

2A16-3 β - アミノ酸アミノアシラーゼ生産微生物のスクリーニングと (S)- β -Phe の生産

○黒川 祥央¹, 小山幸太郎¹, 渡部乙比古², 中沢 正和², 井澤 邦輔², 川崎 寿¹, 中松 亘¹
(¹東電大院・工・物質工, ²味の素アミノサイエンス研)

[目的] β -アミノ酸は医薬品等の合成原料としての有用性が注目されている。本研究では、3-amino-3-phenylpropionic acid (β -Phe : β -phenylalanine) の製法開発を目的とし、*N*-acetyl- β -phenylalanine ((*R,S*)-*N*-Ac- β -Phe) の*N*-アセチル基を光学選択的に加水分解し(*S*)- β -Pheを生産する微生物を取得すべくスクリーニングを行なった。
[方法及び結果] 関東周辺の土壌80サンプルから (*R,S*)-*N*-Ac- β -Phe を単一C源として生育する微生物をスクリーニングし、3株の微生物を取得した。3株の中から (*R,S*)-*N*-Ac- β -Pheを単一C源とする培地中で生育させ、TLC分析の結果 β -Phe 生成が最も高かった菌株を選択した。本菌株を培養し、得られた菌体を用いて酵素反応を行なったところ、(*S*)-*N*-Ac- β -Phe を基質としたときのみ(*S*)- β -Pheが得られ、(*R*)-*N*-Ac- β -Pheを基質としたときには反応が認められなかった。本菌株は rRNA の解析結果より、*Burkholderia* sp.と同定された。

Screening of a β -amino acid aminoacylase producing microorganisms and the production of (S)- β -Phe

○Sachio KUROKAWA¹, Kotaro KOYAMA¹, Kunihiro WATANABE², Masakazu NAKAZAWA², Kunisuke IZAWA², Hisashi KAWASAKI³, Tsuyoshi NAKAMATSU¹
(¹Dept. Mat. Sci. Eng., Grad. Sch. Eng., Tokyo Denki Univ., ²Ajinomoto AminoScience Lab.)

Key words β -phenylalanine, aminoacylase, *Burkholderia* sp.

2A16-4 β - アミノ酸アミノアシラーゼ生産微生物のスクリーニングと (R)- β -Phe の生産

○小山幸太郎¹, 黒川 祥央¹, 渡部乙比古², 中沢 正和², 井澤 邦輔², 川崎 寿¹, 中松 亘¹
(¹東電大院・工・物質工, ²味の素アミノサイエンス研)

[目的] β -アミノ酸は医薬品等の合成原料としての有用性が注目されている。本研究では、3-amino-3-phenylpropionic acid (β -Phe : β -phenylalanine) の製法開発を目的とし、*N*-acetyl- β -phenylalanine ((*R,S*)-*N*-Ac- β -Phe) の*N*-アセチル基を光学選択的に加水分解し(*R*)- β -Pheを生産する微生物を取得すべくスクリーニングを行なった。
[方法及び結果] 関東周辺の土壌120サンプルから (*R,S*)-*N*-Ac- β -Phe を単一C源として生育する微生物をスクリーニングし、5株の微生物を取得した。これらの菌株を *N*-Ac-(*R,S*)- β -Phe を単一C源とする培地で生育させ、TLC分析の結果 β -Phe 生成が最も高かった菌株を選択した。本菌株の菌体を超音波破碎しその上清を用いて酵素反応を行なったところ、(*R*)-*N*-Ac- β -Pheを基質としたときのみ(*R*)- β -Pheが得られ、(*S*)-*N*-Ac- β -Pheを基質としたときには反応が認められなかった。本菌株は rRNA の解析結果より、*Variovorax* sp.と同定された。

Screening of a β -amino acid aminoacylase producing microorganisms and the production of (R)- β -Phe

○Kotaro KOYAMA¹, Sachio KUROKAWA¹, Kunihiro WATANABE², Masakazu NAKAZAWA², Kunisuke IZAWA², Hisashi KAWASAKI³, Tsuyoshi NAKAMATSU³
(¹Dept. Mat. Sci. Eng., Grad. Sch. Eng., Tokyo Denki Univ., ²Ajinomoto AminoScience Lab., ³Dept. Mat. Sci. Eng., Grad. Sch. Eng., Tokyo Denki Univ.)

Key words β -phenylalanine, aminoacylase, *Variovorax* sp.

