

**3D09-3 生物化学的反応を用いた 1 デオキシ及び 6 デオキシ-D-タガトースの生産**

○吉原 明秀<sup>1</sup>, 原口 智志<sup>1</sup>, 森本 兼司<sup>1</sup>, 高田 悟郎<sup>1</sup>,  
フリート ジョージ<sup>2</sup>, 何森 健<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>香川大希少糖研セ, <sup>2</sup>オックスフォード大学)

われわれは天然に多量に存在する単糖から自然界に微量にしか存在しない希少糖の生産を行っている。今回デオキシ糖に着目し、主に海藻中に存在するL-フコース (6デオキシ-L-ガラクトース) およびその鏡像体であるD-フコース (6デオキシ-D-ガラクトース) を出発原料にしたデオキシ糖の生産に関して検討した。

まずL-フコースおよびD-フコースを出発原料とし、ラネーニッケルを用いた化学的還元法により、それぞれから6デオキシ-L-ガラクトールおよび6デオキシ-D-ガラクトールを得た。次にガラクトールを酸化しD-タガトース生産能を有する *Enterobacter agglomerans* 221e株を用いてそれぞれのデオキシ糖アルコールを基質に洗浄菌体反応を行った。HPLC分析の結果より、本菌は6デオキシ-L-ガラクトールを酸化し1-デオキシ-D-タガトースに転換し、6デオキシ-D-ガラクトールを酸化し6デオキシ-D-タガトースに転換できることがわかった。

本菌株を用いた6デオキシ-L-ガラクトールおよび6デオキシ-D-ガラクトールの酸化した結果より1位、6位のメチル基の存在にかかわらず糖の構造を認識し転換を行うことができ、優先的にD体のタガトースへと転換することがわかった。

**Novel method for biosynthesis of 1-deoxy and 6-deoxy D-tagatose using *Enterobacter agglomerans* strain 221e via L-fucose, 6-deoxy L-galactitol and D-fucose, 6-deoxy D-galactitol**

○AKIHIDE YOSHIHARA<sup>1</sup>, SATOSHI HARAGUCHI<sup>2</sup>,  
KENJI MORIMOTO<sup>2</sup>, GORO TAKATA<sup>2</sup>, GEORGE FLEET<sup>3</sup>,  
KEN IZUMORI<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Rare Sugar Research Center Fac. Agric., Kagawa Univ., <sup>2</sup>Rare Sugar Research Center, Kagawa Univ., <sup>3</sup>Oxford University)

**Key words** rare sugar, 1-deoxy D-tagatose, 6-deoxy D-tagatose

**3D10-2 *Mesorhizobium loti* 由来組み換え L-ラムノースイソメラーゼを用いた L-タロースの生産**

○谷口 絵里子, プーンパーム ワン, 森本 兼司, 高田 悟郎,  
何森 健  
(香川大希少糖研セ)

L-ラムノースイソメラーゼ (L-RhI) は、主にL-ラムノースとL-ラムニュロースの異性化を触媒する酵素であるが、微生物起源によって基質特異性が異なっている。*E. coli*の酵素は基質特異性が狭いが、*Pseudomonas stutzeri*のL-RhIは基質特異性が広く、それを利用してさまざまな希少糖の生産に利用されている。*P. stutzeri*と遺伝的相同性の高い根粒菌 *M. loti*のL-RhIは、*P. stutzeri*と同様に各種の希少糖の異性化を触媒することが明らかとなった。

これまでのL-RhIによる希少糖の生産は、D-ブシコースからD-アロースの生産を中心に研究されD-アロースの大量生産を可能にしている。L-タロースは、現在ほとんど生産されておらず、生産することで今後さらなる研究に利用されることが期待されるため、本研究ではL-タロースの生産を試みることにした。

これまでに根粒菌 *M. loti*を研究対象とし、L-RhIのクローニングと活性発現させることに成功したので、この酵素を生産に用いた。L-ソルボース発酵によって容易に生産できるL-ソルボースを、D-タガトース-3-エピメラーゼを用いエピマー化を行い、L-タガトースを生産した。L-タガトースから *M. loti*由来組み換えL-RhIを用い、L-タロースの生産について検討を行った。L-タロース以外の希少糖の生産についても検討している。

**Production of L-talose using recombinant L-rhamnose isomerase from *Mesorhizobium loti***

○Eriko TANIGUCHI<sup>1</sup>, Wayoon POONPERM<sup>1</sup>, Kenji MORIMOTO<sup>2</sup>,  
Goro TAKATA<sup>1</sup>, Ken IZUMORI<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Rare Sugar Research Center, Kagawa Univ., <sup>2</sup>Rare Sugar Research Center, Kagawa Univ.)

