

アセト乳酸合成酵素を用いた α -ブロモエステルのラジカル的アシル化反応

(阪大院工) ○藤沢 修斗・加藤 俊介・林 高史

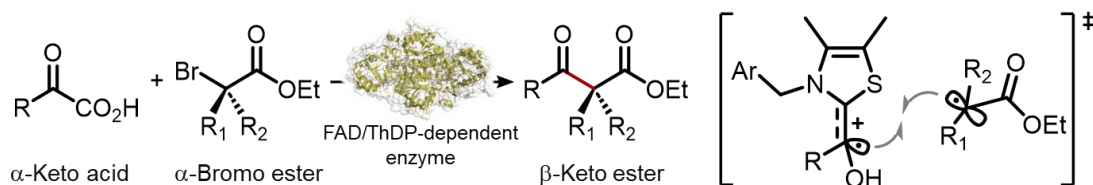
Radical Acylation of α -Bromoesters Catalyzed by Engineered Acetolactate Synthase

(Graduate School of Engineering, Osaka University) ○Shuto Fujisawa, Shunsuke Kato, Takashi Hayashi

Biocatalysis has recently emerged as a new sustainable method to produce chemical feedstocks. To expand the catalytic repertoire of enzymes, we have here investigated a biocatalytic radical acylation of α -bromo ester using FAD/ThDP-dependent enzymes. The FAD cofactor in the enzyme active site seems to promote the one-electron oxidation of the Breslow intermediate formed by the reaction of ThDP with α -keto acids, thereby achieving the challenging coupling reaction of acyl radical. Based on this hypothesis, we started to screen various types of FAD/ThDP-dependent enzymes from genome database. As a result, acetolactate synthase from *Thermobispora bispora* (TbALS) was found to catalyze the target acylation of α -bromo ester. Furthermore, a genetic engineering approach based on docking simulation was used to design enzyme variants with enhanced catalytic activity. Moreover, a series of mechanistic studies including EPR measurements supported the radical mechanism for this reaction.

Keywords : Biocatalysis; Acetolactate synthase; Radical reaction; NHC organocatalyst

持続可能社会の実現に向けた新たな物質生産プロセスとして、近年、酵素や微生物等の生体触媒を用いた物質変換に注目が集まっている^[1]。本研究では、これら生体触媒の反応適用範囲を、天然の反応のみならず、非天然の化学反応へと拡張するために、FAD/ThDP 依存性酵素を用いた α -ブロモエステルのラジカル的アシル化反応を実施した(下図)。酵素活性部位内で ThDP と α -ケト酸から生成する Breslow 中間体と α -ブロモエステルを、FAD が選択的に一電子酸化・還元することで、二種のラジカル種のカップリング反応が進行することが期待される。この仮説に基づき種々の FAD/ThDP 依存性酵素をスクリーニングした結果、*Thermobispora bispora* 由来のアセト乳酸合成酵素(TbALS)が、本反応において有望な触媒活性を示すことを見出した。さらに、基質と酵素に対するドッキングシミュレーションに基づく遺伝子工学的改変を実施することで、その触媒活性が向上することを明らかにした。また、EPR 測定により、本反応がラジカル的反応機構で進行していることが示唆された。



1) K. Chen, F. Arnold, *Nat. Catal.* **2020**, 3, 203-213.