

## 微生物より大量生産される 2-deoxy-*scyllo*-inosose を原料とした カルバ糖の系統的合成法の開発に向けて

宮 崎 達 雄  
(新潟薬科大学応用生命科学部)

### An Approach for Systematic Synthesis of Carbasugars from 2-Deoxy-*scyllo*-Inosose Produced by the Bioconversion Using *E. coli*

Tatsuo Miyazaki

#### 1. はじめに

これまでの石油に代表される化石資源を原料とした化学工業の物質生産技術は、我々の生活に多くの利便性をもたらしてきた。しかしながらこの従来の化石資源から各種化学製品を製造する化学工業プロセスは、資源の枯渇、化石燃料消費による地球環境汚染、特に大量に排出される二酸化炭素による地球温暖化など多くの問題を抱えている。2010 年 12 月にメキシコにて開催された第 16 回気候変動枠組条約締約国会議(COP16)に象徴されるように、今後はこれまでの化石資源に依存した産業・社会構造から脱却し、持続可能な社会を構築することが必須である。なかでも日本は 2020 年までに 90 年比で 25 %の温室効果ガス削減を表明しており、これらの目標達成に向けて様々な基盤・実用化研究を活発に推進する必要がある。このような化学工業プロセスの問題を解決する手段として注目を集めているのが、再生可能な農産物資源(バイオマス)を用いた環境調和型の循環産業システムによる物質生産技術(バイオリファイナリー)である。

最近 2 つの研究グループが微生物による物質変換技術を利用し、バイオマスから容易に供給可能な D-グルコースを原料に化学工業原料である芳香族化合物のカテコールを合成することに成功している。初めの報告例は、1995 年に Frost らにより確立された手法であり、芳香族アミノ酸の生合成に関わるシキミ酸代謝系酵素の遺伝子を大腸菌に組み込み、D-グルコースから 3-デヒドロシキミ酸を経由し、カテコールへと変換している<sup>1)</sup>。一方、東京工業大学の柿沼らは 2-デオキシ-*scyllo*-イノソース合成酵素(DOI 合成酵素)を利用するカテコール合成法を報告している<sup>2)</sup>。この酵素は D-グルコース-6-リン酸を原料に Figure 1 に示した多段階反応を触媒し、シクロヘキサノン骨格を有する 2-デオキシ-*scyllo*-イノソース(DOI)を生成する多機

能酵素であり、柿沼らはこの酵素の遺伝子を大腸菌に組み込み、D-グルコースから DOI を生産している(生産効率 約 1%)<sup>3)</sup>。その後、ヨウ化水素酸により DOI を還元的脱離させてカテコールへと変換する手法を確立している。これらの糖質から芳香族を合成する画期的な 2 つの研究成果によって、バイオマスが石油化学工業品等の新たな資源に利用可能であることが示されたのである。

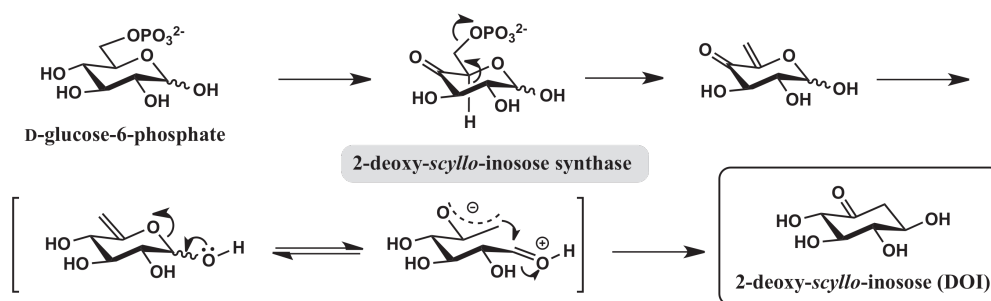


Figure 1. DOI 合成酵素の推定反応機構

日本有数の米所である新潟に所在する本学では、バイオリファイナリーの一環として、前述の柿沼らの手法を基盤として「米ぬかから化学工業原料カテコールを生産する新技術の確立」をテーマに工業化に向けた応用研究に取り組んできた。このプロジェクトの成果として、大腸菌による DOI 生産システムの開発を担当した新潟薬科大学の高久らは、DOI 合成酵素の遺伝子を導入した大腸菌に代謝工学的改変を施して DOI 合成酵素の基質となる D-グルコース-6-リン酸からの副生成物経路を遮断することにより、高効率 DOI 生産大腸菌の構築に成功している。通常、DOI 合成酵素の直接の基質となる D-グルコース-6-リン酸は、解糖系の *pgi* 遺伝子によりコードされているホスホグルコイソメラーゼ、ペントースリン酸経路に向かう *zwf* 遺伝子にコードされているグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、グリコーゲン生合成経路に向かう *pgm* 遺伝子にコードされているホスホグルコムターゼにより、それぞれ D-フルクトース-6-リン酸、D-グルコノ- $\delta$ -ラクトン-6-リン酸、 $\alpha$ -D-グルコース-1-リン酸へ変換される。そこで、遺伝子工学的的手法により上述した三種類の関連経路酵素遺伝子の破壊を行い、D-グルコース-6-リン酸を DOI 合成酵素のみが利用できる三重遺伝子破壊株 ( $\Delta pgi\Delta zwf\Delta pgm$ ) を作製したのである。その結果、野生株と比較して飛躍的に DOI の生産性が上昇し、原料として使用した D-グルコースを基準としてほぼ定量的に DOI を生産する技術を確立した (Figure 2)<sup>4, 5)</sup>。

