

Title	Role of Hydrogen Bonding in the Active Site of Mo- and W-oxidases
Author(s)	馬場, 浩司
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45605">https://hdl.handle.net/11094/45605</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	馬場浩司
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第19230号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科高分子科学専攻
学位論文名	Role of Hydrogen Bonding in the Active Site of Mo- and W-oxidases (モリブデンおよびタングステン酸化酵素の活性部位における水素結合の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 上山 憲一  (副査) 教授 海崎 純男    教授 真島 和志    助教授 山本 仁 講師 岡村 高明

#### 論文内容の要旨

モリブデン・タングステン酸化酵素は基質であるアルデヒド、ジメチルスルホキシド、トリメチルアミン-*N*-オキシド等と酸素原子の授受をおこない、酸化や還元をおこなう酵素である。その活性部位ではプテリンコファクターと呼ばれるジチオレン配位子が金属に配位しており、他の金属酵素と大きく異なる特徴となっている。著者はそのジチオレンの硫黄原子に対して同じプテリンコファクター内の複素環アミノプロトンからの NH $\cdots$ S 水素結合の存在を結晶構造および分子力学計算から推察した。また近傍のアミノ酸残基からの NH $\cdots$ S 水素結合の存在もいくつかの酵素の結晶構造解析から指摘されている。

過去の当研究室のモデル錯体を用いた実験から、NH $\cdots$ S 水素結合は金属酵素の酸化還元電位を正側シフトさせていると考えられている。また分子間 NH $\cdots$ S 水素結合が酵素基質の1つであるトリメチルアミン-*N*-オキシドの還元を加速させたことも報告されている。しかしながら、これらのモデル錯体は天然の酵素の大きな特徴であるジチオラート配位子ではなく単座のチオラート配位子であったり、水素結合の形成が分子間会合による弱いものであったりするために、より工夫されたモデル錯体の開発が期待されていた。そこで著者はジチオレン骨格と分子内水素結合を有する配位子を新たに設計・合成し、モリブデン・タングステン酵素の還元型[M<sup>IV</sup>O{1, 2-S<sub>2</sub>-3, 6-(RCONH)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>}]<sup>2-</sup> (M=Mo, W; R=CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, *t*-Bu, CPh<sub>3</sub>)および酸化型[W<sup>VI</sup>O<sub>2</sub>{1, 2-S<sub>2</sub>-3, 6-(RCONH)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>}]<sup>2-</sup> (R=CH<sub>3</sub>, *t*-Bu)のモデル錯体を合成した。

分子内 NH $\cdots$ S 水素結合を有する還元型モデル錯体では M<sup>IV</sup>O/M<sup>VO</sup> の酸化還元電位は水素結合を持たない[M<sup>IV</sup>O(1, 2-S<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)]<sup>2-</sup> に比べて約+0.25-+0.46V 正側シフトした。そのシフト値はモリブデンとタングステンで大きな差はなく水素結合の効果に差は見られなかった。このような正側シフトは天然の酵素においては不活性な状態である M<sup>VO</sup> への酸化を防ぐ意味で重要であると考えられる。また分子内 NH $\cdots$ S 水素結合は R=CH<sub>3</sub> の場合トリメチルアミン-*N*-オキシドの還元をモリブデンで約13倍、タングステンで約20倍加速した。これは以前に報告されている分子間水素結合による加速(約5倍)に比べ大きな値であった。酸化型モデル錯体[W<sup>VI</sup>O<sub>2</sub>{1, 2-S<sub>2</sub>-3, 6-(RCONH)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>}]<sup>2-</sup> (R=CH<sub>3</sub>, *t*-Bu)においても W<sup>VI</sup>O<sub>2</sub>/W<sup>VO</sup>O<sub>2</sub> の酸化還元電位は、水素結合を持たない[W<sup>VI</sup>O<sub>2</sub>(1, 2-S<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)]<sup>2-</sup> に比べ+0.44-+0.51V 正側シフトしており一電子還元を受けやすくなっていることが分かった。また分子内 NH $\cdots$ S 水素結

合は  $R=CH_3$  の場合トリフェニルホスフィンの酸化速度を  $[W^{VI}O_2(1, 2-S_2C_6H_4)_2]^{2-}$  に比べ約 1/5 に落とし、 $W^{VI}O_2$  状態を安定化させていることが分かった。結晶構造解析と IR スペクトルの結果から、酸化型モデルではオキソ配位子に対してトランス位とシス位で  $NH\cdots S$  水素結合の大きさは異なり、トランス位の S とはシス位の S よりも大きな水素結合を形成することが分かった。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文は、モリブデンおよびタングステン酸化酵素の活性部位の安定化と活性化のメカニズムをモデル配位子を使う手法で錯体化学的に明らかにし、安定化には  $NH\cdots S$  水素結合の形成、活性化にはその水素結合の切断がプテリンジチオレンコファクターの酸化還元に関連していることを提唱した。本論文は、金属酵素の反応性の制御機構を明らかにし、今後のモリブデンおよびタングステン酵素の研究分野に大きく貢献したものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。