

酵素の基礎研究とその応用

—— 大倉研究室～生物工学科 ——

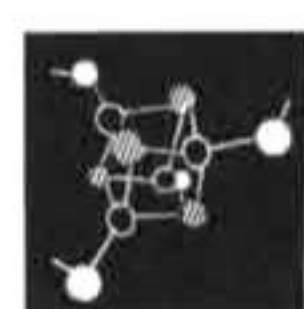
生物のからだの中では消化や呼吸などの生命活動を行う上で多数の化学反応が起きているが、その反応を進行するには特別な触媒、すなわち酵素が必要である。酵素は一般の化学反応に比べてはるかに穏和な条件での効率のよい反応を可能にすることから、生物の体内だけでなく、現在では洗剤や医薬品などさまざまな方面で利用されている。また近年で

は、バイオテクノロジーを利用して目的にかなった性質や活性を持つ酵素を人工的に作りだそうとするタンパク質工学も盛んである。

今回は、その酵素の基礎研究、及び応用として酵素を利用したエネルギー変換系の研究を行っている分子生物プロセス講座の大倉教授にお話をうかがった。



大倉 一郎 教授



酵素ヒドロゲナーゼとは

大倉研究室ではヒドロゲナーゼという酵素の活性点及び反応機構の研究をしている。そこでまず、ヒドロゲナーゼとはどのようなものなのか紹介してみよう。

この酵素は種々の嫌気性バクテリア中に含まれており、細胞内において、水素イオンを還元することによる水素発生反応($H^+ + e^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}H_2$)の触媒となる酵素である。

このようにヒドロゲナーゼは生体内の酸化還元反応にかかわっているが、この反応を行うためには、酸化される物質（電子供与体）と還元される物質（電子受容体）が必要である。

しかしヒドロゲナーゼは酵素である以上、酵素特有の性質である基質特異性（酵素によって反応する相手の物質が決まっている）があり、ヒドロゲナーゼが反応する電子供与体も特定の物質に限られる。ヒドロゲナーゼが触媒として作用する物質には3種類の物質が知られている。

そのなかでも大倉研ではチトクロームC₃という酸化還元タンパク質を電子供与体にもつ嫌気性バクテリアを培養して、このバクテリアよりヒドロゲナーゼを抽出、精製して使用している。

このヒドロゲナーゼの分子構造をみると、分子中に鉄原子と硫黄原子、及びシステイン残基と呼ばれるアミノ酸で構成されている鉄-硫黄クラスターがある（図1）。この図を見ればわかるように鉄-硫黄クラスターには4種類あるが、このうちヒドロゲナーゼに含まれているクラスターは図1の（c）であり、六面体の各頂点に鉄（図1中の黒丸）、硫黄（斜線部）が、それぞれ交互に位置している（4Fe-4S型）。そして鉄原子とシステイン残基が結合している。このクラスターはヒドロゲナーゼ1分子内に2個含まれていることが研究によりわかっており、酵素としての働きを持つのに中心的な役割を果たしている。