一方、我々は、この組換え大腸菌より大量生産される DOI を精製する手法の開発と DOI を原料としたファインケミカルへの変換反応を検討してきた。本稿ではその最近の成果について

述べる。前半では、大腸菌培養液中からの簡便な DOI 精製法を検討した結果について述べる。後半は、DOI を鍵原料としたファインケミカルへの変換技術を概説し、その後 DOI を原料としたカルバ糖の系統的合成法について述べる。

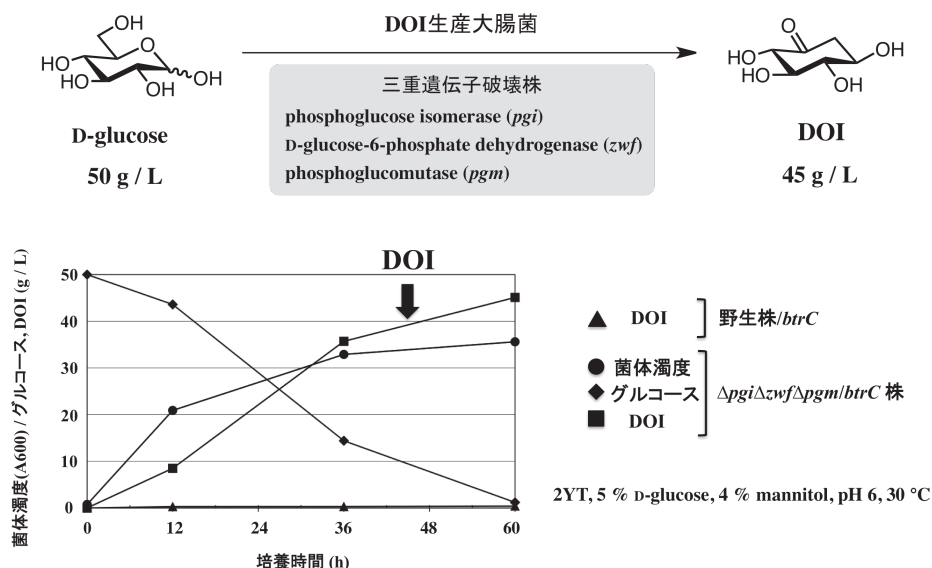


Figure 2. ジャーファメンターを利用した組換え大腸菌による DOI 発酵培養生産

## 2. DOI 生産大腸菌より得られる培養液からの DOI 精製法の開発

本節では、前述の組換え大腸菌による DOI 高生産システムにより驚異的な効率で生産される DOI を培養液から分離・精製する手法について述べる。DOI を得る方法は、現在までにいくつかのグループにより報告されている。微生物による物質生産を利用した方法として、(1) 培養生産したネオマイシンを加水分解して得られる 2-デオキシストレプタミンを酸化的脱アミノ化する手法<sup>6)</sup>、(2) *vibro*-クエルシトールを原料として生物酸化する手法<sup>7)</sup>の2つが挙げられる。しかしながら、これらの報告はアミノグリコシド系抗生物質の生合成ルートを解明することを目的として行われた研究であったため定性的な分析実験であった。一方、化学合成法としては、*myo*-イノシトール、もしくはメチル- $\alpha$ -D-グルコシドを原料とした合成ルートが報告されている<sup>8)</sup>。これらの手法により DOI は単離されているが、最終工程の反応系内における不純物は全て減圧濃縮により除去可能であり、クロマトグラフィー等の特別な精製操作は行われていない。そのため、DOI の精製に関する唯一の報告例は、*myo*-イノシトール、若しくは(-)-*vibro*-クエルシトールを原料とした微生物変換による DOI 製造法のみであった<sup>9)</sup>。その操作は、培養液を強酸性陽イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー (Duolite C-20, H<sup>+</sup>型、住友化学社製)、活性

炭カラムクロマトグラフィー、弱塩基性イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー (Duolite A368S, OH型, 住友化学社製) に通過させ、得られた DOI 溶出画分を減圧下濃縮乾固する方法である。そこで、同手法を前節にて述べた DOI 含有培養液に適用した。しかしながら、高久らの生産プロセスより得られる培養液を用いた場合、若干の DOI が得られるもののその収率は低く、純度も 85 % 程度であった。そこで、本学にて開発した DOI 生産組換え大腸菌より得られる培養液に特化した、DOI の簡便な精製法を開発することとした。

我々は、培養生産により得られた DOI の精製法を検討する過程において、著しく収率や純度が低下する現象を経験していた。その要因を検証するため、pH、温度条件が DOI 安定性に及ぼす影響について定量的に検討した。Figure 3 に、DOI を pH 3.0、pH 7.5 の緩衝液に溶解し、4°C、37°C、70°C の温度条件下にて保存した際の DOI 安定性を調べた結果を示した。これらの実験データは、pH 3.0 であれば 37°C 以下の温度条件において、DOI が安定に存在できることを示唆している。DOI はその化学構造から塩基性条件下では異性化反応などが起こり分解すると推測していたが、DOI は予想していたよりも不安定な化合物であり、中性領域でも 37°C では分解反応が進行すると判った。つまり、従来法による収率・純度の低下は陰イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィーによる処理時の pH が塩基性であることに起因すると推察される。

