

2023 年度年次報告書
環境とバイオテクノロジー
2022 年度採択研究代表者

加藤 俊介

大阪大学 大学院工学研究科
助教

高難度光ラジカル反応を実現する新規生体触媒の進化型開発

研究成果の概要

環境問題の解決や持続可能社会の実現にむけ、酵素や微生物などの「生体触媒」を利用した物質変換は、従来の化学合成プロセスを代替する新たな反応技術として注目を集めている。本研究では、酵素の反応適用範囲を光化学的に拡張することをめざし、光励起によるラジカルカップリング反応を促進する新規生体触媒の開発に着手した。具体的には、FAD/ThDP 依存性酵素の反応機構をベースに、光励起による一電子移動プロセスを組み込むことで、自然界には見られないラジカル的な反応機構を酵素に付与することをめざした。前年度までの研究成果として、種々の FAD/ThDP 依存性酵素をスクリーニングした結果、好熱性放線菌由来の FAD/ThDP 依存性酵素がピルビン酸と 2-ブロモプロピオン酸エチルのラジカルカップリング反応に対して有望な触媒活性を示すことを明らかにした。2023 年度は、本酵素のさらなる触媒活性の向上をめざし、酵素活性中心に対して遺伝子工学的な改変を実施した。特に、2-ブロモプロピオン酸エチルとのドッキングシミュレーションに基づく合理的な変異体設計を実施したところ、目的生成物を 87%の高収率で与える酵素変異体を獲得することに成功した。さらに、本酵素変異体を用いて、光照射下でのピルビン酸と *N*-アシロキシフタルイミドとのカップリング反応を実施したところ、目的のアルキルラジカル付加生成物が高収率で得られることが判明した。今後、獲得された高活性な FAD/ThDP 依存性酵素変異体に対して、反応速度論的解析・X 線結晶構造解析・EPR 測定等の詳細な解析を実施し、ラジカルカップリング反応の反応機構に対する知見を得る。また、得られた ThDP/FAD 依存性酵素変異体をホールセル触媒反応系へと応用し、微生物が持つ代謝経路と組み合わせることで、目的化合物をバイオプロセスにより生産することをめざす。

【代表的な原著論文情報】

- 1) S. Kato *et al.* “Evolutionary Engineering of a Cp*Rh(III) Complex-Linked Artificial Metalloenzyme with a Chimeric β -Barrel Protein Scaffold”, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 8285-8290.
- 2) S. Kato *et al.* “Chitin-and Streptavidin-Mediated Affinity Purification Systems: A Screening Platform for Enzyme Discovery”, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202303764.