

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	酵素法による D-アミノ酸誘導体合成を目指した高機能化人工酵素の開発と応用				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	中野 祥吾
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	中野 祥吾

講演題目	酵素法による D-アミノ酸誘導体合成を目指した高機能化人工酵素の開発と応用
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>広範な基質特異性を有する L-アミノ酸オキシダーゼ (LAAOs) は、D, L-アミノ酸 (D, L-AAs) の D-エナンチオマーへの脱ラセミ化反応に応用することが可能である。超耐熱化 LAAO2 (HTAncLAAO2) は、手動による配列データマイニングと祖先配列再構築を組み合わせることで、データベースから新規に単離・設計された酵素である。一般的に LAAOs の大量発現はその細胞毒性の高さから困難だと報告されているが、<i>E. coli</i> 発現系を用いることで HTAncLAAO2 の可溶性発現 (> 50 mg/L) を達成できた。続いて HTAncLAAO2 の酵素学的諸性質を検討した。結果、本酵素は 7 つの L-AAs を基質として認識し、極めて高い熱安定性と長期安定性を有することが判明した。具体的には $t_{1/2}$ 値は 90°C であり、30°C で 1 週間インキュベートした後の活性喪失は 5% 未満であった。従来報告された LAAOs に比べ、40°C で酵素量を抑えた条件下で脱ラセミ化を達成できることが示唆された。事実 HTAncLAAO2 を 0.4 mg (2 U) 使用することで、3 つの D, L-AAs を分取スケールで高い ee 値 (> 99% ee、D-エナンチオマー) で脱ラセミ化できた。これら成果は本酵素が光学純度の高い D-AAs の合成に有用な、優れた生物触媒であることを示唆していた。</p> <p>現在、上記成果をまとめて論文発表に向けた準備を進めている。</p>