

# 主 論 文 要 旨

報告番号	甲 乙 第	号	氏 名	加藤 太一郎
主 論 文 題 目 :				
微生物を用いた $\alpha$ -置換カルボン酸のデラセミ化反応				
(内容の要旨)				
<p>デラセミ化は、基質の構造を全く変化させることなく、単にラセミ体を光学活性体に変化させる極めて珍しい反応である。つまり各エナンチオマーの比率が 50:50 である状態を、反応の結果 100:0 へと収束させる。また出発物質と生成物の構造が同一であるため反応後の分離操作も必要ない。これらのことは、ラセミ体を調製することと光学活性体を調製することと同様の意味を持つことを示している。本法は光学分割の限界、つまり最大収率が 50%を超えることがないこと、および反応の前後にて未反応基質と生成物の分離操作が必要であること、を克服する新奇かつ有用性の高い光学活性体調製法である。</p> <p>著者は博士論文研究において、<math>\alpha</math>-置換カルボン酸、具体的には<math>\alpha</math>-メチルカルボン酸と<math>\alpha</math>-アミノ酸、に対してデラセミ化活性を示す生体触媒を用いた効率的な光学活性体調製法の確立と、デラセミ化を実現する機構の解析を目的とし、研究を展開した。</p> <p><math>\alpha</math>-メチルカルボン酸に対するデラセミ化反応では、<i>Nocardia diaphanozonaria</i> JCM 3208 株および <i>Brevibacterium ketoglutamicum</i> KU 1073 株を利用した検討を行った。全菌体を用いた条件では、反応系に様々な工夫を加えることによって、多数の基質に対してデラセミ化反応を優先させることに成功した。また、阻害剤や重水素置換された化合物を用いた反応機構の解析によって、本反応が複数の酵素が関与する複合反応機構(立体選択的ラセミ化反応)にて実現されていることを明らかにできた。また <i>B. ketoglutamicum</i> については酵素精製を試み、立体選択的なチオエステル化を触媒する酵素を精製できた。相同性検索の結果、本酵素は medium-chain acyl-CoA synthetase と大変高い相同性を示すことを確認した。</p> <p><math>\alpha</math>-アミノ酸に対するデラセミ化反応では、立体の反転過程を色の変化にて識別する方法を考案した。これを利用することによって土壌からのスクリーニングを効率よく行い、複数の菌株を単離することができた。得られた微生物の中で、特に活性の強かった <i>N. diaphanozonaria</i> JCM 3208 株、<i>Sinorhizobium meliloti</i> ATCC 51124 株および <i>Pseudomonas</i> sp. No.9 株の全菌体および破碎菌体を用いた検討を行い、本反応が<math>\alpha</math>-ケト酸を中間体とする複合反応機構(立体選択的立体反転反応)にて進行していることを明らかにした。また破碎菌体を用いた検討では、人工的な補因子を添加することによって、全菌体と同等のデラセミ化活性を発揮する条件を確立することができた。ところで、<i>S. meliloti</i> ATCC 51124 株のゲノムの全塩基配列が既に明らかになっていたことから、反応に関与する遺伝子を推定し、大腸菌による大量発現を試みた。最終的にアミノトランスフェラーゼを大量発現した組み換え大腸菌を用いて、全菌体にて効率の良いデラセミ化反応を実現することが可能となった。</p>				