

不斉反応のためのピリジル基で化学修飾した銅配位人工金属酵素の構築

(大阪公大院農¹・阪府大生命²) ○久保裕暉¹・松本隆聖¹・森田能次¹・藤枝伸宇^{1,2}
 Construction of copper-coordinated artificial metalloenzyme chemically modified with a pyridyl group for asymmetric reactions (¹Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University, ²Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University) ○Hiroki Kubo,¹ Ryusei Matsumoto,¹ Yoshitsugu Morita,¹ Nobutaka Fujieda^{1,2}

Artificial metalloenzymes, which combine a metal complex with a protein have attracted much attention since they can catalyze highly stereoselective reactions.¹⁾ We have constructed an artificial metalloenzyme that catalyzes stereoselective reactions by mutagenesis of TM1459, a protein with a metal-binding site consisting of a 4-His motif.²⁾ On the other hand, chemical modifications can modulate chemical environment beside amino acid substitutions. In this study, we report artificial metalloenzymes in which the vicinity of the active site of TM1459 are chemically modified with a pyridyl group and its enantioselectivity in Michael addition reaction (Fig. 1).

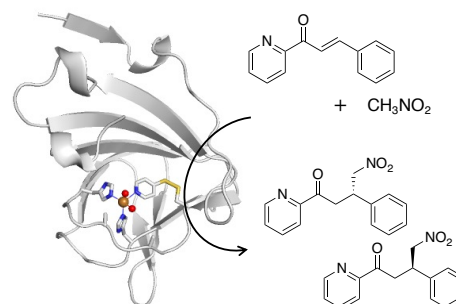


Fig. 1 Chemical modified TM1459 mutant and enantioselective Michael addition reaction.

First, an amino acid residue near the active center was replaced with cysteine and reacted with 4,4-dithiodipyridine (4-PDS). The chemical modification inversed the enantioselectivity of 3-His motif mutant. The chemically modified 2-His motif-bearing mutant showed excellent enantioselectivity (ee = 98%). X-ray crystallography revealed a structure of the chemically modified mutant.

Keywords : Artificial Metalloenzymes; Chemical modification; Asymmetric Reaction

金属錯体とタンパク質を組み合わせた人工金属酵素は、立体選択的な反応を遂行することから注目を集めている¹⁾。当研究室では、4-Hisモチーフの金属結合部位を持つタンパク質 TM1459 のアミノ酸を置換することで、立体選択的な不斉反応を触媒する人工金属酵素の構築を達成した²⁾。一方、化学修飾はアミノ酸の置換とは異なる反応場を構築することができる。そこで本研究では、TM1459 の活性中心近傍をピリジル基で化学修飾した人工金属酵素を調製し、それが触媒するマイケル付加反応の立体選択性について報告する (Fig. 1)。

まず、活性中心近傍のアミノ酸残基をシステインに置換し、4,4'-ジチオジピリジン (4-PDS) と反応させた。3-His モチーフ変異体は化学修飾により立体選択性が反転した。2-His モチーフの修飾体は高い立体選択性 (ee=98%) を示すことが明らかとなった。さらに、X 線結晶構造解析により、修飾体の立体構造を明らかにした。

1) F. Schwizer, T. R. Ward, *et al.*, *Chem. Rev.* **2018**, 118, 142. 2) (a) N. Fujieda, S. Itoh, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, 59, 7717. (b) N. Fujieda, *et al.* *Chem. Sci.*, 2023, 14, 3932.