2.10.1 産業微生物学講座

構成員：	客員教授	横関 健三
	特定准教授	萩下 大郎
	特定助教	日比 慎
	特定助教	岸野 重信
	博士研究員 (PD)	1 名
	研究員	2 名

A. 研究活動 (2009. 4~2010. 3)

A-1. 研究概要

a) 概要

微生物の有する優れた潜在機能を活用したクリーンな「ものづくり」を目指した研究を行っている。自然界で起きている現象を謙虚に見つめ、新しい現象を探り出すことが大切であり、微生物の有する新しい有用潜在機能を如何に見出すかが重要なポイントである。

b) 新規アルドラーゼの探索とその応用

ものづくりの観点から、炭素-炭素結合による縮合は非常に魅力的な反応であるが、有機合成では極めて困難な反応である。このような背景の下、N-アセチルノイラミン酸の生産プロセスの構築を目指し、炭素-炭素縮合を触媒できる新規のアルドラーゼの探索を進めている。

c) 水酸化アミノ酸合成を触媒する新規酵素の探索と機能解析

植物種子からわずかに抽出される水酸化イソロイシンは抗肥満薬として期待されており、効率的な生産方法の確立が求められている。水酸化イソロイシンは8種類の異性体が存在するため、目的の光学活性のみを不斉合成できる酵素が得られれば、画期的な方法が構築できる。このような背景の下、水酸化イソロイシン生産に関与する種々の酵素の探索を幅広く行っている。

d) 新規機能油脂生産方法の構築

種々の有用な生理活性を有する共役リノール酸の効率的生産方法の構築を目指しており、最初のターゲットとして、リノール酸からの共役リノール酸生産方法を開発した。現在、各反応を担う乳酸菌由来酵素の精製と大量発現系の構築、各酵素の諸性質の解析、酵素を用いた安価な共役リノール酸生産法の構築、さらには多様な脂質生

産法の構築を目指している。

e) 新規微生物酸化酵素の探索とその応用

様々な特徴を有するペルオキシダーゼ、ラッカーゼなどのオキシダーゼ類を微生物界に広く検索するとともに、幅広い化合物の酸化反応を可能にする「ラッカーゼ・メディエーターシステム」の開発を目指し、天然からメディエーターを探索している。

f) ステロイド類の生産に有用な酵素の探索と開発

ステロイドホルモンの供給法としてコレステロールの微生物変換による効率的な生産方法の確立が求められている。ステロール骨格の側鎖の修飾に関与する新規な有用酵素を生産する微生物の探索を進めている。本研究では特にコレステロールから17位の炭素にアセチル基を持つステロイドホルモンの微生物変換法の確立を目指している。

g) デオキシリボヌクレオシドの効率的微生物生産

デオキシリボヌクレオシドは、PCRの普及、アンチセンスDNAやRNAiを応用した遺伝子治療、核酸系抗ウイルス剤を用いた新しい感染症治療技術の発展に伴い、需要の拡大が期待されている。現時点では抽出生産以外に有効な生産法は確立されておらず、将来予想されている需要を満たすことは難しいと考えられる。このような背景の下、微生物機能を利用したデオキシリボヌクレオシド生産プロセスの開発を進めている。

A-2. 研究業績 (国内・国外含む)

a) 成果刊行

著書

・Ogawa, J., N. Horinouchi and S. Shimizu: Retrosynthetic production of 2'-deoxyribonucleoside from glucose, acetaldehyde, and nucleobase through multistep enzyme reactions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* (ed. by C.T. Hou, J.-F. Shaw) CRC Press, p.p. 269-278 2009

・Yatagai, M., T. Hamada, H. Nozaki, S. Kuroda, K. Yokozeki and K. Izawa: Synthesis of Optically Active α -Methyl Amino Acids using Biotransformation as a Key Step. *ACS Symposium Series*, 1009 (Asymmetric Synthesis and Application of α -Amino Acids), American Chemical Society, p.p. 394-406, 2009

原著論文 (査読付)

・Kishino, S., J. Ogawa, K. Yokozeki and S. Shimizu: Microbial production of conjugated fatty acids. *Lipid Technol.*, 21; 177-181, 2009

