有機合成への酵素の利用

広瀬 芳彦
Yoshihiko Hirose

キーワード：酵素合成，リパーゼ，溶媒効果，部位特異的変異

企業での研究テーマを進める中で我々の目指している夢は、物質変換のための酵素，特に光学活性体の製造のために、効率的な触媒となる新規酵素を提供し、世の中で広く使用して頂くことである。酵素メーカーに所属していることから持ち続けているテーマである。入社間もない頃、山田秀明先生(京都大学名誉教授)のご講演の中で、微生物にとって全く縁のない化合物が、いとも簡単に目的とする物質に変わってしまうマジックを聞き、なんとすばらしいことだという印象を持ったことを今でも鮮明に覚えている。また、酵素という大きな分子の性質を簡単に変えてしまう遺伝子工学技術の進歩をみると、21世紀に突入した今、どんな複雑な化合物までも目的とする形に変換できるようなスーパー酵素が作成されるであろうと想像するだけで楽しくなり、ますます夢が広がってくる。

さて、現実的に、酵素を有機化学の場で使用してみると、なかなか一筋縄では行かないのも事実である。酵素に影響を与えるファクターが多く、反応条件を考える上でたいへん複雑なものとなっている。まず、基質となる有機化合物は、一般に水に溶けにくいので、酵素反応の場を有機溶媒中、もしくは、有機溶媒と緩衝液の2相系で行うことが多い。また、酵素反応には、適量の水分含量が必須もしくは必要であることなどから、基本的には

個々の酵素反応において最適条件を探索・確立する必要がある。そのことが、別種の化合物を基質とする反応への応用を考えると、障害ともなっている。結局のところ、特定の基質で特殊な条件下で行う酵素反応に、これまでにない興味ある現象が見られるということになってしまう。

「酵素反応における立体選択性の予測は、現時点で困難と言わざるを得ない」が、特定の条件下とはいえ、予期せぬ結果が得られる時は、研究者の大きな喜びであり、次の新しい発見につながるきっかけともなる。

我々も、これまでに大変興味ある2つの酵素反応を観察している。

1) 有機溶媒による立体選択性の変化(スキーム1)

スキーム1に示すように、同一酵素でありながら、反応溶媒としてイソプロピルエーテル中で行う場合とシクロヘキサン中で行う場合で、得られる光学活性体の立体化学が全く逆転するというものである。シクロヘキサンが酵素内の反応場に取り込まれ、これが原因の1つではないかと次の実験事実から示唆されている。酵素をあらかじめ、シクロヘキサン中に浸し、一夜真空乾燥した後、イソプロピルエーテル中で反応を行うと、得られる光学活性体の純度は45% eeまで低下していた。

Scheme 1 Complete inversion of enantioselectivity by solvent effect.

2) 部位特異的変異による立体選択性の変化(スキーム2)

リパーゼPSと、異なる株から単離されたホモロジーの高い酵素からの知見を基に、構成するアミノ酸の3カ

所を同時に置換した変異体において、元の酵素と全く対照的な立体選択性を示す変異体を得ることができた。部位特異的変異による立体選択性が逆転した初めての例であった。変異させたアミノ酸の位置を元のリパーゼのX

線データから類推すると、2カ所は活性部位の近傍にあり、もう1カ所は遠く離れた部位に存在していた。

ここに示した酵素反応で得られた2つの現象は、大変興味あるものであった。しかし、「なぜこのようなのか」「どのようなメカニズムが考えられるのか」「どこを変えればさらにどうできるのか」という疑問には、いまのところ答えられないのが実状である。我々の次なる目的は、このような酵素反応のメカニズムを解明し、一

般性を論じることにある。

有機合成の分野に広く酵素を利用していただくためにも、酵素反応の1つ1つが一般性を持ったものになって行かなければならないと考えている。近い将来、「目的とする光学活性体を得るにはこの酵素を使用できる」「この酵素をこのように作り変えれば、うまくいきます」といった提言ができる時期がくることを楽しみに現実の課題に取り組んでいる。

Scheme 2 Complete inversion of enantioselectivity by site-directed mutagenesis.

文 献

- 1) 中村薫, 広瀬芳彦, 有合化, 53, 668 (1995)
- 2) Y. Hirose, K. Kariya, I. Sasaki, Y. Kurono, H. Ebiike, K. Achiwa, *Tetrahedron Lett.*, 33, 7157 (1992)
- 3) Y. Hirose, K. Kariya, Y. Nakanishi, Y. Kurono, K. Achiwa, *Tetrahedron Lett.*, 36, 1063 (1995)
- 4) 広瀬芳彦, ファルマシア, 32, 1075 (1996)
- 5) 広瀬芳彦, キラルテクノロジーの工業化, シーエムシー, 1998, p 45

(2001年1月31日受理)

PROFILE

広瀬芳彦 天野エンザイム(株)岐阜研究所マーケティング本部医薬事業部合成用酵素チームリーダー

【経歴】1980年岐阜薬科大学大学院修士課程修了, 同年天野製薬(株)入社, 1994年同社主任研究員, 1995年薬学博士(静岡県立大学), 1997年より現職。【専門】酵素を用いる有機合成, 新規酵素の探索。【連絡先】

e-mail: [REDACTED]