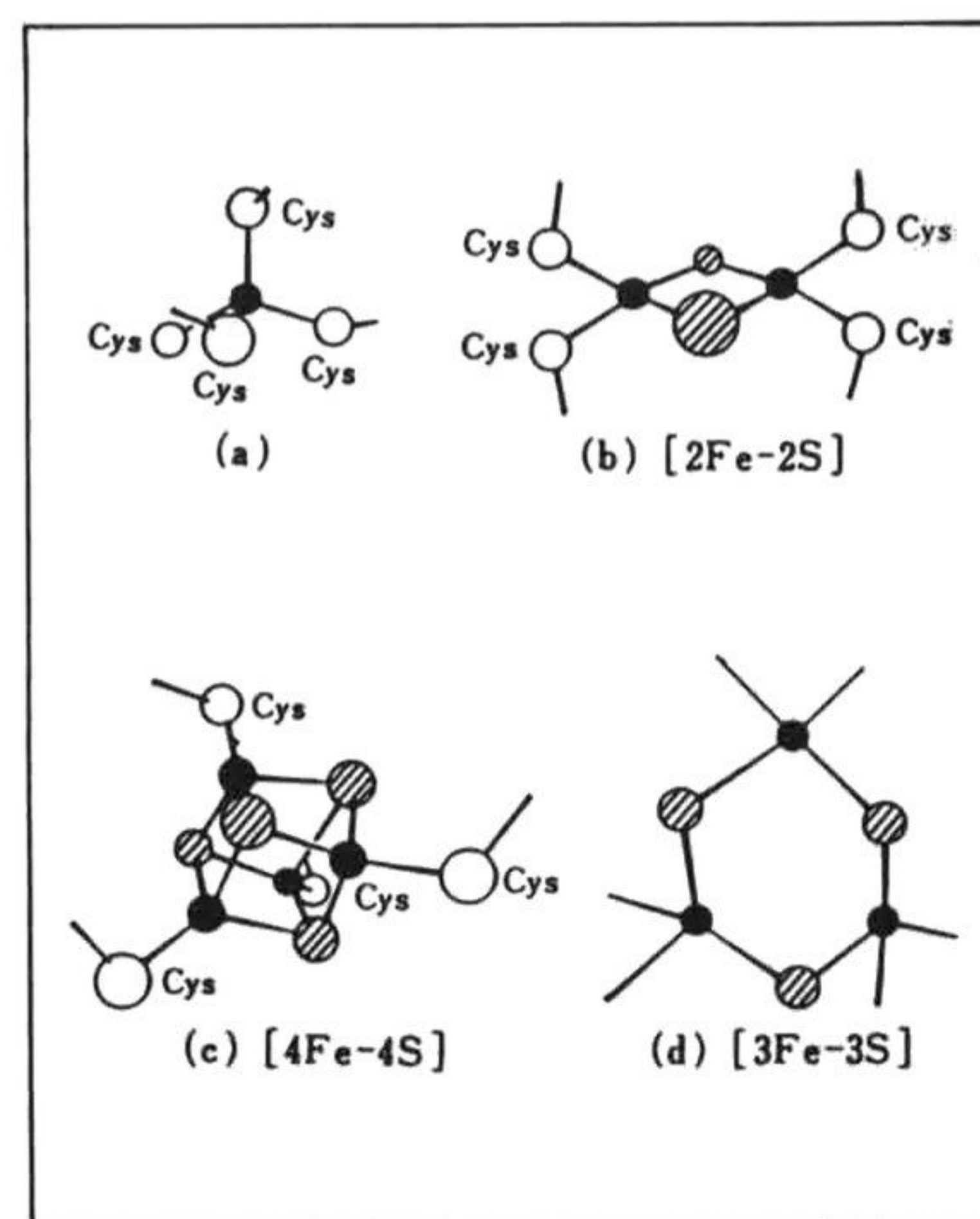
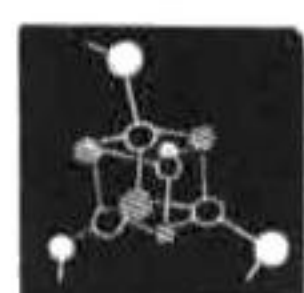


図1 さまざまなタイプの鉄-硫黄クラスター

ところで鉄-硫黄クラスターを持つ化合物にフェレドキシンという化合物がある。この酵素は植物とバクテリアの中に含まれている。植物中に含まれるフェレドキシンは図1の(b)で示したクラスター(2 Fe-2 S型)、バクテリア中のものは図1の(c)のヒドロゲナーゼと同じ4

Fe-4 S型構造のクラスターを持っている。しかし、バクテリア中のフェレドキシンは、ヒドロゲナーゼと同じクラスターを持つにもかかわらず、その働きは、ある反応系から来た電子を仲介して別の反応系に伝えているというヒドロゲナーゼとは全く違う働きをしている。