・Kodera, T., T.S. Smirnov, N. Samsonova, Y.I. Kozlov, R. Koyama, M. Hibi, J. Ogawa, K. Yokozeki, S. Shimizu: Novel L-isoleucine hydrolyzing enzyme,

L-isoleucine dioxygenase from *Bacillus thuringiensis*, produces (2S,3R,4S)-4-hydroxyisoleucine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 390; 506-510, 2009

• Kira, I., Y. Asano and K. Yokozeki: Screening, purification, and identification of the enzyme producing

N-(L- α -L-aspartyl)-L-phenylalanine methyl ester from L-isoasparagine and L-phenylalanine methyl ester. *J. Biosci. Bioeng.* 108; 190-193, 2009

• Ogawa, J., J. Mano, T. Hagishita and S. Shimizu: Enantioselective ester hydrolase from *Sphingobacterium* sp. 238C5 useful for chiral resolution of β -phenylalanine and for its β -peptide synthesis. *J. Mol. Catal., B Enzym.* 60; 138-144, 2009

• Koyanagi, T., T. Katayama, H. Suzuki, A. Onishi, K. Yokozeki and H. Kumagai: Hyperproduction of 3,4-dihydroxyphenyl-L-alanine (L-Dopa) using *Erwinia herbicola* cells carrying a mutant transcriptional regulator TyrR. *Biosci Biotechnol Biochem.* 73; 1221-1223, 2009

• Ando, A., J. Ogawa, S. Sugimoto, S. Kishino, E. Sakuradani, K. Yokozeki and S. Shimizu: Selective production of cis-9, trans-11 isomer of conjugated linoleic acid from trans-vaccenic acid methyl ester by *Delacroixia coronata*. *J. Appl. Microbiol.* 106; 1697-1704, 2009

• Horinouchi, N., T. Kawano, T. Sakai, S. Matsumoto, M. Sasaki, Y. Mikami, J. Ogawa and S. Shimizu: Screening and characterization of a phosphopentomutase useful for enzymatic production of 2'-deoxyribonucleoside. *N. Biotechnol.* 26; 75-82, 2009

• Kishino, S., J. Ogawa, K. Yokozeki and S. Shimizu: Metabolic diversity in biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids by lactic acid bacteria involving conjugated fatty acid production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84; 87-97, 2009

報告書等

• 岸野重信. 学会見聞記 日本農芸化学会大会〈酵素〉基礎から応用まで. *バイオサイエンスとインダストリー* 67; 274-275, 2009

b) 学会発表

- 5th German-Japanese Workshop on Enzyme Technology: 1件
- Engineering Conferences International Enzyme Engineering XX: 1件
- 日本農芸化学会 2010年度大会: 18件

- ・100th AOCs Annual Meeting & Expo : 1 件
- ・The 5th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences : 1 件
- ・The International Health Food Symposium : 1 件
- ・Italy-Japan Symposium : 1 件
- ・第 1 1 回 CLA 懇話会 : 2 件
- ・第 8 回脂質工学研究部会 : 2 件

A-3. 国内における学会活動など

所属学会等 (役割)

- ・横関 健三 : 日本生物工学会 (評議委員)、酵素工学研究会 (名誉会員)

競争的資金等獲得状況

①科学研究費補助金

- ・若手研究 (B) : 日比 慎 : オンデマンド型水酸化アミノ酸生産を目指した新規微生物酵素の包括的スクリーニング

②その他の競争的資金

- ・NEDO 受託研究 : 岸野重信 : 微生物を用いた選択的な機能性脂質生産法の確立

B. 教育活動 (2009. 4~2010. 3)

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目 (担当教員)

- ・学部 : 産業微生物学 (横関)、応用微生物学実験 (萩下・日比・岸野)
- ・大学院 : 産業微生物学特論 (横関)、発酵生理及び醸造学専攻演習 (横関・萩下・日比・岸野)、発酵生理及び醸造学専攻実験 (横関・萩下・日比・岸野)

B-2. 学外における教育活動

学外非常勤講師

- ・横関健三 : 京都学園大学バイオ環境学部 (シリーズ特別講義 B)、創価大学工学部 (バイオテクノロジー産業概論)、岩手大学農学部 (産業微生物学)