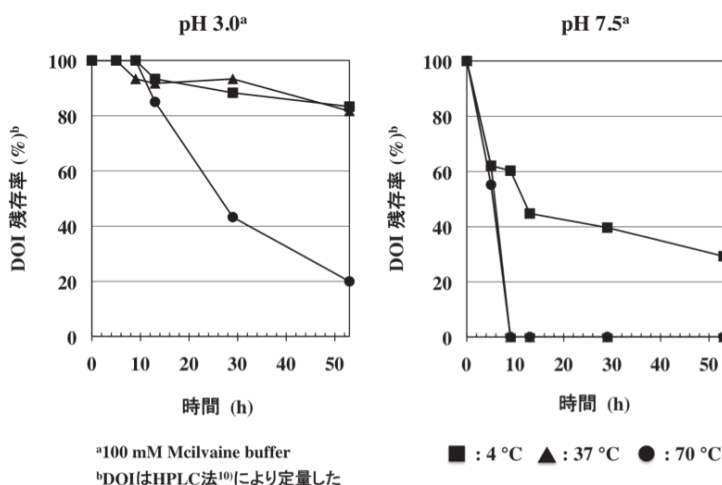


Figure 3. DOI の pH・温度安定性

そこで我々は、精製時の pH を常に弱酸性に維持するために、対イオンを酢酸型に変更した陰イオン交換樹脂を使用することとした。その結果、収量は大幅に向上し、かつ再現性良く DOI を得ることが可能となった<sup>5)</sup>。しかしながら、得られた粗製 DOI の形状は褐色シラップで

あるため取扱いが困難であり、純度はやはり 85 %程度であった。ファインケミカルの原料として利用するのであれば、単一化合物として DOI を取り出す技術が必須である。そのため DOI の単離を目的に、様々な角度からその精製法を検討した。最初のアプローチとして、順相シリカゲル樹脂を用い精製を試みたが、その純度の向上は見られなかった。次いで、DOI の有するカルボニル基にジメチルケタール基を導入することで得られるジメチルケタール体を晶析法により単離し、DOI が安定に存在可能な酸性条件下にて脱保護することで、再び DOI に戻す方法を検討した<sup>5)</sup>。この手法により、初めて純粋な DOI を得ることに成功した。しかしながら、実質的に 2 工程の有機反応を行うこととなるため、煩雑な操作が多く簡便な精製法とはほど遠い手法であった。将来的に、工業化を目指していることを念頭に置くと、操作が簡便であり、かつスケールアップの容易な晶析による精製が最も有利である。そこで、イオン交換樹脂による精製操作後に得られる粗製 DOI を原料として、DOI の結晶化法を検討した。比較的極性の高い有機溶媒を中心に、単一溶媒、若しくは混合溶媒として試行錯誤を重ねたところ、粗製 DOI を還流条件下にて少量のメタノールに可溶化させ、エタノールを少しずつ滴下することにより DOI の結晶化が進行することが判明した。以下に、最終的に我々が確立した DOI 含有培養液からの数百グラムスケールでの精製工程を箇条書きにて示す。

- (1) 組換え大腸菌による DOI 高生産システムより得られた培養液 10.5 L (DOI 39.2 g / L, 全含有量 412 g) をセライト濾過し、次いでメンブレンフィルター (孔径 5.0  $\mu\text{m}$ , 2.0  $\mu\text{m}$ , 0.45  $\mu\text{m}$ ) による加圧濾過を行い、菌体を除去した。
- (2) 得られた無菌培養液を、強酸性陽イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー (Amberlite 200CT, H<sup>+</sup>型, 5 L,  $\phi$  14 cm x 32 cm, オルガノ社製) と弱塩基性陰イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー (Amberlite IRA96SB, 酢酸型, 7.5 L,  $\phi$  13 cm x 56 cm, オルガノ社製) との 2 床 2 塔式装置により脱塩・脱アミノ酸処理し、褐色シラップ状の粗製 DOI を 422 g 得た。
- (3) 還流条件下、粗製 DOI 422 g を 505 mL のメタノールに溶解し、エタノール 3550 mL を滴下することで、DOI を結晶化させた。析出した結晶を濾別後、五酸化二リン共存下、デシケーター内で乾燥することで 283 g の精製 DOI を得た。

培養に使用した D-グルコース (473 g) を基準として収率 67 % にて目的物質である DOI を単離することに成功した。D-グルコースを原料として、数工程の化学変換により環外二重結合を有する環状エノールエーテルを合成し、2 価の水銀やパラジウム触媒を作用させる Ferrier 転移反応 (タイプ II) を利用すれば、DOI 類似体を化学合成することが可能である<sup>11)</sup>。しかし、こ

の転移反応を用いて数百グラムの DOI 類似体を供給することは、莫大な労力と時間を必要とするのではほぼ不可能であった。しかしながら、組換え大腸菌による DOI 高生産システム、及び晶析法による簡便な DOI 精製法が確立されたことにより、初めて DOI を大量製造する技術が完成したのである。