3A09-1 *Pseudomonas putida* IF-3 由来のプロモペルオキシダーゼが触媒するエポキシ化反応：ホスホマイシンの合成

伊藤 伸哉, ○齊藤 香織, 河南 崇典, 牧野 祥嗣
(富山県大工・生工研セ)

【目的】*Pseudomonas putida* IF-3 のプロモペルオキシダーゼ (BPO) は、各種化合物の臭素化を触媒するだけでなくエステラーゼやスルフィド等の酸化活性も有している多機能酵素である^{1,2)}。本酵素を用いるエポキシ化反応を探索した結果、過酸化水素存在下で*cis*-プロペニルホスホン酸(CPP)を直接エポキシ化し、ホスホマイシン (FOM) を生成することが明らかになった。これは、以前予測していたハロヒドリンを経由する合成経路とは異なるものであった³⁾。そこで、我々はBPOを用いたCPPからFOMの変換反応について検討した。

【方法及び結果】組換え*E. coli* (pUBP)¹⁾より精製したBPOを用いてCPPのエポキシ化反応条件を検討し、Co²⁺イオンの添加が反応に必要不可欠であることが明らかになった。また同反応においてFOMの生成が確認できたものの、同時にBPOの急激な失活が認められた。そこで、BPOをカタラーゼ欠損大腸菌UM2株で発現させ、*E. coli* UM2 (pUBP)を用いた静止菌体反応を試みた。過酸化水素を逐次添加しながらCPPのFOMへの変換を行った結果、約50mM程度のFOMの合成に成功した。

1) N.Itoh et al. (2001) *Biochem. Biophys. Acta*, **1545**:53-66

2) T.Kawanami et al. (2002) *Arch. Biochem. Biophys.*, **398**:94-100

3) N.Itoh et al. (1995) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **43**:394-401

Epoxidation reaction of bromoperoxidase (BPO) from *Pseudomonas putida* IF-3 : Synthesis of fosfomycin

Nobuya ITOH, ○Kaori SAITO, Takafumi KAWANAMI, Yoshihide MAKINO
(Biotech. Res. Center, Toyama Pref. Univ.)

Key words epoxidation, bromoperoxidase, *Pseudomonas putida*, fosfomycin

3A09-2 リパーゼを用いたステロールとの選択的エステル化による共役リノール酸異性体の分画

○内海 貴之¹, 永尾 寿浩², 山内(佐藤)良枝³, 山本 隆也³, 小林 敬², 岸本 憲明¹, 藤田藤樹夫¹, 島田 裕司²
(¹近畿大・農, ²大阪市工研, ³リノール油脂(株))

【目的】サフラワー油から工業的に製造されている共役リノール酸(CLA)中には、抗癌作用を保持する*cis*-9,*trans*-11(*c9,t11*)-CLAと、体脂肪低減および血圧降下作用を保持する *trans*-10,*cis*-12(*t10,c12*)-CLA が等量ずつ含まれており、両CLA異性体の分画・精製が注目されている。我々は*c9,t11*-CLAを認識しやすい*Candida rugosa* リパーゼに着目し、両CLA異性体をそれぞれ95%以上に高純度化する方法を確立してきた。しかしこの精製プロセスには食品として利用できない工程を含んでいる欠点がある。本研究では、油糧種子に含まれている植物ステロールを用い、食品として利用可能なCLA異性体の分画を検討した。

【方法および結果】*C. rugosa* リパーゼを触媒とし、両CLA異性体を37 wt%ずつ含む脂肪酸混液をステロールでエステル化(エステル化率, 40%)後、蒸留により*c9,t11*-CLAの純度(両CLA異性体の合計に対する割合)が72%のステリルエステル画分と、*t10,c12*-CLAの純度が71%の遊離脂肪酸画分に分画した。さらに同リパーゼを用いたステリルエステル画分の加水分解により、純度89%の*c9,t11*-CLAを得た。また遊離脂肪酸画分は再度選択的エステル化することにより、純度89%の*t10,c12*-CLAを得ることに成功した。

Enzymatic fractionation of conjugated linoleic acid isomers by selective esterification with sterols

○Takayuki UTSUMI¹, Toshihiro NAGAO², Yoshihe YAMAUCHI-SATO³, Takaya YAMAMOTO³, Takashi KOBAYASHI², Noriaki KISHIMOTO¹, Tokio FUJITA¹, Yuji SHIMADA²
(¹Fac. Agric., Kinki Univ., ²Osaka Municipal Technical Res. Inst., ³Rinoru Oil Mills Co. Ltd.)

Key words *Candida rugosa*, conjugated linoleic acid, lipase, sterols