

648 L-アラニンデヒドロゲナーゼ活性を有する *Arthrobacter oxydans*
KY3200株によるアラニン発酵
(協和発酵・東京研) ○橋本信一、鈴木 誠、川本 勲、勝亦瞭一

【目的】 α -ケトグルタル酸を還元的にアミノ化するグルタミン酸デヒドロゲナーゼ (GluDH) は、Glu発酵における生合成経路の最終段階を触媒する鍵酵素として機能している。一方、ある種の細菌には、解糖中間体ピルビン酸 (Pyr) の同様な還元的アミノ化とその逆反応を触媒するL-アラニンデヒドロゲナーゼ (AlaDH) が存在する事が知られているが、それら活性保有菌を用いたAlaの発酵生産に関する報告はない。一部の活性保有菌では本酵素の産生がグルコース (Glc) による抑制を受けることが知られており、それがAla生産を阻んでいる可能性がある。我々は、Glc抑制を受けないAlaDH活性保有菌を探索し、糖質からのAla発酵の開発を試みた。

【方法および結果】 Glcを炭素源とするプレートに土壌分離菌のコロニーを形成させ、それらをAlaDHの逆反応を利用して活性染色することにより、AlaDH陽性株を取得した。最も強く染色されたKY3200株 (*Arthrobacter oxydans*と同定) について解析した結果、本菌はGlcを炭素源とした時、培地中の NH_4^+ 濃度に依存してAlaを蓄積することが分かった。ジャーを用いた最適条件下でのフェッドバッチ培養 (総投入グルコース14.5%) では、DL-Alaの蓄積量は80.8g/l (対糖収率48%) に達した。細胞抽出液を用いた活性及びSDS-PAGE解析の結果から、本菌のAlaDH合成はGlc抑制やAlaによる誘導を受けず、培地中の NH_4^+ 濃度に依存して高まり、その制御は蛋白合成のレベルで行われていることが判明した。これらの結果から本菌のAla発酵は、Glc非抑制・ NH_4^+ 誘導を受けるAlaDHによって成立していると結論した。

Alanine Fermentation by *Arthrobacter oxydans* KY3200 with L-Alanine Dehydrogenase Activity
Shinichi Hashimoto, Makoto Suzuki, Isao Kawamoto, Ryoichi Katumata
Tokyo Research Laboratories, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.

649 酵素法によるL-スレオニンの生産 (4) 複合酵素系による不斉分解反応
(電気化学・総研) 池見昌久・○守川忠志・加藤正明・三好照三
(京大・農・農化) 清水 昌・山田秀明

1 目的 我々は、化学合成法と2種類のスレオニナルドラーゼによる異性体の酵素的分解法を組み合わせた新しいL-スレオニンの合成法を開発した。前回までに、本方法の基本反応プロセス、減圧蒸留型酵素反応装置の開発、固定化D-スレオニナルドラーゼ (DTA) を用いたカラム型反応装置によるDL分割について報告した。今回は、固定化L-アロスレオニナルドラーゼ (LAA) と組み合わせた複合酵素系による不斉分解反応について検討した。

2 方法および結果 D-スレオニンおよびD-アロスレオニンをグリシンとアセトアルデヒドに開裂するアルドラーゼ (DTA) を生産する *Arthrobacter* sp. DK-38株を、2価金属イオン存在下で熱処理してL-スレオニン分解酵素 (L-スレオニンデアミナーゼ、LTD) 活性を除去した。一方、L-アロスレオニンに特異的な酵素LAAを生産する *Bacillus* sp. DK-39株のLTDの選択的不活性化は困難であったので、NTG変異処理によりLTD欠損変異株を誘導した。両菌体を凍結乾燥した後、前報に従いアクリルアミドでそれぞれを包括固定化し、グルタルアルデヒドで硬化処理した。両固定化菌体を充填したカラムを直列に接続し、先に考案したカラム型減圧蒸留反応装置を用いて合成スレオニン (異性体混合) 基質の不斉分解反応を行った。生成するアセトアルデヒドを留去しながら反応を行うことにより、L-スレオニン以外の異性体の分解反応は効率的に進行した。反応終了後、イオン交換カラムによりスレオニンとグリシンの分離を行い、残存L-スレオニンと生成グリシンの結晶を高収率で得た。

Enzymatic production of L-threonine (4) Stereospecific resolution by immobilized binary aldolases.
Masahisa Ikemi, ○Tadashi Morikawa, Masaaki Kato, Teruzo Miyoshi (Research Center, Denki Kagaku Kogyo Co., Ltd.) Sakayu Shimizu, Hideaki Yamada (Dept of Agricultural Chemistry, Kyoto Univ).