

D-ホモセリンの簡便な製造法

微生物を利用したDL-ホモセリンからのD-ホモセリンの光学分割

D-ホモセリンの実用的な生産プロセスを開発するために、微生物の不斉分解を利用してDL-ホモセリンからD-ホモセリンを光学分割することを試みた。土壌から新たに分離した菌株は、5%(w/v)のDL-ホモセリンを含む培地でも良好に増殖し、L-ホモセリンだけを選択的に資化分解した。培養液から回収されたD-ホモセリンの光学純度は99.9% e.e.以上であり、この菌が光学分割を行う際の優れた生体触媒であることが示された。

D-ホモセリン

D-ホモセリンは、アミノ酸の1つである。生体を構成するタンパク質に含まれない非タンパク性のアミノ酸で、D-型の立体配置をとるのが特徴である(図1)。ノカルデシンなどの抗生物質やシリノグスタチンといった抗菌物質を構成するアミノ酸であり、サイトメガロウイルスのプロテアーゼをはじめとするセリンプロテアーゼに対する特異的阻害剤の創製にも、主要な構成要素として用いられている。このように、D-ホモセリンは製薬原料として期待されているが、安価で簡便な製造法は確立されていない。不斉合成法がいくつか報告されているが、それらは実験室レベルのものであり、実用的な生産には適していない。そのため、D-ホモセリンは、非常に高価なものとなっており、用途開発も制限されている。

バイオ技術によるD-ホモセリンの製造法

バイオ技術によるアミノ酸の製造法としては、まず発酵法がある。実用化の実績はないが、L-ホモセリン発酵は報告されている。しかし、D-ホモセリンは、D-型アミノ酸であるため、発酵法による製造は期待できない。これに対して、ラセミ体のDL-ホモセリンラク톤は化学合成によって安価で得られ、これはDL-ホモセリンに容易に開環する。DL-ホモセリンからL-体を簡単に除くことができれば、D-ホモセリンを安価で簡便に得ることができる。この点に着目して、微生物を利用してDL-ホモセリンからD-ホモセリンを光学分割する方法の開発に着手した。

微生物の不斉分解能を利用した光学分割の歴史は古く、パスツールまでさかのぼる。しかし、光学分割法は現在でも有用な方法である。この場合、ラ

望月 一哉 もちづき かずや
mochizuki-kazuya@aist.go.jp
生物機能工学研究部門
酵素開発研究グループ 主任研究員
(つくばセンター)

入所以来、一貫して新たな微生物機能およびそれを裏打ちする酵素の探索に取り組んでいる。特に代謝マップに記載されていない新規酵素の発見を目指している。ゲノム科学全盛の今日にあっても、そのすそ野を広げる意味でも、探索は有意義と考える。探索した新たな機能が、新たな産業プロセスの創出に繋がるよう考えていきたい。

1986年工業技術院微生物工業技術研究所入所、2001年組織改編により産業技術総合研究所生物遺伝子資源研究部門、2002年組織改編により生物機能工学研究部門所属となる。