### 3. DOI を原料とした物質変換技術

DOI はその化学構造から脱水反応、芳香族化が起こり易いと推定される。実際に短行程にて芳香族化合物への変換ルートが報告されている (Figure 4)。例えば、前述したように柿沼らはヨウ化水素酸を用いる一工程の還元的脱離反応により DOI を有用工業資源であるカテコールへ導くことに成功している<sup>2)</sup>。この反応は、高久らの開発した組換え大腸菌から得られる無菌培養液を凍結乾燥させた試料に対しても問題なく進行し、抽出操作後は、昇華法により容易にカテコールが単離できることを確認している。また Frost らは酸触媒による脱水反応により DOI をヒドロキシヒドロキノン (1,2,4-トリヒドロキシベンゼン) へ変換し、続いてロジウム触媒によるフェノール性水酸基のデオキシ化反応によりハイドロキノンに導いている<sup>12)</sup>。これらの反応は DOI の利活用にとって極めて重要な発見であり、DOI の大量製造技術と組み合わせることで、バイオマスより有用工業資源であるフェノール類を大量生産する道筋が開けたのである。

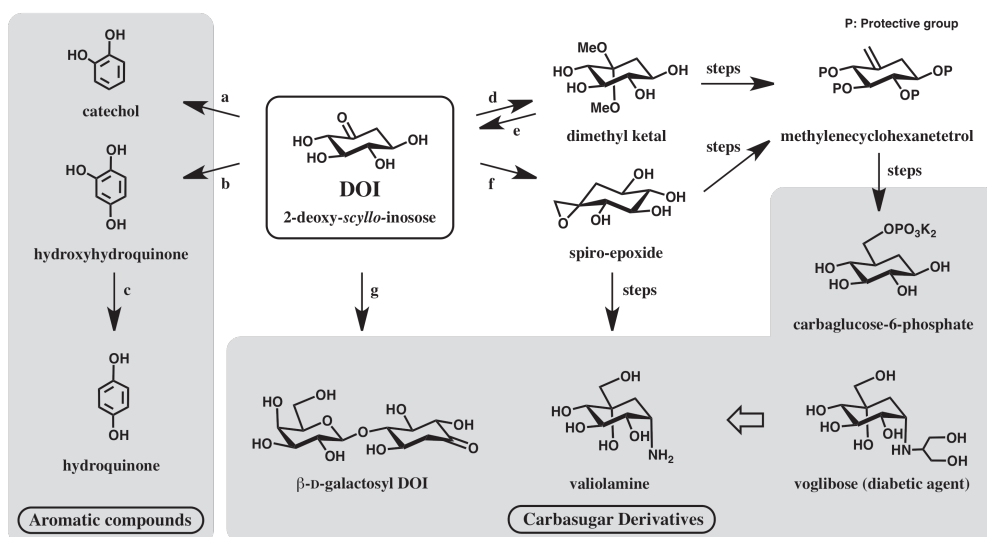


Figure 4. DOI を原料とした高付加価値化合物への変換反応



また、DOI は  $\beta$ -D-グルコースと同じ立体配置の水酸基を 4 つ有するシクロヘキサノン誘導体であるため、糖の環酸素原子をメチレン基に置き換えたカルバ糖の合成原料としても最適である (Figure 4)。近年、小川らのグループは *myo*-イノシトールを原料に微生物より得られる粗製 DOI をジアゾメタンにより処理することで、スピロエポキシテトラールへ導き、これを鍵原料として、生理活性天然物バリダマイシンの構成成分であり、かつ糖尿病対症療法薬ボグリボースの合成前駆体でもあるバリオールアミンの合成を達成している<sup>13)</sup>。またカルバ糖合成の有用な前駆体であるメチレンシクロヘキサントロール誘導体への化学変換法が二例報告されており、その鍵中間体より  $\beta$ -DL-カルバグルコース-6-リン酸の合成が達成されている<sup>14)</sup>。当研究室では、糖加水分解酵素の転移活性を利用することで DOI の配糖化に成功しており、 $\beta$  結合を介してガラクトース残基を導入した DOI が抗酸化作用を有することを見出している<sup>15)</sup>。

一方、我々も DOI を鍵原料としたカルバ糖合成を展開しており、柿沼らの合成ルートを参考にメチレンシクロヘキサントロール誘導体からのヒドロホウ素化反応の条件、及びその生成物の精製法に改良を加え、カルバ- $\beta$ -D-グルコース (8 工程, 39 %) とカルバ- $\alpha$ -L-イドース (8 工程, 42 %) を合成することに成功している (Figure 5)。特にカルバ- $\beta$ -D-グルコースの合成は、ほとんどの合成中間体が再結晶により単離できるため、シリカゲルカラムによる精製操作は二回しか必要とせず、大量合成に適している。その収率は、現在までに報告されている相当するカルバ糖の収率を遙かに凌駕している。

