



空中窒素固定酵素ニトロゲナーゼの 化学的モデル化合物について

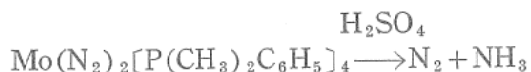
中 村 晃*

空気中には大量の窒素分子 (N_2) が含まれているが、植物にはアンモニア (NH_3) の形になっていないとその生育には利用され難い。ある種の植物では、特殊なバクテリアの作用によって、空中窒素を固定して得たアンモニアによって生長が促進されるので荒地にも育つことができる。通常の穀物が、この様な空気中の窒素分子をアンモニア肥料として利用できれば、食糧増産の点から見て素晴らしいことである。

化学的には N_2 分子は不活性であって、高温高圧のもと、特殊な固体触媒の助けで水素分子と反応させて、アンモニアとしている。エネルギーの価格が高くなりつつある現在、この古いプロセスによるアンモニアの生産は根本的に革新される必要が起こってきた。全く新しい原理に基いた触媒系を探索するためには、常温常圧で、たやすく窒素を還元している窒素固定バクテリアでの、化学的プロセスを理解することが重要であろう。現在、こういったバクテリアから、生化学的方法によって、窒素固定酵素（ニトロゲナーゼ）という褐色の高分子化合物（主に各種のアミノ酸が長くつながったペプチドと呼ばれるもの）がとり出されている。現在の化学の水準でもニトロゲナーゼの化学構造を完全に明らかにすることは容易ではない。まず第一に、それは空気に対し非常に不安定であり、大量のとり出しが難しいこと、また、分子量が大きく結晶化が困難なことなどによって、普通酵素の化学構造の研究に用いられるX線結晶解析法が容易に行えないためである。

一方、化学的に不活性と思われた窒素分子が金属と化学結合して、窒素錯体 (N_2 complex) となることが見出されたのは、1965～1967年で

あり中でも東工大山本明夫教授と東大内田安三教授らによる窒素分子のコバルト錯体の発見は有名である。金属に結合する（配位するという）ことによって、不活性な窒素分子が化学的に活性化され、還元され易くなっているのではないかと思われた。そこで、配位結合した窒素分子を水素ガスで還元し、アンモニアに変えようと試みられたが、全く失敗に終わっている。しかし、モリブデンまたはタングステンの窒素錯体は、メタノール中、硫酸によってアンモニアを生ずる（下式参照）

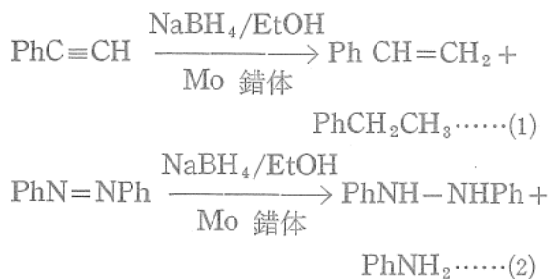


この様な単純な反応でも窒素分子が還元されるので、やはり金属の種類など適切に選ぶと、窒素分子は化学的に活性化できるのである。

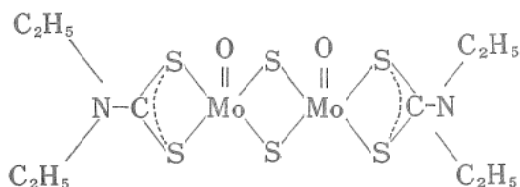
すでに多くの種類の窒素錯体が合成されているが、 N_2 以外に有機リン化合物を結合したものがよく見られる。生体中にはこの様なリン化合物は全く存在せず、上の反応は窒素固定酵素での化学プロセスとは、かなりかけはなれた人工的なものである。

ニトロゲナーゼの化学分析は、いろいろな原料から得られたものについて繰返し行われていてモリブデンと鉄を大体1:12の原子比で含んでいる。モリブデンは無機イオウ (S^{2-}) と蛋白中のシステイン残基のチオール ($-NH-CH(CH_2S^-)-CO-$) の両方に結合していると考えられていた。約5年前から私は、基礎工学部大塚齊之助教授と協同して、モリブデンのイオウ錯体をいろいろ作って、それらの触媒作用を調べ出した。窒素分子の還元は、簡単に作れるモリブデン錯体では殆んど見込がない。そこで化学反応として関連の深いアセチレン結合やアゾ結合の還元での錯体の触媒作用を調べた。

* 中村 晃 (Akira NAKAMURA), 大阪大学理学部, 高分子学科, 教授, 理博, 高分子化学

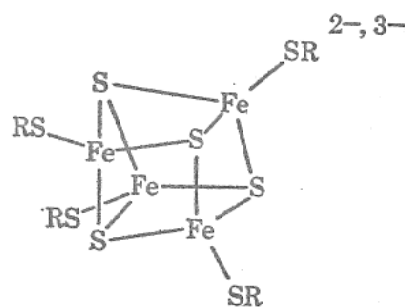


これらの反応は、Mo 錯体なしでは進行せず、錯体は NaBH_4 から電子を受け取り、これをアセチレンやアゾ化合物に渡す作用をしていると考えられる。Mo 錯体の内、イオウが Mo に結合しているもの、例えば、 $\text{Mo}_2\text{O}_2\text{S}_2(\text{S}_2\text{C}-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2)_2$ (構造式参照) が特に触媒活性が高く、 30° で数時間の間に アゾベンゼンをアニリンへ還元する¹⁾。