**Key words** rare sugar, l-rhamnose isomerase, *Mesorhizobium loti*

**3D10-1 *Raoultella onrithinolytica* MB426 由来 L-リボースイソメラーゼを用いた各種希少糖の生産条件の検討**

○前田 佑一郎, 森本 兼司, 高田 悟郎, 何森 健  
(香川大希少糖研セ)

*Raoultella onrithinolytica* MB426株(MB426株)が生産するL-リボースイソメラーゼ(L-RI)は、L-リボースとL-リブロース間及び、D-タロースとD-タガトース間、L-アロースとL-ブシコース間などの各希少糖の可逆的異性化反応を触媒することから、これらの希少糖の生産に応用することができると考えられている。L-RI(MB426株)は、精製され、至適pH9.0、至適温度45℃であり、金属要求性がないということが確かめられた。

従来報告されている *Acinetobacter calcoaceticus* DL-28株(DL-28)L-RIはL-リボースのみが誘導剤であり、D-リキソースに生育可能な変異株を獲得することによって大量に酵素を生産できた。しかし、MB426株の場合はD-リキソースに生育可能であり、菌体内にL-RIを誘導生産した。すなわち、DL-28株とMB426株とは酵素の生産に関する性質が全く異なっていることがあきらかとなった。両菌株のL-RIの熱安定性はMB426株が45℃、DL-28株が30℃であることから、MB426株が耐熱性に優れている。

そこで、実際にL-RI(MB426株)を利用してリビトールを出発原料と希少糖であるL-リボースの生産を試みるなど、各種の希少糖生産について検討した。また、DL-28株のL-RIとの比較を行うため、本菌株のL-RIのアミノ酸配列の検討を進めている。

**Studies on the conversion conditions of various rare sugar by L-ribose isomerase from *Raoultella onrithinolytica* MB426**

○Yuichiro MAEDA, Kenji MORIMOTO, Goro TAKATA, Ken Izumori  
(Rare Sugar Research Center, Kagawa Univ.)

**Key words** L-ribose isomerase, rare sugar

**3D10-3 生物・化学的手法による L-ラムノースからの 1-デオキシ D-ブシコースの生産**

○志字 孝之<sup>1</sup>, グラッパリ プシュパキラン<sup>1</sup>,  
ラオ ディベンダ<sup>1</sup>, 森本 兼司<sup>1</sup>, 高田 悟郎<sup>1</sup>,  
フリート ジョージ<sup>2</sup>, 何森 健<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>香川大希少糖研セ, <sup>2</sup>オックスフォード大学)

希少糖 D-ブシコースは動脈硬化防止作用など有用な効果が確認されており、1-デオキシD-ブシコース (1dDPsi) はD-ブシコースの比較物質として興味深い希少糖である。これまでに1dDPsiは化学合成を用いて生産されているが、研究目的の試薬とするにはより多量に生産できる方法が求められる。そこで本研究ではL-ラムノースからの1dDPsiの生産を試みた。

まず、6-デオキシL-ブシコースをL-ラムノースからL-ラムノースイソメラーゼおよびD-タガトース3-エピメラーゼを用いて調製した (日本農芸化学会2007年度大会)。これに高圧条件下でニッケル触媒を用いて水素添加した結果、1-デオキシD-アリトール (6-デオキシL-アリトール) と1-デオキシD-タリトール (6-デオキシL-タリトール) の混合物が得られた。この混合物を基質として *Enterobacter aerogenes* IK7 による菌体反応を行った結果、1-デオキシD-アリトールのみが選択的に1dDPsiへと酸化された。E.A.IK7による両基質総量の減少はほとんど無く、1-デオキシD-アリトールからの1dDPsi生産率は約90%であった。この反応混合物を分離した結果、1dDPsiと1-デオキシD-タリトールをそれぞれ純品として得た。生産物の同定は化学合成した1dDPsiと比較し、両者の<sup>13</sup>C NMRスペクトルおよび旋光度が一致したことにより確認された。

**Novel method for bioproduction of 1-deoxy D-psiucose from L-rhamnose via 6-deoxy L-psiucose and 6-deoxy L-allitol**

○Shiji TAKAYUKI<sup>1</sup>, Pushpakiran GULLAAPALLI<sup>1</sup>, Devendar RAO<sup>1</sup>,  
Kenji MORIMOTO<sup>1</sup>, Goro TAKATA<sup>1</sup>, George FLEET<sup>2</sup>,  
Ken IZUMORI<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Rare Sugar Research Center, Kagawa Univ., <sup>2</sup>Oxford Univ.)

**Key words** 1-deoxy D-psiucose, L-rhamnose, *Enterobacter aerogenes*