各種環状化合物が基質の認識及び結合の部位として利用されて人工酵素が考案されている。

例えばシクロファン^{3, 21)}, クラウンエーテル³¹⁾, クリプタンド¹⁾を用いた人工酵素が考案されている。

4) ミセル, 膜, リポゾームなど

基質を捕捉する場としては環状化合物の他には両親媒性をもつ脂質類似物を用いたミセルや人工膜などが考案されその中に金属や触媒基を導入することにより人工酵素がつくられている^{22, 25, 36, 39)}。また固定化酵素の一種といえるが酵素に脂質を被覆することにより有機溶媒にのみ可溶性酵素を作る²⁷⁾ことも人工酵素の面から興味をもたれる。

(2) 抗体酵素

抗体は特異的に抗原を認識して結合することが知られている。そこで反応の遷移状態中間体の類似構造化合物をハプテンとする抗原に対する抗体はその反応の触媒となるであろうという発想から触媒活性を有するモノクローナル抗体をえれば人工酵素が作れるというのが抗体酵素の考え方である。

抗体酵素の作成法については文献^{28, 33, 38)}を参照されたい。また、最近の総説^{9, 40)}をあげておく。

最初はエステルやペプチド結合の加水分解の触媒に関するものが多かったが、最近では触媒機能をもたせるために金属を結合させたり^{12, 30)}、いろいろな化合物に対する抗体酵素が試みられている。

またモノクローナル抗体でなくポリクローナル抗体を用いる試み¹¹⁾や、モノ

クローナル抗体の遺伝子をクローン化し、これを酵母などで発現して改変することにより触媒活性を向上させようとする研究が行われている⁴⁾。

(東京大学農学部 太田隆久)

文 献

- 1) Banfi, S. et al. Influence of quaternary onium salts, crown ethers and cryptands on olefin epoxidations promoted by hypochlorous acid/ hypochlorite in the presence of Mn(III) - tetrakis(2,6-dichlorophenyl) porphyrin chloride. *J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem.* 12, 159-173 (1992)
- 2) Barton, J. K. Towards the design of synthetic restriction enzymes with transition metal complexes. *Front. Chem.* 1 (Biotechnology), 5-25 (1989)
- 3) Benson, D. R. et al. Cyclophane catalysts. 5. A cyclophane containing a bridging porphyrin as a model for cytochrome - P - 450 enzyme. *Angew. Chem.* 102, 213-216 (1990)
- 4) Bowdish, K. et al. Yeast expression of a catalytic antibody with chorismate mutase activity. *J. Biol. Chem.* 266, 11901-11908 (1991)
- 5) Breslow, R. Artificial enzymes. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 52, 75-81 (1987)
- 6) Brugger, P. et al. Photoredox reactions in functional assemblies. *J. Am. Chem. Soc.* 103, 320-326 (1981)
- 7) Chiang, L. C. et al. Asymmetric oxidation of sulfides catalyzed by an iron complex of C₂-chiral strapped porphyrin as a conceptually new P-450 model catalyst. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 3, 254-256 (1992)
- 8) Cucinotta, V. et al. Cyclopeptide functionalized .beta.-cyclodextrin. A new class of potentially enzyme mimicking compounds with two recognition sites. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 5, 293-

294 (1991)

- 9) 藤井郁雄. 触媒抗体-抗体工学の新しい展開. 蛋白質・核酸・酵素. 37, 654-666 (1992)
- 10) Fujita, K. Synthesis of unsymmetrically bifunctional cyclodextrins. An approach to artificial enzymes. Yakugaku Kenkyu no Shinpo. 6, 99-110 (1990)
- 11) Gallacher, G. et al. Polyclonal antibody-catalyzed amide hydrolysis. Biochem. J. 284, 675-680 (1992)
- 12) Harada, A. & Kamachi, M. Monoclonal antibodies specific for metal complexes. Bio Ind. 8, 852-857 (1991)
- 13) Hirai, Y. et al. Artificial photosynthesis of β -ketocarboxylic acids from carbon dioxide and ketones via enolate complexes of aluminum porphyrin. J. Am. Chem. Soc. 111, 3062-3063 (1989)
- 14) Inoue, S. Recent advances in controlled polymerization by metalloporphyrin. Shokubai. 33, 545-551 (1991)
- 15) 小宮山真. シクロデキストリンを用いる人工酵素の開発. 化学工業. 42, 615-619 (1991)
- 16) Komiyama, M. Molecular design of artificial materials for selective cleavage of nucleic acids. Yuki Gosei Kagaku Kyokaiishi. 49, 762-769 (1991)
- 17) Konishi, K. et al. Asymmetric epoxidation of olefins catalyzed by manganese complexes of chiral "strapped" porphyrins with diastereotopic faces. A novel strategy for stereochemical modeling of the active site of cytochrome P-450. J. Am. Chem. Soc. 114, 1313-1317 (1992)
- 18) 黒田裕久. 西谷孝子. 人工酵素, 人工膜のダイナミックスと分子認識. 生物物理. 30, 60-63 (1990)
- 19) Luo, G. M. et al. A new metal-peptide complex displays the activity of superoxide dismutase. Ann. NY. Acad. Sci. 542 (Enzyme Eng.9), 79-82 (1988)