クラスターを抜き出す—ヒドロゲナーゼの合成—

またヒドロゲナーゼのような分子構造を持つ分子を半分人工的に合成することができる。

クラスターの鉄原子に注目するとシステイン残基(図1中のCys)という硫黄を含む一種のアミノ酸がクラスターの鉄原子とシステイン残基中の硫黄の部分で結合している。

この部分の結合に対しフェニルメルカプタンという試薬を反応させ、違う物質に置換することにより、ヒドロゲナーゼのタンパク質分子からクラスターの分子構造をそっくり抜き出すことができる。クラスターの抜け穴のできたタンパク質をアポタンパク質といい、このアポタンパク質の性質を調べたところ、ヒドロゲ

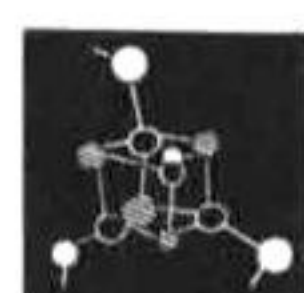
ナーゼの働きは全く失われていた。この結果からも、ヒドロゲナーゼが酵素としての働きを持つためにはクラスターが大きな役割を果たしていることがわかる。

これとは逆にクラスターを人為的に後から合成することもできる。アポタンパク質の骨組みを持つ分子に、2-メルカプトエタノール、 Na_2S 、 FeSO_4 を加えてやると、鉄-硫黄クラスターを再び合成することができる。

つまりヒドロゲナーゼから鉄-硫黄クラスターを抜きだしたり、またもとに戻すといった再構成もできる。こうした実験によってアポタンパク質も大きな役割を果たすことがわかった。

ではアポタンパク質に代わるものではどうなのか、つまり別のタンパク質を使ってクラスターを合成できないのであろうか。

いろいろなタンパク質をテストしてみた。すると牛の血清アルブミンというタンパク質に前述の合成試薬を入れてやることによりクラスターが結合したものができあがった。この化合物にもヒドロゲナーゼの働きはあるのだが、その活性の度合いはヒドロゲナーゼに比べると1/1000に下がってしまう。しかし、どのような合成を行えばこのようなクラスターの結合したタンパク質ができるのかは今のところ詳しくわかっていないそうである。