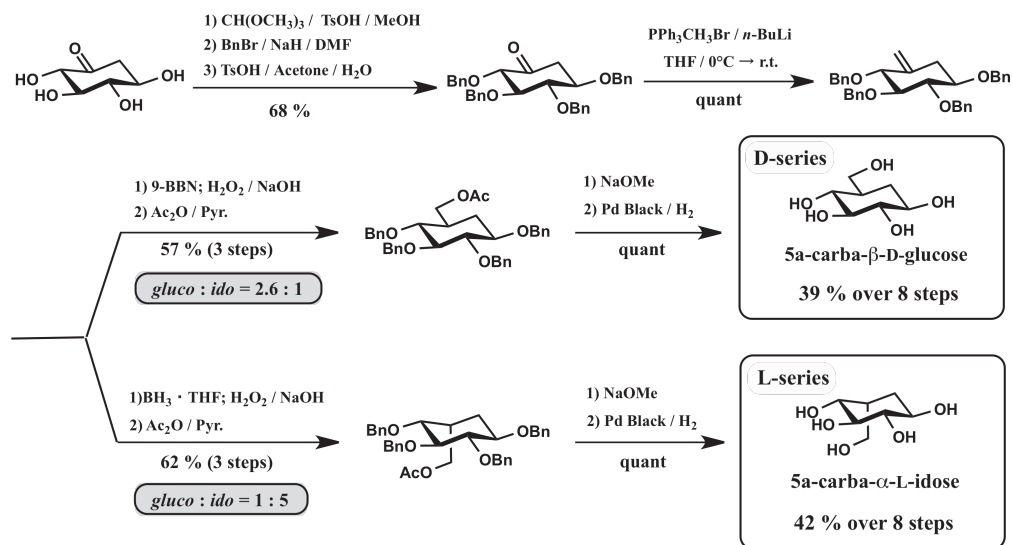


Figure 5. DOI を原料としたカルバ- $\beta$ -D-グルコースとカルバ- $\alpha$ -L-イドースの合成

#### 4. DOIを原料としたカルバ糖の系統的合成戦略

前節にて、DOIの有する4つの水酸基の立体配置を利用することにより、相当するD糖とL糖のカルバ糖が高効率的に合成できることを示した。このカルバ-β-D-グルコースとカルバ-α-L-イドースの合成ルートをDOIの水酸基を反転させて得られるジアステレオマーに対して適用すれば、その水酸基の立体配置に応じた多種類のカルバ糖の合成研究が展開可能である。そこで、我々はDOIを基点としたカルバ糖の系統的合成戦略を立てた(Figure 6)。

