

微生物の環状アミド代謝を利用した
機能付加型物質生産プロセスの開発

(研究課題番号 1366089)

平成 13 年度～平成 14 年度科学研究費補助金
(基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成 15 年 3 月

研究代表者 小 川 順

(京都大学農学研究科助手)

京 都 大 学 図 書



9810059297

附 属 図 書 館

はしがき

物質生産プロセスの省エネルギー化や環境負荷の低減を目指し、生物反応を物質生産プロセスへ導入する試みがなされている。様々な生産プロセスが設計されるなか、生物反応においても既成の枠を超えた新規な物質変換系の発見、さらにはその実用性の評価が強く求められている。本研究ではこれらの社会的要請に応えるべく、申請者が微生物に独自に見いだした新規環状アミド代謝系、すなわち環状ウレイド代謝系および環状イミド代謝系を利用した新規有用物質生産プロセスの開発を目指した。具体的には、①環状イミド代謝系を利用した有用有機酸（ピルビン酸）生産、②環状ウレイド代謝系酵素を利用した α, β -異性アミノ酸の立体選択的生产、③環状イミド代謝系初発酵素イミダーゼによる有用ハーフアミド生産、④環状アミド加水分解酵素を利用した α -メルカプト酸生産を試み、所期の目的を達成したので本報告書を作成した。

研究組織

- 研究代表者 小川 順 (京都大学・農学研究科・助手)
研究分担者 片岡道彦 (京都大学・農学研究科・助教授)
研究分担者 清水 昌 (京都大学・農学研究科・教授)

研究経費

平成 13 年度	2,200 千円
平成 14 年度	1,400 千円
計	3,600 千円

研究発表

(1) 学会誌等

1. Ogawa, J., A. Ryono, S-X. Xie, R.M. Vohra, R. Indrati, M. Akamatsu, H. Miyagawa, T. Ueno and S. Shimizu. Separative preparation of the four stereoisomers of β -methylphenylalanine with *N*-carbamoyl amino acid amidohydrolases. *J. Molec. Catal. B: Enzymatic*, 12, 71-75 (2001).
2. Ogawa, J., C-L. Soong, M. Ito and S. Shimizu. Enzymatic production of pyruvate from fumarate: an application of microbial cyclic-imide-transforming pathway. *J. Molec. Catal. B: Enzymatic*, 11, 355-359 (2001).
3. 小川 順、宋 子良、清水 昌：微生物における環状アミド代謝の多様性とその応用 -多様性解明に端を発するバイオプロセスの開発の流れ-. *化学と生物*, 39, 333-339 (2001).
4. Ogawa, J., S. Takeda, S-X. Xie, H. Hatanaka, T. Ashikari, T. Amachi and S. Shimizu. Purification, characterization and gene cloning of purine nucleosidase from *Ochrobactrum anthropi*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 1783-1787 (2001).
5. Soong, C-L., J. Ogawa and S. Shimizu. Cyclic ureide and imide metabolism in microorganisms producing a D-hydantoinase useful for D-amino acid production. *J. Molec. Catal. B: Enzymatic*, 12, 61-70 (2001).
6. Soong, C-L., J. Ogawa, S. Shimizu: Novel amidohydrolytic reactions in oxidative pyrimidine metabolism: Analysis of the barbiturase reaction and discovery of a novel enzyme, ureidomalonase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 286, 222-226 (2001)
7. Ogawa, J., and S. Shimizu. Industrial microbial enzymes: their discovery by screening and use in large-scale production of useful chemicals in Japan. *Curr. Opinion Biotechnol.*, 13, 367-375 (2002).
8. Soong, C. L., J. Ogawa, E. Sakuradani and S. Shimizu. Barbiturase, a novel zinc-containing amidohydrolase involved in oxidative pyrimidine metabolism. *J. Biol. Chem.*, 277 (9), 7051-7058 (2002).

(2) 学会発表

国際学会

1. J. Ogawa, W. Tu, C.-L. Soong, M. Ito, T. Segawa, S. Shimizu: Pyruvate production through microbial cyclic imide transformation. 4th International Symposium on Green Chemistry in China, Jinan, China, 291 (2001 May 21)

国内学会

1. 小川 順、塗 維浩、宋 子良、清水 昌: フマル酸からのピルビン酸生産に有用な環状イミド資化性菌変異株の取得. 平成 13 年度日本生物工学会大会、甲府、2001 年 9 月
2. 塗 維浩、小川 順、好本順彦、櫻谷英治、清水 昌: 光学活性 α -メルカプト酸の生産に有用な 5-置換チアゾリジンジオン加水分解酵素の解析. 日本農芸化学会 2002 年度大会、仙台、2002 年 3 月
3. C.-L. Soong、小川 順、清水 昌: 酸化ピリミジン塩基代謝の初発反応を触媒する uracil/thymine dehydrogenase (UTDH) の解析. 日本農芸化学会 2002 年度大会、仙台、2002 年 3 月
4. 塗 維浩、小川 順、好本順彦、櫻谷英治、清水 昌: 光学活性 α -メルカプト酸の生産に有用な 5-置換チアゾリジンジオン加水分解酵素のクローニングと大腸菌での発現. 平成 14 年度日本生物工学会大会、大阪、2002 年 10 月
5. 塗 維浩、小川 順、穆 曉清、宋 子良、清水 昌: フマル酸からのピルビン酸生産に有用な環状イミド資化性菌の育種. 日本農芸化学会 2003 年度大会、東京、2003 年 3 月

研究成果 別添の通り