

氏 名	やま なか り お 山 中 理 央
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2645 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学位論文題目	Biocatalytic Asymmetric Reduction of Ketones by Photosynthetic Organisms (光合成生物を利用したケトンの不斉還元)
論文調査委員	(主 査) 助教授 中 村 薫 教授 林 民生 教授 時 任 宣 博

論 文 内 容 の 要 旨

生体触媒によるケトンの不斉還元は、光学活性物質の調製法として一般的に用いられている。しかし、生体触媒として用いられているのは、従属栄養型の微生物や植物の培養細胞、及びこれらの生物由来の単離酵素に限られている。生体触媒による還元反応では、生物や酵素が生成する還元物質が必須であり、従属栄養生物は糖などの有機物から還元力を得ている。この従属栄養生物が利用している有機物は、元を辿れば光独立栄養生物（光合成生物）によって合成されたものであり、従属栄養生物は光エネルギーを間接的に利用していることになる。すなわち、生体触媒還元反応における究極のエネルギー源は光である。

申請者は光エネルギーを直接的に利用可能な光合成生物を生体触媒として用いたケトンの不斉還元法の開発を行った。生体触媒として、1) 実験室での培養や生化学実験が容易、2) 全ゲノム情報が解明、3) 遺伝子操作も可能、等の条件を満たす酸素発生型原核光合成生物である単細胞性ラン藻（シアノバクテリア）を選び、ケトンの還元反応の研究を行った。

まず、アリルメチルケトンを経質としてラン藻 *Synechococcus elongatus* (PCC 7942) による還元反応を調べ、それぞれ対応する *S* 体のアルコールへの還元反応が高エナンチオ選択的に進行することを見出した。

次に、ラン藻によるアリルフッ素化メチルケトンの還元反応を調べ、基質として α , α -Difluoroacetophenone 及び α -Monofluoroacetophenone を用いた場合では、エナンチオ選択性が光合成反応に依存して大幅に上昇した。この結果は、ラン藻による生体触媒の還元反応において光が有効な制御因子であることを示した。本反応は、光によるキラル選択性の向上を示した最初の例である。

また、申請者は本反応によるケトン還元反応は他の生体触媒反応に較べて [生体触媒重量]/[基質量] 比が低く、効率の高い反応系であることを見出し、この高効率は光エネルギーを直接的に利用していることが要因と考えられるので、ラン藻によるケトンの還元反応における光の効果を詳細に調べた。その結果、光照射下での還元活性が大幅に増加することが判明した。また、この反応は NADPH 依存であることが補酵素添加実験等から示した。NADPH は光合成電子伝達反応の過程で生成されるので、この反応は光合成に直接依存する反応であると判断出来る。申請者は、ラン藻によるケトンの還元反応における光合成依存度を詳細に検討し、光化学系 II 反応中心の特異的阻害剤である 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea (DCMU) を用いて、光照射下で光合成反応を阻止した場合のケトンの還元反応を解析した。その結果、 α , α -Difluoroacetophenone (DF) の還元において DCMU を添加すると、光照射下でも暗所での反応と同様の還元活性とエナンチオ選択性を示すことを見出し、また、DCMU 添加量に対応して光合成活性が低下するが、光合成活性とケトン還元反応の収率及び不斉収率の間に高い相関性があることを見出した。この結果は、本還元反応が光合成に大きく依存することを強く示している。

本研究の結果は、生体触媒によるケトンの不斉還元において光合成生物の利用は、光エネルギーを直接的かつ高効率に利用する反応システムを構築可能であることを強く示した。

論文審査の結果の要旨

光学活性化合物は医薬品、農薬や食品などの分野で必要性が年々高まっている。生体触媒を用いた不斉合成は生体触媒自身が生分解性に富み、反応条件が穏和なためにグリーンケミストリーの立場から医薬品などの合成に積極的に取り入れることが強く望まれている。とりわけ光学活性2級アルコールは官能基変換が容易で様々な光学活性化合物に誘導できるので、その合成法の開発は重要な課題である。

生体触媒によるケトンの不斉還元は、光学活性2級アルコールの調製法として一般的に用いられている。しかし、これまで、生体触媒として用いられていたのは、従属栄養型の微生物や植物の培養細胞、及びこれらの生物由来の単離酵素に限られていた。申請者は、新しい生体触媒として独立栄養型の光合成生物を用い、ケトンの不斉還元法の開発を行った。申請者が生体触媒として用いた単細胞性ラン藻（シアノバクテリア）は、1）実験室での培養や生化学実験が容易、2）全ゲノム情報が解明、3）遺伝子操作も可能、等の条件を満たす酸素発生型原核光合成生物である。

申請者の開発したラン藻による不斉還元反応はメチルケトンの還元においては非常に高い立体選択性で*S*体のアルコールを合成することが可能であった。また、基質を含フッ素ケトンにすると、反応の立体選択性が光照射下で向上することを見出し、光による不斉還元の立体制御に初めて成功した。

また、本反応は生成物のグラム当たり必要な菌体の量を考えると、他の生体触媒反応に比べ、非常に効率の高い反応であることを見出した。

申請者はこの高い効率が、光を直接利用しているためでは無いかと考え、ラン藻によるケトンの還元反応における光の効果を詳細に調べた。その結果、光照射下での還元活性が大幅に増加することが判明した。また、この反応はNADPH依存であることが補酵素添加実験等から示された。NADPHは光合成電子伝達反応の過程で生成されるので、この反応は光合成に直接依存する反応であると判断し、申請者は、ラン藻によるケトンの還元反応における光合成依存度を詳細に検討した。光化学系II反応中心の特異的阻害剤である3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea (DCMU)を用いて、光照射下で光合成反応を阻止した場合のケトンの還元反応を解析した。その結果、含フッ素ケトンの還元においてDCMUを添加すると、光照射下でも暗所での反応と同様の還元活性とエナンチオ選択性を示すことを見出し、また、DCMU添加量に対応して光合成活性が低下するが、光合成活性とケトン還元反応の収率及び不斉収率の間に高い相関性があることを見出した。この結果は本還元反応が光合成に大きく依存することを強く示している。

本研究の結果は、ケトンの不斉還元において光合成生物を生体触媒とすると、光エネルギーを直接的かつ高効率に利用する反応システムを構築可能であることを強く示し、その業績は高く評価できる。

なお、主論文に報告されている研究業績を中心としてこれに関連した分野について口頭試問を行った結果、合格と認めた。よって、申請者の研究は、博士（理学）の称号に値するものであると認めた。