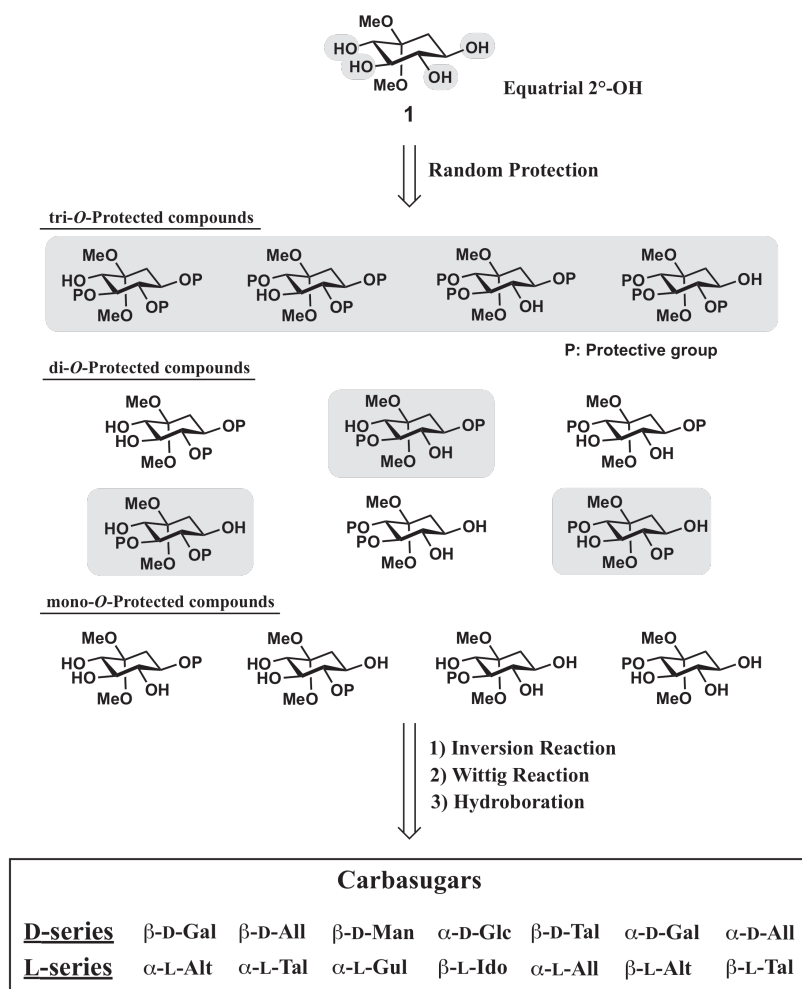


Figure 6. DOIを原料としたカルバ糖の系統的合成戦略

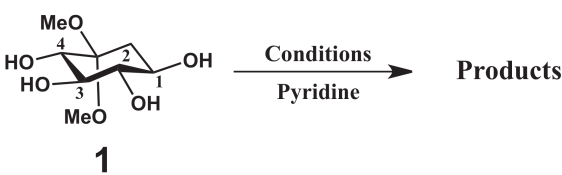


一般に水酸基の反転反応を行うには、DOI の水酸基を位置選択的に保護する必要がある。しかしながら、DOI の有する水酸基は全て 2 級のエクアトリアル配位であるため反応性に差がなく、部分保護反応を確立することが困難であると予想された。そこで、一工程の反応でできる限り多くの部分保護体を一挙に合成することを計画した(ランダムプロテクション)。つまり、DOI のカルボニル基を保護して得られるジメチルケタール体 **1** に対して保護基の導入反応を行い、モノ保護体 4 種類、ジ保護体 6 種類、トリ保護体 4 種類の計 14 種類を同時に合成する戦略である。本手法は、個々の保護体の収率が低くなると推定される。しかしながら原料である DOI が安価であり大量に使用できるので、反応スケールを大きくすることで収量を確保する予定である。そうして得られるさまざまな部分保護体を原料に、1) 水酸基の反転反応、2) Wittig 反応、3) ヒドロホウ素化反応を順次行いカルバ糖を合成する。理論的に考えうる 14 種類の保護体のうち、隣り合う水酸基を持つ保護体は反転反応が進行し難いことを考慮したとしても、グレーで示した 7 種類の部分保護体より Figure 6 に示した 14 種類のカルバ糖 (D 糖: 7 種類、L 糖: 7 種類) の合成が期待できる。

#### 5. ランダムプロテクションによるジメチルケタール体 **1** の部分保護反応

本節では、DOI から 78 % の収率にて得られるジメチルケタール体 **1** に対するランダムプロテクションについて述べる。導入する保護基としては汎用性が高い 3 種類のアシル基(アセチル基、ベンゾイル基、ピバロイル基)を選択した。アセチル化反応では、主生成物としてジアセチル体とトリアセチル体を与えることができた。得られた生成物の NMR スペクトルからは、予想通り多種類の部分保護体を確認された。しかしながら、生成物の  $R_f$  値が非常に近い精製操作が困難であり、結局のところ 1,3-*O*-ジアセチル体と 1,2,3-*O*-トリアセチル体の二種類のみしか単離できなかった。ベンゾイル化反応では、10 当量のベンゾイルクロライドを用いピリジン中、室温にて反応を行うことにより、パーベンゾイル体が 92 % の収率にて得られた。そのためベンゾイルクロライドの当量数を 1 当量とし、0℃にて反応を試みた。その結果、1-*O*-ベンゾイル体(21 %)、3-*O*-ベンゾイル体(22 %)、4-*O*-ベンゾイル体(15 %)を同時に合成することができた。しかしながら、ベンゾイル化は反応速度が速かったために、その反応の制御が困難であった。一方、ピバロイル化反応は、10 当量のピバロイルクロライドを用い、室温にて反応を試みた結果、同一条件下にてアセチル化、ベンゾイル化ではパーアシル体のみを生成していたのに対して、トリピバロイル体を主に与えていた(Figure 7, Entry 1)。また反応温度を 0℃に下げること、一挙にジピバロイル体とトリピバロイル体を併せて 7 種類合成できることが判明した(Figure 7, Entry 2)。主生成物は 1,3-*O*-ジピバロイル体であり、収率 60 %であった。種々検討した結果、ピバロイルクロライドを 5.5 当量とし、反応温度を-20℃にすれば、1,3-*O*-

ジピバロイル体の収率は76%に向上し、同時に他の3種類のジピバロイル体も得られることがわかった(Figure 7, Entry 3)。また、ピバロイルクロライドを1当量、-10℃にて反応を行うと、3種類のモノピバロイル体が合成可能であった(Figure 7, Entry 4)。これらの結果は、ピバロイル化反応において、1位、3位、2位、4位の順番にピバロイル基が導入されていることを示唆していた。また本研究にて得られた計10種類の部分保護体は全て単離可能であった。以上の知見よりピバロイル基がランダムプロテクションの保護基として最適であると判断した。



**1**

Entry	Conditions		Conversion Yield (%)									
	PivCl (eq.)	Temp. (°C)	mono- <i>O</i> -Piv			di- <i>O</i> -Piv				tri- <i>O</i> -Piv		
			1 -	3 -	4 -	1,2 -	1,3 -	1,4 -	2,3 -	1,2,3 -	1,2,4 -	1,3,4 -
1	10	r.t.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	20	n.d.	n.d.	30	11	11
2	10	0	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	7	60	5	1	8	10	4
3	5.5	-20	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	<sup>b</sup>	76	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>
4	1	-10	36	23	3	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. : not detected, <sup>a</sup>) trace, <sup>b</sup>) The yield of di-*O*-Piv derivatives is 16 %, <sup>c</sup>) not determined

**Figure 7.** ジメチルケタール体 **1** のランダムピバロイル化反応

そこで、Entry 3 の反応条件を用いて数十グラムスケールにてピバロイル化反応を試みた。ジメチルケタール体 **1** を 38 g 使用した結果、1,3-*O*-ジピバロイル体を収率 64 % (43 g) にて、また同時に 1,4-*O*-ジピバロイル体を 7 % (4.8 g)、1,2-*O*-ジピバロイル体を 6 % (3.8 g)、2,3-*O*-ジピバロイル体を 2 % (1.5 g) の収率にて得ることができた。最も収率の低い生成物でさえ 1.5 g の収量があり、合成原料として十分利用可能である。

## 6. DOIを原料としたカルバ-β-D-ガラクトースとカルバ-β-D-マンノースの合成

ここでは、前節のランダムピバロイル化反応にて主生成物として得られた 1,3-*O*-ジピバロイル体 **2** を用いて、カルバ-β-D-ガラクトース **12** とカルバ-β-D-マンノース **17** を含む 4 種類のカルバ糖を合成した結果について述べる(Figure 8)。まず 1,3-*O*-ジピバロイル体 **2** を 60℃にて