光エネルギーから化学エネルギーへの変換

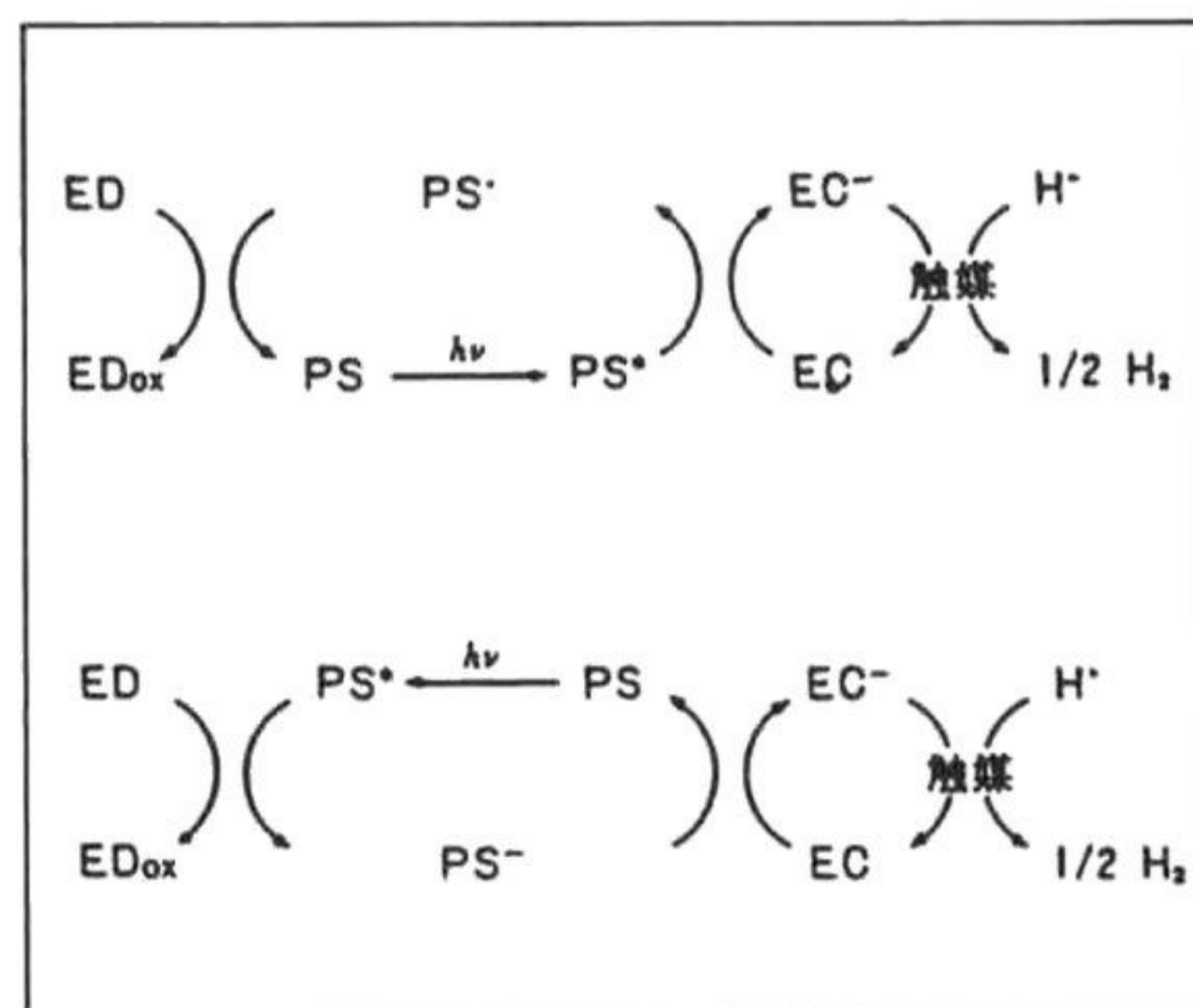


図2 水の光分解の反応モデル

ヒドロゲナーゼの応用として、ヒドロゲナーゼの触媒としての機能を利用して太陽エネルギーを化学エネルギーに変換するシステムの研究がある。具体的に言えば、太陽の光によって水を分解し、水素を得るというものである。水素は炭酸ガスの発生をともなう化石燃料と違い、地球環境を破壊しないクリーンなエネルギーである。しかもその水素を得るのに無尽蔵ともいえる太陽の光を使えるとなれば、将来的にも非常に有効なエネルギー源になりうる。ここではそのシステムについて紹介する

ことにしよう。

このシステムは一連の酸化還元反応の連鎖であり、四つの反応から成り立っている。具体的に言うと最初に電子を与える役割をする電子供与体(ED)、光をキャッチしそのエネルギーを次の反応に伝える光増感剤(PS)、光増感剤から移動してきたエネルギーによって電子を伝達する電子伝達体(EC)、そして触媒から構成されている。(図2)

この図で $\text{PS} \Rightarrow \text{PS}^*$ の部分はPSが光エネルギーを受けることによって励起状態(エネルギーレベルの

高い状態) になっていることを示している。この励起状態では化学反応が起こり易く、次の電子伝達体ECを還元するのに都合がいい。この図より電子供与体EDから電子が各反応系を経て橋渡しされ、最終的に水素イオンを還元していることがわかる。しかし、この反応系は逆反応も起こる。つまり、電子がもとの反応経路を逆に移動してしまうのである。

この逆反応は、主に光増感剤の励起状態の寿命、および光増感剤と電子伝達体との間の静電的相互作用によるところが大きい。このシステムはいかに逆反応を抑え、電子を効率よく次の反応に伝えるかが、重要なポイントになる。そのためにはPS、ECにどんな物質を使うかが問題になってくる。

大倉研究室ではこの反応系に光増感剤としてポルフィリン、電子伝達体にメチルビオロゲン、そして触媒にヒドロゲナーゼを用いて研究している。

ポルフィリンとは緑色植物の中に含まれている葉緑素のなかのクロロフィルの骨格にもなっている物質であり、太陽の光の波長域をとらえるのに非常に適している。このシステムのポルフィリンは分子構造の中心に亜鉛Znの入ったものを使っている(図3-A)。光増感剤にクロロフィルを使えば一番よいのだが、クロロフィルを反応系で使うと分子構造の中心にある金属(マグネシウム)が

