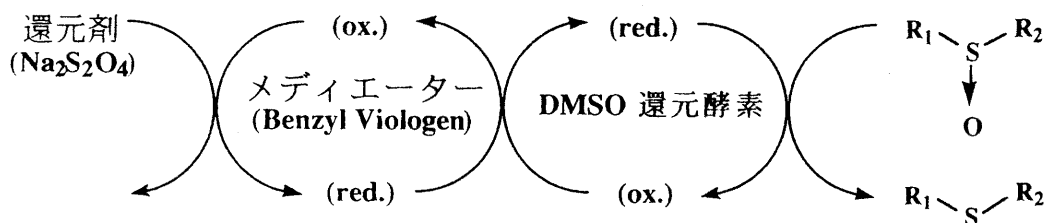


論文審査の結果の要旨

申請者氏名 安 保 充

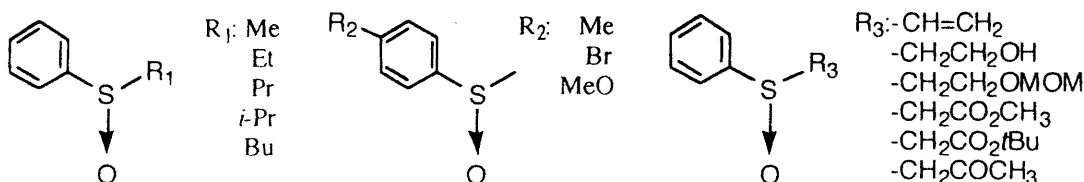
本論文は、脱窒光合成細菌 *R. sphaeroides* の生産する DMSO (ジメチルスルホキシド) 還元酵素の反応に関するもので、酵素の基質特異性、鏡像選択性について基礎的な検討を行うと同時に、本酵素を利用し、不斉有機合成で用いられる光学活性スルホキシド調製への応用、スルホキシドセンサーへの応用を行ったもので6章よりなる。

1章では、DMSO還元酵素の諸性質について記述した。この酵素は、*R. sphaeroides* が DMSO 存在下、嫌気明条件で DMSO 呼吸を行う際に誘導合成される酵素で、DMSO を DMS (ジメチルスルフィド) に還元する反応を触媒する。本酵素は、幾つかの人工メディエーターから電子を受け取り、還元反応を触媒することができるので、この *in vitro* の系を用いて、各種スルホキシドとの反応性を調べた。



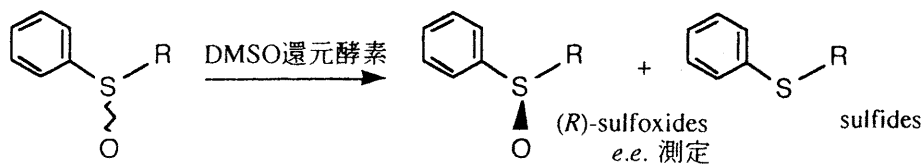
In vitro での DMSO 還元酵素の反応系

2章では、DMSO還元酵素の基質特異性を調べた。各種アルキルアリールスルホキシドを合成し、その反応性を調べた。その結果、本酵素が極めて広い基質特異性を有することが明らかになった。具体的には 1) アルキルアリールスルホキシドのアルキル部分が小さな置換基では、DMSO よりも反応速度が速くなること、2) 反応速度は、電子的要因よりも立体的要因が強く影響し、アルキル部分がかさ高くなるにつれ、反応速度が遅くなること、3) スルホキシドの2つの置換基が共に大きなジフェニルスルホキシドや *t*-ブチルフェニルスルホキシドは、本酵素の基質とならないこと、4) スルホキシド以外の官能基を変化させることなく、そのスルホキシド部分のみを還元することが示された。



DMSO 還元酵素の基質

3章では、DMSO還元酵素の鏡像選択性を調べ、DMSO還元酵素がスルホキシドの不斉を認識することを、初めて明らかにした。すなわち、ラセミ体のアルキルアリアルスルホキシドに対し、本酵素は(S)-体を優先的に還元することがわかった。



DMSO還元酵素のラセミ体スルホキシドとの反応スキーム

回収スルホキシドの鏡像体純度は、スルホキシドの α -位に芳香環があるもので $>99\%$ *e.e.*と極めて高く、芳香環はベンゼン環だけでなく、ピリジン環、ナフタレン環であっても、その鏡像体純度は高かった。一方、ベンゼン環がスルホキシドの β -位にくるベンジル基の場合や、シクロヘキサン環のように芳香環でない場合、鏡像体純度の低下が観察された。

4章では、DMSO還元酵素の不斉有機合成への応用について述べた。酵素の極めて高い鏡像選択性を利用して、光学活性な合成原料、あるいは合成中間体であるアルキルアリアルスルホキシドの調製を行った。*R. sphaeroides*の菌体培養液を直接用いる菌体反応では、 $>99\%$ *e.e.*の(*R*)-メチルフェニルスルホキシドをグラムオーダーで調製することに成功した。これは、酵素を利用した速度論的分割による光学活性スルホキシド調製として初めての例である。さらに、反応速度の遅い基質では、菌体反応の最適化をはかり、菌体反応の応用の可能性について検討した。

5章では、電極を利用した電気化学的酵素反応システムに関する応用研究を行った。DMSO還元酵素を用いた光学活性スルホキシド調製リアクターとして、3電極のバッチ型システムを構築し、メディエーター、酵素は、いずれも遊離の系で反応を行った。その結果、数10mgのオーダーで、光学活性スルホキシドの調製に成功した。この反応系では、菌体反応でうまく調製できなかった基質についても、その(*R*)-体を鏡像体純度よく調製することができた。また、スルホキシドセンサーへの応用も行った。BSA-グルタルアルデヒド架橋化法により、酵素を電極に固定化し、スルホキシドセンサーを作製した。検出濃度範囲 $100\mu\text{M}\sim 7\text{mM}$ 、応答時間は約1分のセンサーであった。これを用いた実サンプルへの応用を検討した。

6章では総括を行った。

以上、本論文は、脱窒光合成細菌のDMSO還元酵素の基礎的性質の解明と、その応用に新たな知見と進展を与えたもので、審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。