

研究成果

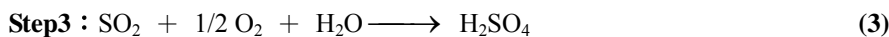
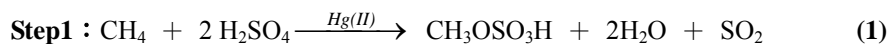
在生物系統中甲烷控制性的活化

俞聖法 (化學所助研究員) 陳長謙 (特聘研究員)

前言：甲烷分子的基本物理化學特性、在能源上的利用與對環境的影響

甲烷分子是存在最小的有機分子，屬於最輕質的碳能源，就熱力學的觀點而言，其還原性的碳氫鍵與氫分子的氫原子-氫原子共價鍵具備類似的能量，但由於其 1 個分子即具備了 4 個碳氫鍵，如果能將甲烷分子一口氣氧化至二氧化碳，所具備的能量效能，自然比氫能源來的更有效率。

然而，甲烷的化學反應性很低，在常溫常壓下要將烷類化合物進行羥化反應等活化反應是相當困難的，尤其在碳-氫鍵能高達 438.8 kJ/mol 狀況下，以目前所熟知的合成方法而言，則需要在適當的催化劑及特殊條件下作用，才能將甲烷氧化成甲醇，例如利用親電子試劑 Pt(II)、Pd(II)、Co(III) 等催化劑來活化甲烷分子進行氧化反應，不過產率卻不盡理想，直到後來利用 Hg(II) 在 180 °C 濃硫酸下與甲烷進行反應(式(1)~(4))，可將甲醇產率提高至約 43%，但卻產生大量二氧化碳副產物的缺點，缺乏應用價值。



因此，如何將甲烷有效率地活化，已成為科學與化學領域裡一個極其重要的問題。

在自然界中，普遍存在以甲烷為主要碳源的利用細菌-嗜甲烷菌，這個細菌具備甲烷單氧化酶，可將甲烷選擇性地氧化成相對應的甲醇後，進行所謂的碳壹代謝 (C1 metabolism)。由於這些細菌可以分解甲烷成為高氧化態的分子-二氧化碳，因此，我們可以想像，舉凡可能產生大量甲烷的區域，如沼澤、動物的排遺堆肥以及植物生長廣泛區域 (如森林或稻田) 之地表上下各 10 公分處，均可能有這些細菌存在，它們擔負著自然界中甲烷循環的使命，最重要的，大氣中的甲烷和二氧化碳一樣，是溫室效應的氣體，會吸收太陽輻射所產生的紅外光，藉由振動的模式將能量吸收，以熱的形式釋放出來，而嗜甲烷菌則擔負著全球百分之十左右甲烷循環的調節，不致使地球大氣因過多的甲烷，導致全球溫度上升，因而衍生極端氣候及海平面上升所帶來的危害。

嗜甲烷菌與微粒體型甲烷單氧化酶

嗜甲烷菌利用甲烷單氧化酶將甲烷活化成為甲醇，一般而言，這些菌系可產生兩種截然不同的甲烷單氧化酶，一種稱為溶解型甲烷單氧化酵素，其活性中心為雙鐵-鑽石核心型態、非 heme 的雙羥基架橋雙鐵原子化合物 (bis- μ -hydroxo-bridged binuclear iron)，主要分布於細菌細胞的細胞質中。另一種甲烷單氧化酶則為微粒體型甲烷單氧化酵素，這為含銅酵素，分布於細菌的細胞內膜上，為膜蛋白。這兩種蛋白的表現和細胞內銅離子的濃度有極大的關係，在低銅離子濃度的狀態下，嗜甲烷菌主要是以溶解型的甲烷單氧化酵素來做甲烷的利用，在高銅離子的濃度狀態下，則以微粒體型的甲烷單氧化酵素作表現。