- 20) 村上幸人. ビタミンB12人工酵素の開発. 化学と工業, 43, 786 - 789 (1990)
- 21) Murakami, Y. et al. Syntheses of macrocyclic enzyme models. 7. Octopus cyclophanes having L - aspartate residues as novel water - soluble hosts; aggregation behavior and induced - fit molecular recognition. J. Am. Chem. Soc. 112, 7672 - 7681 (1990)
- 22) Murakami, Y. et al. Catalytic functions of artificial enzyme composed of simple vitamin B12 model and synthetic bilayer membrane. Bull. Chem. Soc. Jpn. 64, 2744 - 2750 (1991)
- 23) Murakami, Y. Molecular design and catalytic function of a B12 - enzyme mimetic. Trends Biotechnol. 10, 170 - 177 (1992)
- 24) Nakamura, A. et al. Transition metal thiolates: Synthetic, catalytic, and biomimetic aspects. Pure Appl. Chem. 62, 1011 - 1020 (1990)
- 25) Ogino, K. et al. Hydrolytic metalloenzyme models. Metal ion dependent site - selective acylation of hydroxyl groups of bis - imidazole ligands catalyzed by Zn²⁺ and Cu²⁺ in the reaction with p - nitrophenyl 2 - pyridinecarboxylate in a cationic surfactant micelle. Bull. Chem. Soc. Jpn. 65, 373 - 384 (1992)
- 26) Ogoshi, H. et al. Olefin oxidation catalyzed by electron deficient metalloporphyrin. Chem. Lett. 9, 1547 - 1550 (1991)
- 27) 岡畑恵雄. 脂質膜における分子識別. 化学. 46, 290 (1991)
- 28) Pollack, S.J. et al. Design of catalytic antibodies. Methods Enzymol. 178 (Antibodies, Antigens, Mol. Mimicry), 551 - 568 (1989)
- 29) Rao, K. R. et al. Artificial enzymes: Synthesis of imidazole substituted at C - 2 of .beta. - cyclodextrin as an efficient enzyme model of chymotrypsin. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1, 10 - 11 (1990)
- 30) Roberts, V. A. et al. Antibody remodeling: A general solution to the design of a metal - coordination site in an antibody binding pocket. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87, 6654 - 6658 (1990)

- 31) Sasaki, S. & Koga, K. Biomimetic studies using artificial systems. IV. Biomimetic peptide synthesis by using multifunctionalized crown ethers as a novel enzyme model: A new concept in mimicking of enzyme-catalyzed bond-forming reactions. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 912-919 (1989)
- 32) 白井汪芳. 金属フタロシアニンを含むバイオミメティック消臭剤とその作用. *油化学*. **39**, 825-830 (1990)
- 33) Shokat, K. M. & Schultz, P. G. Catalytic antibodies. *Methods Enzymol.* **203** (*Mol. Des. Model.: Concepts Appl. Pt. B.*), 327-351 (1991)
- 34) Sykes, A. G. et al. Vitamin B6 model reactions. 4. Stereoelectronic catalysis of carbon-hydrogen bond-breaking reactions and crystal and molecular structure of tetramethylammonium bis(pyridoxylidene-glycinato)cobaltate(III)-4.5-water. *Inorg. Chem.* **30**, 2911-2916 (1991)
- 35) 田伏岩夫. 人工酵素. *化学増刊*, **89**, 71-84 (1981)
- 36) 太垣和一郎. ミセルを利用した選択的反応, ミセル系人工酵素の分子設計. *高分子*. **35**, 938-941 (1986)
- 37) 竹本勝臣. 人工酵素を使いビタミンEの新製法開発. *化学と工業*. **43**, 2018-2020 (1990)
- 38) Tramontano, A. & Schloeder, D. Production of antibodies that mimic enzyme catalytic activity. *Methods Enzymol.* **178** (*Antibodies, Antigens, Mol. Mimicry*), 531-550 (1989)
- 39) 上岡龍一. 人工脂質膜における不斉可水分解制御. *油化学*. **36**, 808-815 (1987)
- 40) Weiner, D. P. Expanding the chemistry of nature: Catalytic antibodies. *Genet. Eng. Biotechnol.* **12**, 9-13 (1992)