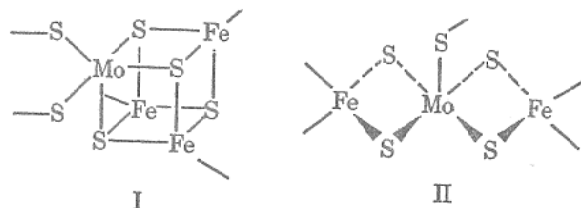


このようなモデル錯体で、モデル反応(1)、(2)の研究が続いている間に、アメリカで窒素還元“Essential Cofactor”が、ニトロゲナーゼからとり出され“ MoFe_9S_8 ”部分を持つ分子量数千の蛋白(ペプチド)であることがわかった²⁾。生体内での窒素固体では、この Mo と Fe を含む部分 (Mo Fe Cofactor と呼ぶ) に、還元に必要な電子を供給するフェレドキシン部分(特にアゾフェレドキシンという)が作用して円滑な反応を行っているのである。フェレドキシンは他の生体内酸化還元においても電子を運ぶ役目をしているが、その化学構造は、1973 年スタンフォード大学の R. H. Holm 教授によって、下図のような Fe と無機イオウを含むサイコロ状の錯体であることがわかっている。

Mo Fe Cofactor の構造は1978年スタンフォード大学のシンクロトロン装置より得られる強いX線を利用し、K. O. Hodgson 教授によって、フェレドキシンによく似た構造ⅠまたはⅡではないかと報じられた³⁾。

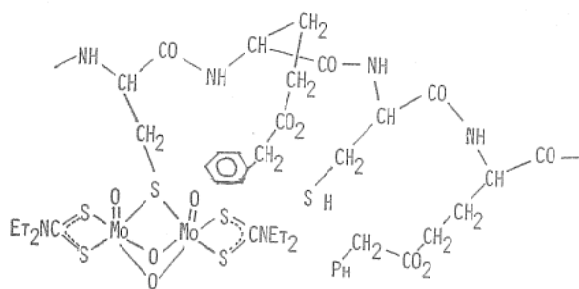


四コの Fe を含むフェレドキシンモデル錯体の構造 (Rはアルキルやアリールなどの有機基を示す)



これらの構造が提出されると、すぐに Mo と Fe を 1 対 3 の比で含む類似のサイコロ状錯体がイギリス (Garner ら) とアメリカ (Holm ら) で作られたが、その触媒作用は未だ不明である⁴⁾。基礎工学部大塚教授のところでもⅠと同じと思われる錯体、 $[(\text{C}_4\text{H}_9-\text{S})\text{MoFe}_3\text{S}_4(\text{S}-\text{C}_6\text{H}_5)_3]^{2-}$ が最近合成され、その触媒作用が調べられた。予想通りニトロゲナーゼの行うアセチレンの半還元が起こった。しかしながら窒素分子の還元は殆んど見出されず、更に高次元のモデル錯体を探さねばならない。

これまでのモデル錯体は、金属をとりかこむポリペプチドの役割を一応無視してきたが、Mo Fe 混合錯体が合成された現在、システインを含むポリペプチドに適切な形の Mo 錯体を結合させた高分子錯体の合成と触媒作用の研究が、ニトロゲナーゼの化学的モデルとして極めて重要となってきた。大阪大学理学部でのわれわれの研究グループ(小国講師、上山教務員ら)は、簡単なペプチドと Mo イオンとの反応を詳しく調べる一方、システインを含む各種のポリペプチドを新たに合成し、これらに触媒活性の期待される Mo 錯体を化学結合させ、上記の反応(1)および(2)における触媒活性を検討してきた。Mo 錯体単独の他、別に合成したフェレドキシン・モデル錯体、 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{S}-\text{C}_3\text{H}_7)_4]^{2-}$



モリブデンのポリペプチド錯体の推定構造

を添加した触媒系についても実験を行った結果、ポリペプチドに Mo を結合させ、更にフェレドキシン・モデル体錯を添加した系が最も活性が高いことがわかった⁵⁾。この系では、Mo と Fe の両方が互に結合した I の型の錯体が合成ポリペプチド中で生成しているものと考えられ、現在の段階では、ニトロゲナーゼの化学的モデルとして程度の高い化合物であると言える。

今後、大塚教授との協力によって、MoFe 混合錯体をペプチドに結合させた新しい高分子錯体や丁寧にデザインされたペプチド配位子の Mo 錯体によるアセチレンやヒドラジンの還元反応を更に研究し、ニトロゲナーゼに一層類似した化学構造を持ち、その作用も著るしいものを見出すことを目標としている。

文 献

- 1) A. Nakamura 他, J. Less-Common Metals, 54, 495 (1977)
- 2) W. J. Brill, V. K. Shah, Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. A. 74, 3249 (1977)
- 3) K. O. Hodgson 他, J. Am. Chem. Soc., 100, 3398, 3814 (1978)
- 4) R. H. Holm, 他, J. Am. Chem. Soc., 100, 4630 (1978) C. D. Garner 他, Chem. Comm., 740 (1978)
- 5) 中村 晃他, 高分子討論会要旨, 27, No. 8, 1418 (1978)