再度ピバロイル化反応を行い、1,2,3-*O*-トリピバロイル体 **3** と 1,3,4-*O*-トリピバロイル体 **4** を合成した。予想通り 2 位水酸基の反応性が高く、収率はそれぞれ 70 %, 11 %であった。

これら遊離の水酸基を一つのみ有する保護体 **3** と **4** を用いて、トリフレート化、次いで酢酸セシウムによる反転反応を試みた。4 位の反転反応は時間を要したが、ともに良好な収率にて立体反転を起こした化合物 **5** と **6** を与えた。その後、アシル基を脱保護し、ベンジル化、さらにジメチルケタール基の脱保護を行い化合物 **7** と **8** に変換した。これらのシクロヘキサノン保護体を原料に、Figure 5 に示したカルバ-β-D-グルコースの合成ルートを適用した。得られた化合物 **7** をメチルトリフェニルホスホニウムブロマイド / *n*-ブチルリチウムにより系内で発生させたりニイリドと反応させることにより *exo*-オレフィン体 **9** へと導いた。続いて、ボランテトラヒドロフラン錯体によりヒドロホウ素化 / 酸化反応を試み、アンチマルコフニコフ型生成物の混合物 (*galacto* : *altro* = 1.75 : 1) を得た。これらの生成物は精製が困難であったため、アセチル化後に単離した。2 工程の収率はそれぞれ 35 %, 20 %であった。得られたガラクト型保護体 **10** とアルトロ型保護体 **11** のアセチル基とベンジル基を脱保護することにより、目的物であるカルバ-β-D-ガラクトース **12** とカルバ-α-L-アルトロース **13** の合成を達成した。総収率は 13 工程にてそれぞれ 8.8 % と 5.0 % であった。2 位水酸基を反転して得られたシクロヘキサノン保護体 **8** に関しても、同様の変換反応を試みた。まず、Wittig 反応により環外二重結合を有する化合物 **14** へと導き、次いでヒドロホウ素化 / 酸化反応を試みた。アンチマルコフニコフ型の生成物を与えたが、その立体選択性は化合物 **9** を用いた場合とは逆転していた (*manno* : *gulo* = 1 : 4.5)。これらの生成物もやはり精製が困難であったので、アセチル化後に単離した。その後、保護基を脱保護することにより、カルバ-β-D-マンノース **17** とカルバ-α-L-グルース **18** の合成に成功した。総収率は 13 工程にてそれぞれ 0.4 % と 2.3% であった。

ヒドロホウ素化反応における立体選択性を如何にコントロールするかが課題として残っているが、DOI を鍵原料とすることでいくつかのカルバ糖を系統的に合成することができた。今後は、ランダムピバロイル化反応より得ているさまざまな部分保護体を利活用して、新たなカルバ糖の合成基盤を確立したいと考えている。