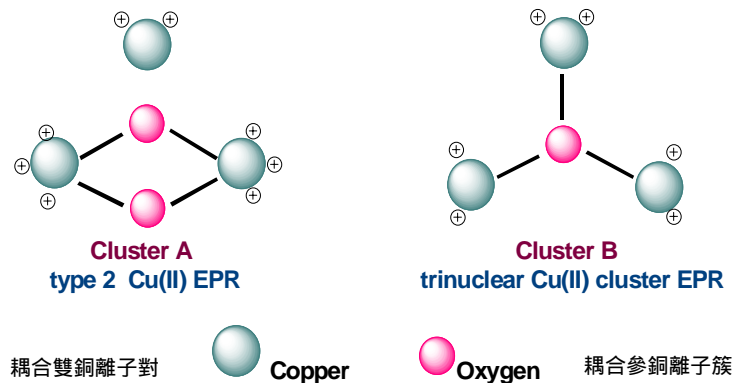
本院化學所的部分研究群，積極從事了解甲烷單氧化酵素是如何將甲烷轉化成為甲醇等這方面的工作，並期望能夠利用合成的方式重建酵素活性，架構所謂的模擬分子，我們對嗜甲烷菌系內微粒體甲烷單氧化酶內的銅離子之功能角色有極大的興趣，畢竟，了解化性相對於鐵離子更為惰性的銅離子如何能夠催化相關反應的發生，是

極有趣的課題，所以我們選擇了一個在攝氏 45 度生長、重複時間約兩個小時、在兩天左右即可生長至穩定期的嗜甲烷菌 *Methylococcus capsulatus* (Bath) 作為研究的主要材料。

甲烷單氧化酶是由三個次單元體所組成，分別為 α ~43kDa (PmoB)、 β 27 kDa (PmoA) 及 γ 23 kDa (PmoC)，純化後的膜蛋白，由元素分析鑑定出單一蛋白約含有 12 至 15 個銅離子，再配合其他如 X 射線吸收或 X 射線螢光光譜的測量，得知甲烷單氧化酶僅含有銅離子，不具備鐵或鋅等其他過渡金屬，並由這些結果推論微粒體甲烷單氧化酶是含銅蛋白。

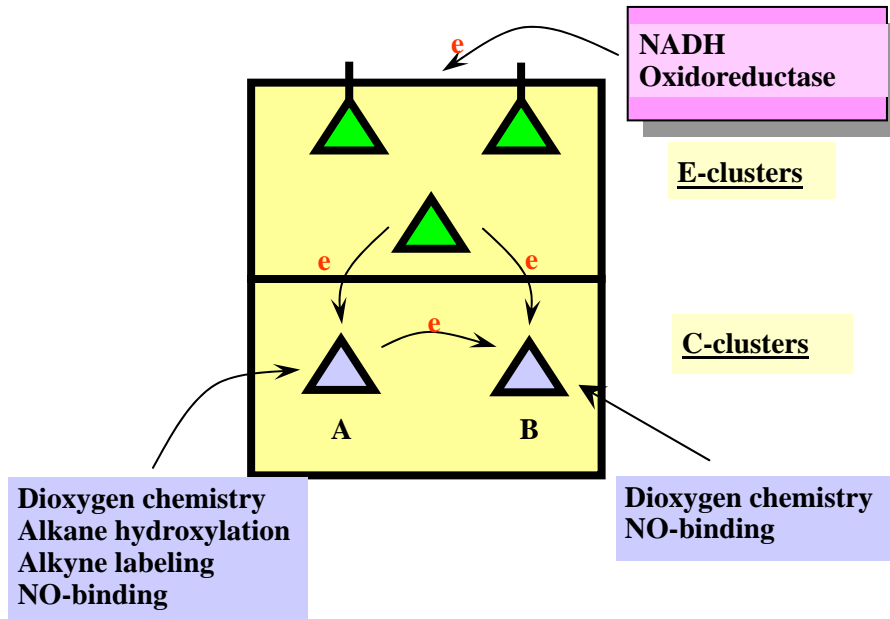
微粒體型甲烷單氧化酶內的電子聚銅離子簇與催化聚銅離子簇

銅離子為生物體中所存在第 2 高含量的過渡金屬，第 1 高含量的過渡金屬是鐵離子，但一般的觀念認為銅離子的化性不及鐵離子錯化物，所以一開始鑑定出微粒體甲烷氧化酶是含銅蛋白時，許多相關的研究學者，均抱持懷疑的態度，但光譜數據分析的結果卻顯示，12-15 個銅離子中，存在著某種特殊的機制，使得甲烷能在這樣的架構下氧化。其中，約有 6 至 9 個銅離子是屬於氧氣無法氧化的亞銅離子，扮演著電子儲存與運送的角色，基於它們做為電子儲存庫的功能，我們稱這些亞銅離子為「電子聚銅離子簇」(E-cluster)，而剩下約 6 個銅離子，則以 3 個銅離子為一組做排列，形成兩組參銅離子簇，在光譜上，我們可以很明顯地區分出其中一組為 3 個互相耦合、順磁二價的參銅離子簇，而另外一組，則為單一的二價銅離子與一個逆磁的雙銅金屬對。這些可以被氧氣氧化的銅離子，因為很明顯地直接參與氧氣的利用及甲烷的活化，所以，我們將它們命名為「催化聚銅離子簇」(C-cluster)。



