

621

酵素法によるL-スレオニンの生産(2)―菌体を用いた蒸留反応による光学分割
(電気化学・総研) 池見昌久・守川忠志・[○]佐山尚子・加藤正明・三好照三
(京 大・農化) 清水 昌・山田秀明

1. 目的 我々は、異性体の酵素的分解法と化学合成法を組み合わせた新しいL-スレオニン合成法を開発し、精製酵素を用いた基本反応プロセスについて既に報告した。この方法は、不斉選択性の低い化学合成法で副生する立体異性体をD-スレオニンアルドラーゼ(DTA)及びL-アロスレオニンアルドラーゼ(LAA)で分解して、反応液からのL-スレオニンの単離を可能にするとともに、分解産物であるグリシンとアセトアルデヒドを化学合成ヘリサイクルして収率および選択性を向上させるものである。今回は、D体を分解する酵素であるDTAによるDL分割反応について、生産菌である*Arthrobacter* sp. DK-38を用いた菌体反応の可能性を検討した。

2. 方法および結果 DK-38株はDTAとともに高活性のL-スレオニンデアミナーゼ(LTD)を生産し、そのまま反応に用いるとL-スレオニンを蓄積しない。LTDの選択的不活性化法を検討したところ、DTAの熱安定化に寄与する Co^{2+} イオンの存在下pH5で熱処理することによりLTD活性をほぼ完全に除去することができた(アルドラーゼ活性収率: 88.5%; α -ケト酪酸に対するグリシンの生成比: 約5.8)。基質としてDL-スレオニン、PLP、 Mn^{2+} を含むリン酸緩衝液に熱処理菌体を作用させ、減圧蒸留型酵素反応装置を用いて減圧下に生成アセトアルデヒドを留去しながら48時間反応を行った。各成分の収率は、L-スレオニン、グリシン、アセトアルデヒドについてそれぞれ80.0%、95.2%、81.2%であった。また、反応液より得たスレオニンの結晶は、純度99%以上で、比旋光度はAuthenticな値と完全に一致した。

Enzymatic Production of L-Threonine (2)--Optical Resolution by Cellular Reaction in the Distilling Reactor.
Masahisa Ikemi, Tadashi Morikawa, [○]Naoko Sayama, Masaaki Kato, and Teruzo Miyoshi (Denki Kagaku Kogyo Co., Ltd.)
Sakayu Shimizu and Hideaki Yamada (Department of Agricultural Chemistry, Kyoto University)

622

酵素法によるL-スレオニンの生産(3)―固定化アルドラーゼによる光学分割
(電気化学・総研) 池見昌久・[○]守川忠志・佐山尚子・加藤正明・三好照三
(京 大・農化) 清水 昌・山田秀明

1. 目的 我々は、化学合成法とスレオニンア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-スレオニン合成法を開発した。この方法では、生成するアセトアルデヒドを留去しながら酵素反応を行う減圧蒸留型酵素反応装置により、反応を効率的に進行させ得ることを実証した。しかし、この反応に菌体をそのまま用いた場合には、反応中に溶菌が生起するために、菌体の除去、回収・再利用の点で問題がある。これらの問題を解決する方法の一つとして菌体の固定化による反応の連続化を試みた。今回は、D体を分解する酵素であるD-スレオニンアルドラーゼの生産菌*Arthrobacter* sp. DK-38を固定化の対象として選択し、カラム型蒸留反応によるDL分割工程について検討した。

2. 方法及び結果 D-スレオニンアルドラーゼ生産菌*Arthrobacter* sp. DK-38の培養及び熱処理による菌体中のL-スレオニンデアミナーゼ活性の除去は前報に従って行った。菌体の固定化はアクリルアミド包括法によって行った。熱処理したDK-38の凍結乾燥菌体を包括したゲルを2mm角に機械的に細断後、ヘキサメチレンジアミンとグルタルアルデヒドで硬化処理した(ゲル内菌体濃度: 12%、比活性: 0.62 U/g、活性回収率: 43.7%)。ベンチスケールの減圧蒸留型カラム反応装置を試作し、固定化菌体10kgを大型カラム(13L、74cm)に充填し、38Lの反応槽で減圧反応を行った。DL-スレオニン、PLP、 Mn^{2+} を含む基質溶液を用いて1400時間に渡る繰り返し反応を行い、良好な反応結果を得た。固定化アルドラーゼの活性半減期は1470時間に達した。

Enzymatic Production of L-Threonine (3)--Optical Resolution Using Immobilized Aldolase.
Masahisa Ikemi, [○]Tadashi Morikawa, Naoko Sayama, Masaaki Kato, and Teruzo Miyoshi (Denki Kagaku Kogyo Co., Ltd.)
Sakayu Shimizu and Hideaki Yamada (Department of Agricultural Chemistry, Kyoto University)