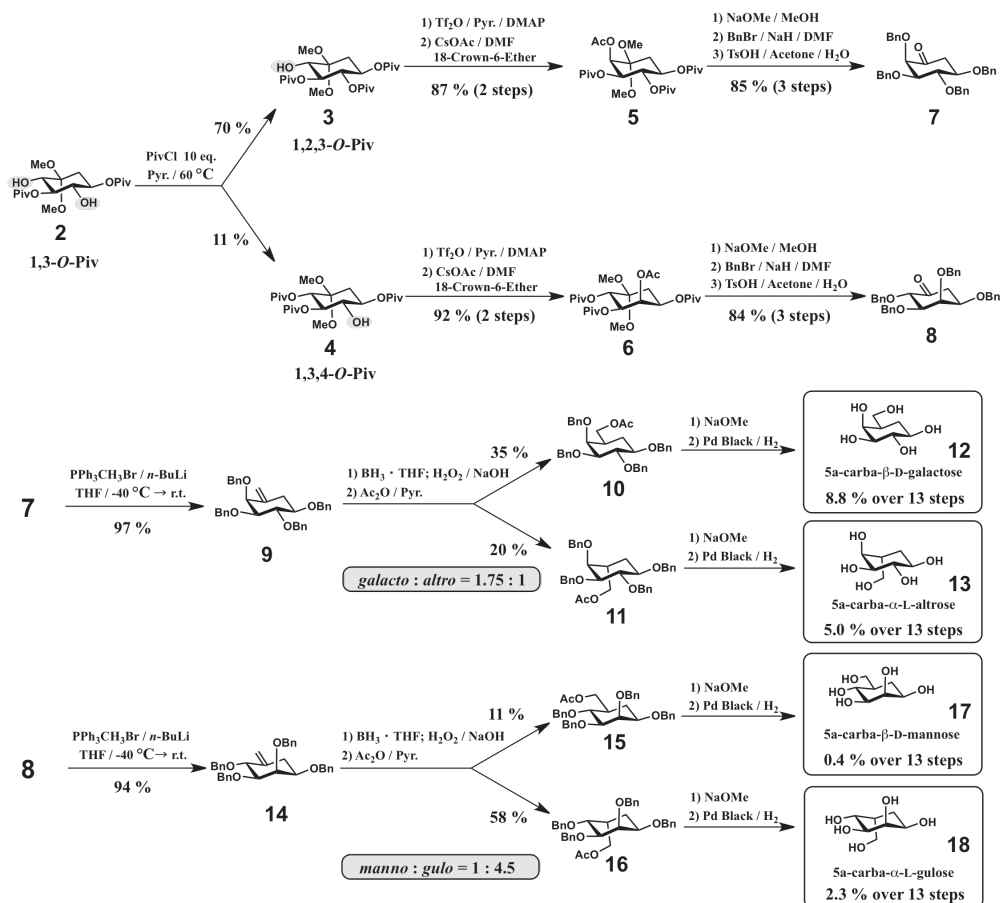


Figure 8. カルバ-β-D-ガラクトース 12 とカルバ-β-D-マンノース 17 の合成

## 7. おわりに

これまでの石油依存型の化学製品の生産システムの代替システムとして政府及び産業界が一体となってバイオリファイナリーを積極的に推進している。ここで紹介した基盤技術もバイオリファイナリー的一端を担うものであり、バイオマス由来の D-グルコースを利用し、組換え大腸菌を用いることにより DOI を生産させた後、簡単な有機合成変換を行うことで、重要な化学原料や種々のファインケミカルが得られるのである。特に DOI は有用工業資源である芳香族化合物や擬似糖のひとつであるカルバ糖の合成原料としての利用価値が高い。広義にカルバ糖に分類されるインフルエンザ感染症治療薬「タミフル」や糖尿病治療薬「ボグリボース」が実用化され人類の健康に大きく貢献していることを鑑みると、生体内安定性に優れ、かつ加水分解酵素の阻害剤として機能するカルバ糖は、創薬シーズと成りえる可能性を秘めている。また

新たな光学活性原料として天然物合成化学の分野においても重宝されるであろう。

## 謝辞

本研究は、新潟薬科大学応用生命科学部食品科学科食品生物工学・分子科学研究室において、学部生および大学院生の協力により実施されたものであります。ここに、日夜努力を惜しむことなく本研究を遂行してくれた斎藤智美研究員、狩野達也修士、学生諸氏(頓所敏行、福田智行、坂井一樹、加藤理香、谷郁満、渡部陽子、千田俊彦、本坊匠、清水雄太、館田尚家)に感謝申し上げます。本研究にあたりDOI培養液を提供頂いた新潟薬科大学応用生命科学部応用生命科学科応用微生物・遺伝子工学研究室、高木正道教授、高久洋暁准教授に感謝申し上げます。最後に、筆者を糖化学に導いて下さった横浜市立大学時代の恩師である榊原徹教授に心から感謝申し上げます。

## 引用文献

- 1) (a) K. M. Draths, J. W. Frost, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 2395-2400 (1995); (b) W. Li, D. Xie, J. W. Frost, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 2874-2882 (2005)
- 2) K. Kakinuma, E. Nango, F. Kudo, Y. Matsushima, T. Eguchi, *Tetrahedron Lett.*, **41**, 1935-1938 (2000)
- 3) F. Kudo, H. Tamegai, T. Fujiwara, U. Tagami, K. Hirayama, K. Kakinuma, *J. Antibiot.*, **52** (6), 559-571 (1999)
- 4) T. Kogure, N. Wakisaka, H. Takaku, M. Takagi, *J. Biotechnol.*, **129** (3), 502-509 (2007)
- 5) 小暮高久、脇坂直樹、高久洋暁、高木正道、鰐坂勝美、宮崎達雄、平山匡男「遺伝子発現カセット及び形質転換体、並びにこの形質転換体を用いた2-デオキシシロイノソースの製造方法及び2-デオキシシロイノソースの精製方法」国際公開番号 WO2006/109479
- 6) K. Suzukake, K. Tokunaga, H. Hayashi, M. Hori, Y. Uehara, D. Ikeda, H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **38** (9), 1211-1218 (1985)
- 7) S. J. Daum, D. Rosi, W. A. Goss, *J. Antibiot.*, **30** (1), 98-105 (1977)
- 8) (a) N. Yamauchi, K. Kakinuma, *J. Antibiot.*, **45** (5), 756-766 (1992); (b) J. Yu, J. B. Spencer, *Tetrahedron Lett.*, **42**, 4219-4221 (2001)
- 9) 友田明宏、神辺健司、北雄一、森哲也、高橋篤、公開特許公報「(-)-2-デオキシシロイノソースの製造方法」特開2005-72

- 10) N. Yamauchi, K. Kakinuma, *J. Antibiot.*, **45** (5), 774-780 (1992)
- 11) K-S Ko, C. J. Zea, N. L. Pohl, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 13188-13189 (2004)
- 12) C. A. Hansen, J. W. Frost, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 5926-5927 (2002)
- 13) S. Ogawa, Y. Ohishi, M. Asada, A. Tomoda, A. Takahashi, Y. Ooki, M. Mori, M. Itoh, T. Korenaga, *Org. Biomol. Chem.*, **2**, 884-889 (2004)
- 14) (a) S. Ogawa, M. Asada, Y. Ooki, M. Mori, M. Itoh, T. Korenaga, *J. Carbohydr. Chem.*, **24**, 677-683 (2005); (b) E. Nango, T. Eguchi, K. Kakinuma, *J. Org. Chem.*, **69**, 593-600 (2004)
- 15) (a) K. Ajisaka, S. Agawa, S. Nagumo, K. Kurato, T. Yokoyama, K. Arai, T. Miyazaki, *J. Agric Food Chem.*, **57**, 3102-3107 (2009); (b) 鯨坂勝美、宮崎達雄、公開特許公報「抗酸化物質」特開2009-62304