圖一、微粒體甲烷單氧化酶其催化活性中心中之參銅離子簇 A 與 B

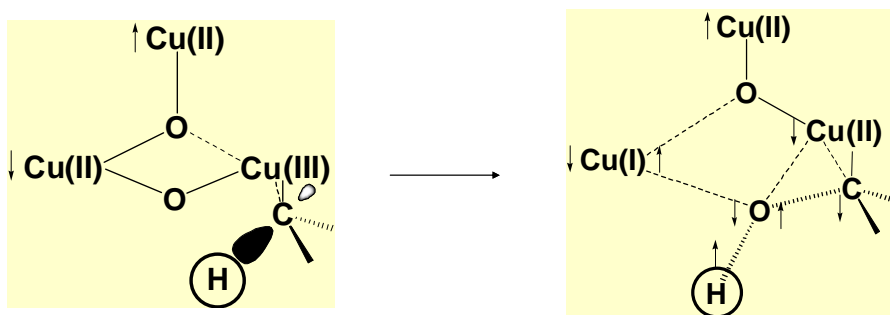
何以甲烷的氧化酶需要 6 個可氧化的催化性銅離子，並以 3 個銅離子為群組做排列呢？我們可以很簡單地由化學定量的觀點來加以描述 ($\text{CH}_4 + 2\text{O}_2 + 6\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow \text{CH}_3\text{OH} + 3\text{H}_2\text{O}$)，甲烷氧化成為甲醇，可提供兩個電子給氧原子，但氧分子的另外一個氧原子，則可再配合兩個電子及質子的參與，產生另一個水分子，若再額外加入 1 個氧分子，則其 2 個氧原子可再外加 4 個電子來完成 2 個水分子的還原，總而言之，為了要達成甲烷的活化及氧分子的還原，總共需要 8 個電子才能完成，其中 6 個電子由還原性的「催化聚銅離子簇」提供，各生成 1 個二價銅離子、耦合雙銅離子對及耦合參銅離子簇，產生 3 個水分子，而甲烷則提供額外的 2 個電子，將分子極化生成甲醇。基於化學計量所衍生出的結果，我們可以推論，其中一個參銅離子簇的催化角色為甲烷的活化，然而，另外一個參銅離子簇的功能則為氧化酶，目的在轉化氧氣產生 2 個水分子。



圖二、電子聚銅離子簇與催化聚銅離子簇間的電子轉移

可活化甲烷的聚銅中間體

在過去，我們一直試圖以分子設計的角度，來探討甲烷在微粒體甲烷單氧化酵素裡真正催化甲烷的中間體架構，為了比較各種可能的含銅中間體對甲烷活化的影響，我們以理論計算(1)bis(μ-oxo)Cu(III)₂、(2)混合價數的 bis(μ-oxo)Cu(II)Cu(III)複合物，及(3)參銅離子簇為主的 bis(μ₃-oxo)Cu(II)Cu(II)Cu(III)等三種可能情形，評估何種中間體對羥基化反應的速率最快，我們發現以參銅離子簇為主的 bis(μ₃-oxo)Cu(II)Cu(II)Cu(III)，反應速率可達 10⁷-10⁸s⁻¹，和另外其他兩種中間體其速率的差異，更達到 4 至 5 的數量級，因此，我們推斷，在甲烷活化的參銅離子簇，其 3 個還原態的亞銅離子可以藉由 4 個電子與氧氣配位鍵結，以生成 Cu(II)Cu(II)Cu(III)的中間體，此中間體可以直接採用較具活性的單譜線氧原子，以同步型態的方式，造成氫氧鍵與碳氧鍵形成、碳氫鍵的斷裂並生成甲醇。目前，我們根據理論計算所獲得的結果，設計與合成了一系列的 Cu(II)Cu(II)Cu(III)的中間體，這些中間體在與氧氣共價鍵結後，存在極高的氧化活性，目前我們正積極的嘗試以這些錯化物為架構，設計適當的催化劑，測試是否可以將甲烷活化。



圖三、微粒體甲烷單氧化酶中活化甲烷的參銅金屬簇為主的反應中間體