

FAD/ThDP 依存性酵素によるピルビン酸と α -ブロモエステルのラジカルカップリング反応

(阪大院工) ○藤沢 修斗・加藤 俊介・林 高史

Radical Coupling Reactions between Pyruvate and α -Bromoester Catalyzed by FAD/ThDP-Dependent Enzymes (*Graduate School of Engineering, Osaka University*) ○Shuto Fujisawa, Shunsuke Kato, Takashi Hayashi

With the development of biotechnology, biocatalysis has recently attracted attention as an alternative to conventional chemical catalysis. To expand the catalytic repertoire of enzymes, we here investigated biocatalytic radical coupling reactions between pyruvate and α -bromoesters using an FAD/ThDP-dependent enzyme (Figure 1). It is assumed that the enzyme mediates one-electron oxidation/reduction process between Breslow intermediate and α -bromoester, allowing difficult coupling reaction between two radical species. Based on this hypothesis, we have screened various types of FAD/ThDP-dependent enzymes by genome database. Consequently, acetolactate synthase (ALS) from actinomycetes was found to catalyze the target coupling reaction between pyruvate and α -bromoester. Furthermore, genetic engineering at the ALS active site has led to the improvement in its abiotic catalytic activity.

Keywords : Biocatalysis, FAD/ThDP-dependent enzymes, Acetolactate synthase, Radical reaction

昨今の著しいバイオテクノロジーの発展に伴い、近年、酵素や微生物などの生体触媒を用いた物質変換に注目が集まっている。本研究では、これら生体触媒の反応適用範囲を非天然の化学反応へと拡張することをめざし、FAD/ThDP 依存性酵素を用いたピルビン酸と α -ブロモエステルのラジカルカップリング反応の開発に着手した (Figure 1)。ThDP とピルビン酸の反応により生成する Breslow 中間体と α -ブロモエステルを、酵素内で選択的に一電子酸化・還元することで、ラジカル種同士の挑戦的なカップリング反応が進行することが期待される。種々の FAD/ThDP 依存性酵素をスクリーニングした結果、放線菌由来のアセト乳酸合成酵素 (ALS) が、本反応において触媒活性を示すことが判明した。さらに本研究では、ALS に対して遺伝子工学的な改変を実施することで、その触媒活性が向上したので、あわせて報告する。

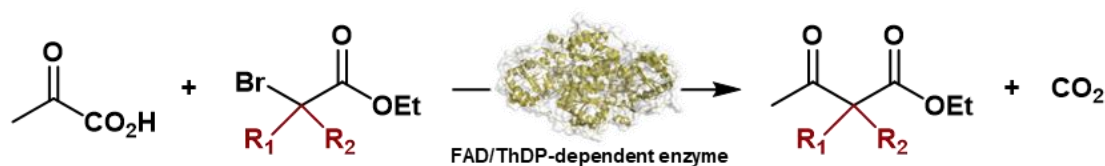


Figure 1. ピルビン酸と α -ブロモエステルのラジカルカップリング反応