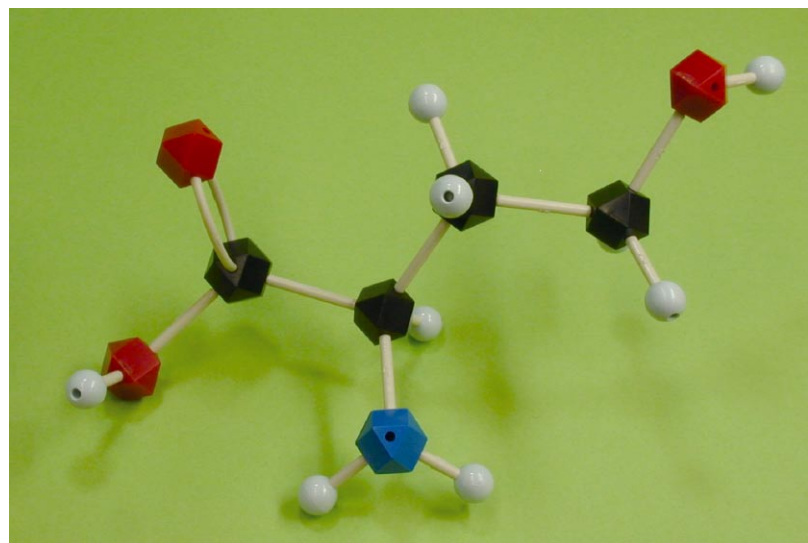


図1 D-ホモセリンの分子模型

黒は炭素、青は窒素、赤は酸素、水色の球は水素原子を表す。

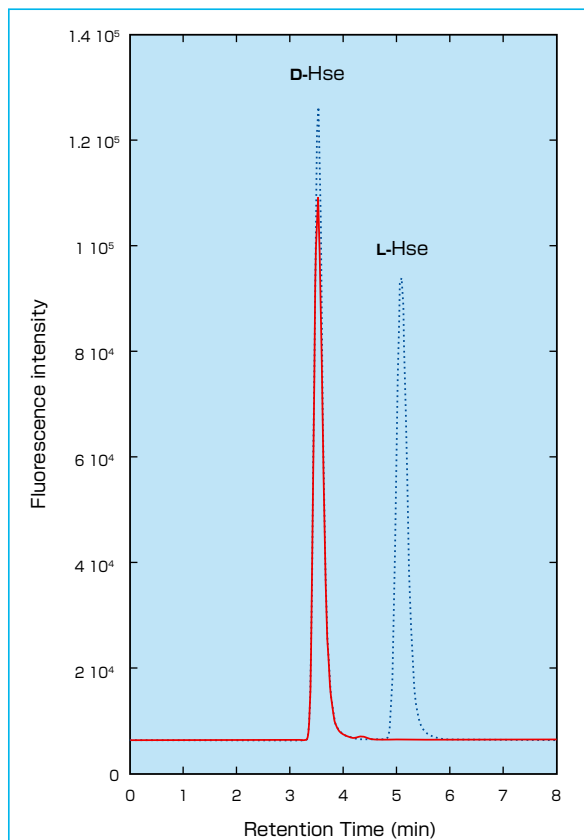


図2 (左) 培養液から回収したD-ホモセリンを光学分割 HPLC で分析した結果
青の点線は DL-ホモセリンの標準品、赤の実線は培養液から回収したD-ホモセリンのクロマトグラムを示す。

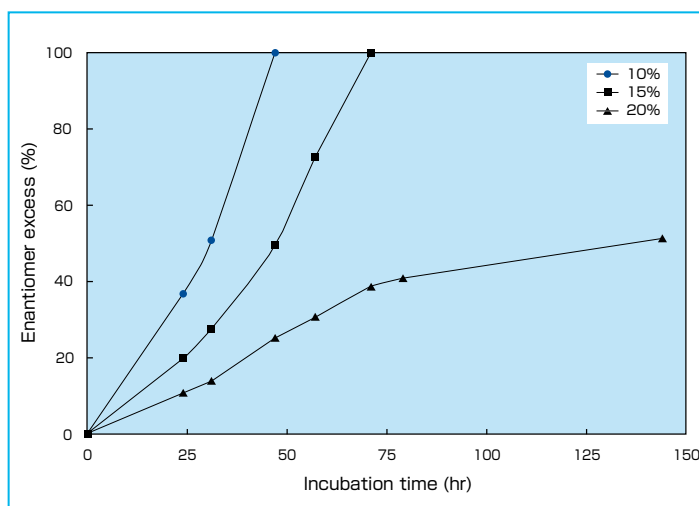


図3 (上) 休止菌体による光学分割のタイムコース
反応液中に残存しているD-ホモセリンの鏡像体過剰率が、反応時間に対してプロットされている。

セミ体、DL-ホモセリンの中の不要な鏡像体すなわちL-ホモセリンを選択的かつ効率的に分解する微生物を手に入れることがキーポイントになる。このような微生物を土壌に求め、探索を行った。まず、ホモセリンの資化性菌を分離した。次いで、D-体、L-体に対する選択性を検定し、L-体だけを選択的に資化する分離株を選択した。その後、基質であるDL-ホモセリンの濃度を順次高め、5%の濃度でも良好に生育し、さらにL-体だけを厳密に資化分解する分離株2-3株を得た。この菌は、菌学的な性質により、*Arthrobacter nicotinovorans* に属する細菌と同定された。

5%濃度のDL-ホモセリンラクトンを

アルカリ処理によりホモセリンに開環し、塩類を補って培地とした。これに、2-3株を接種し、30℃で培養した。培養を始めて50時間目には、L-体は検出限界以下になった。そして培養液の上清から、イオン交換法その他によりD-体を回収した。回収したD-ホモセリンの光学純度は、99.9% e.e.以上であり(図2)、この方法の有効性が示された。

さらに、2-3株の休止菌体による光学分割を検討した。10、15、20%の濃度のDL-ホモセリンラクトンをアルカリ処理によりホモセリンに開環し、リン酸緩衝液を補った反応液に、肉汁培地で培養した2-3株の菌体を加えて攪拌した。図3に示す通り、15%の基質濃度でも完全な光学分割が確認された。

今後の展開

この研究は、まだ光学分割を進める触媒を開発した段階である。今後、実用化を進めるにあたっては、生産現場を想定した培養工学的および化学工学的な検討によるスケールアップが不可欠である。今回開発した方法は、新たに分離した微生物がキーポイントであり、特別な生産設備を必要としない。発酵や培養を扱うことができる生産現場であれば、設備を転用できる。このような観点から、技術移転は容易であると考えられる。

関連情報：

- 特願 2006-321357 光学活性なD-ホモセリン及びD-ホモセリンラクトンの製造法 望月一哉
- プレス発表 2007年1月30日：「高純度D-ホモセリンの簡便な製造法」