抜け落ちてしまい、このシステムには適さないそうである。

そして触媒の所にヒドロゲナーゼを使用するわけだが、前述のとおり基質特異性があるので、電子伝達体ならばなんでもよいというわけではない。つまり特定の相手でなければ酵素として機能しない。そこで電子伝達物質として人工の基質であるメチルビオロゲン(MV)を使用している。(図3-B)

また図3-Cは、ポルフィリンにメチルビオロゲンをつなげて両方の機能をもたせたビオローゲン結合型

ポルフィリンである。したがってこれらの物質を使って図2を書きかえると(図4)のようになる。

このシステムにおいて触媒の所にヒドロゲナーゼを使うことによって白金触媒をつかうよりヒドロゲナーゼが最も良く機能する条件で約500倍、反応速度が上がる。

しかしこのシステムは、ポルフィリンやヒドロゲナーゼが石油などに比べて、非常にコストが高くなるため実用的なものではない。あくまで基礎研究が主なので実用化は考えていないそうである。

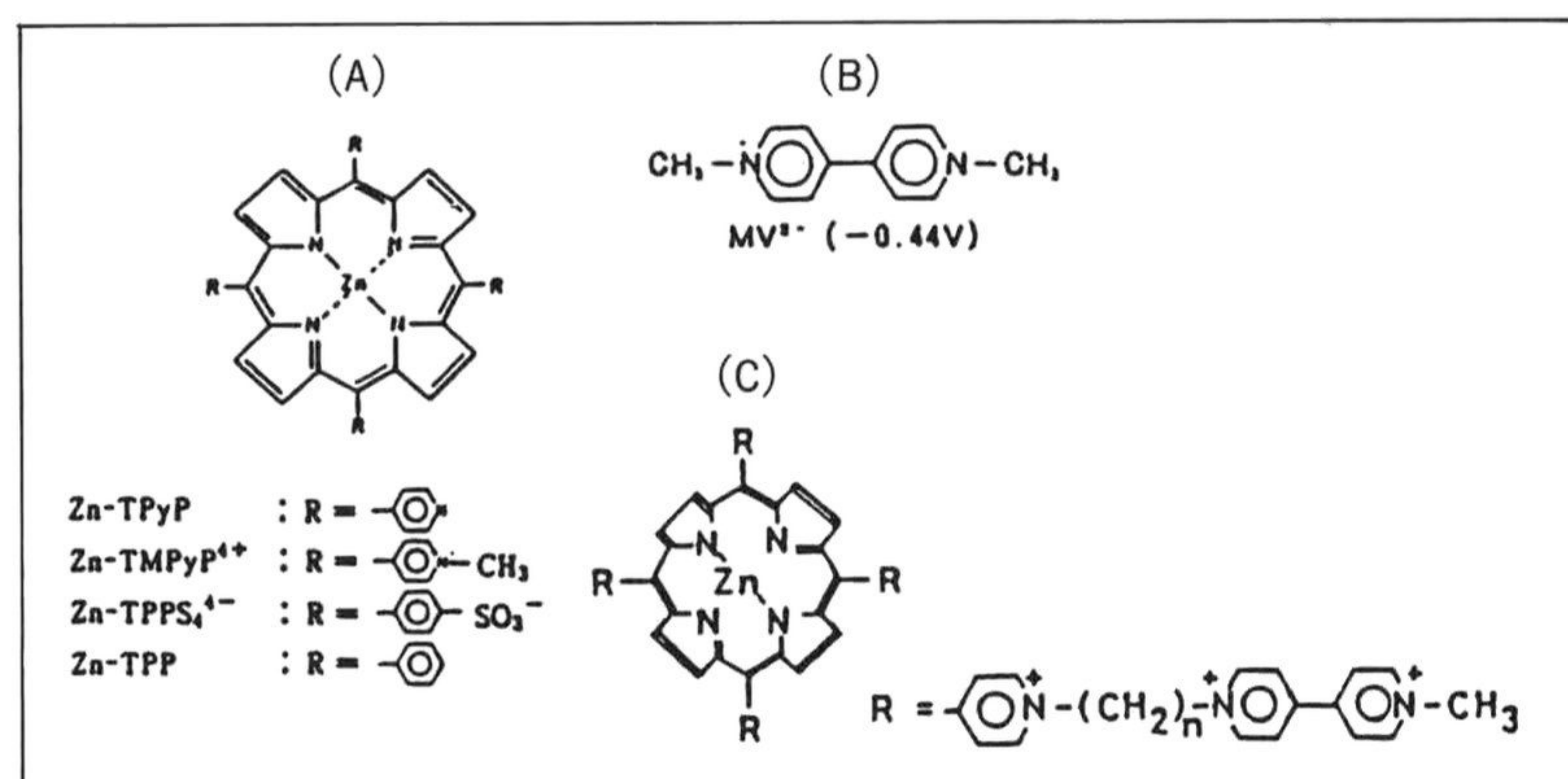


図3 ポルフィリン、及びメチルビオロゲン

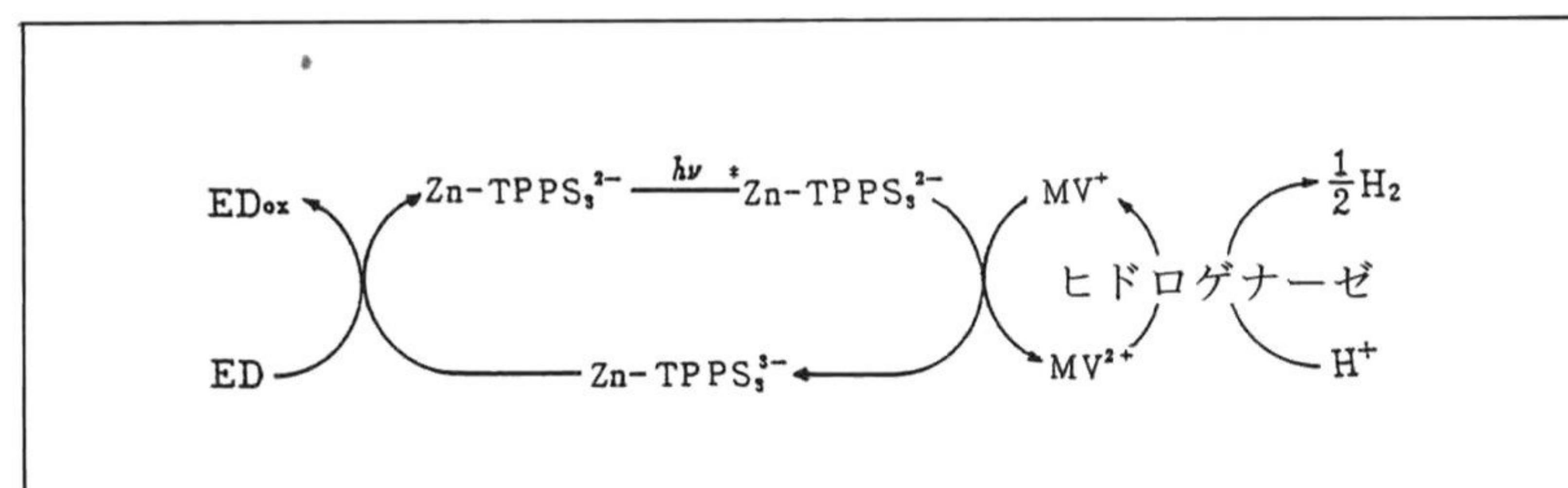


図4 大倉研究室で開発された光水素発生系モデル

大倉先生は今、嫌気性細菌に興味を持っているそうである。なぜなら、現在の大気は酸素がたくさんあるので大部分の生物はこの酸化的雰囲気環境に適した反応を行いながら生活している。ところが太古の昔、つまり酸素のない大気の時代から還元的な雰囲気環境で生きてきた嫌気

性細菌は逆の反応、つまり水を分解し水素を発生して生活している。そのため現在の水素が欲しい状況では非常におもしろい菌であるからである。

最後に取材に協力して頂いた大倉先生に深く感謝いたします。

(鐵)