

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Geotrichum candidum acetophenone reductase immobilization on novel support materials
著者(和文)	Kotchakorn T. Sriwong
Author(English)	T. Sriwong Kotchakorn
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12212号, 授与年月日:2022年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:松田 知子,福居 俊昭,三重 正和,八波 利恵,秦 猛志
Citation(English)	Degree: Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number: 甲第12212号, Conferred date: 2022/9/22, Degree Type: Course doctor, Examiner: ,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	Kotchakorn T.sriwong	
論文審査 審査員		氏名	職名		
	主査	松田知子	准教授	秦猛志	准教授
	審査員	福居俊昭	教授		
		三重正和	准教授		
		八波利恵	准教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「*Geotrichum candidum* acetophenone reductase immobilization on novel support materials」と題し、英語で書かれ、五章より構成されている。

第一章「Introduction」では、酵素を触媒として用いる有機合成反応について述べている。特に、生体触媒としてアルコール脱水素酵素を利用するケトンの不斉還元反応について説明し、*Geotrichum candidum* NBRC 4597 由来の Acetophenone reductase (*GcAPRD*) の有機合成の触媒としての有用性について説明している。また、酵素の固定化法や固定化酵素の工業的な利用および酵素の固定化の必要性について説明し、本研究の目的と意義について述べている。

第二章「Organic-inorganic nanocrystal formation」では、シンプルで効率的な有機-無機ナノクリスタル形成法による *GcAPRD* の固定化に成功したと述べている。条件を検討した結果、最適な金属イオンの種類はコバルトイオンであることを見出し、さらに、ナノクリスタルへの酵素の結合は、 Co^{2+} と *GcAPRD* の His タグによる結合であることを明らかにしている。次に、*GcAPRD* ナノクリスタルの緒性質の検討を行い、固定化酵素は遊離酵素より熱耐性において優れていることを見出している。また、*GcAPRD* ナノクリスタルをアセトフェノンの還元反応に 7 回再利用した場合においても、高い収率 (>99%) および高い不斉収率 (>99% ee) が得られることを明らかにしている。さらに、*GcAPRD* nanocrystal を有用物質である (*S*)-1-(3', 4' -dichlorophenyl) ethanol の合成に用い、>99% の収率および >99% ee の不斉収率を達成できたと述べられている。また、scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX), および, thermal gravimetric analysis (TGA) により、*GcAPRD* がナノクリスタル中に固定化されていることを確認している。

第三章「*GcAPRD* immobilization on graphene-based nanomaterials」では、graphene oxide (GO) や GO を部分的に L-ascorbic acid により還元して得た reduced graphene oxide (rGO) を担体とする *GcAPRD* の固定化に成功している。固定化前の酵素活性を基準とする固定化後の酵素活性は、rGO-*GcAPRD* の場合は 104%, GO-*GcAPRD* の場合は 65% であり、rGO-*GcAPRD* の方が優れた固定化担体であると述べている。また、固定化収率は、両方の場合において >99% であると述べている。通常は、高い固定化収率と高い酵素活性の保持率の両方を同時に達成することは困難であるが、本研究においては達成できたと述べている。

第四章「3D-printed bioreactors of *GcAPRD*」では、3D プリンターを利用して制作したバイオリアクターを用いる反応に成功したと述べている。Computer-aided design (CAD) によりバッチ式およびフロー系の反応容器を設計し、polypropylene (PP) を用いて製造し、polydopamine, glutaraldehyde, および, polyethylenimine を用いて表面処理をすると *GcAPRD* を固定化できることを見出している。バッチ式よりもフロー系の方が、効率が良かったと述べている。フロー系のバイオリアクターを用いると、117-144 時間の acetophenone の還元反応を行うことができ、12.5 ユニットの固定化 *GcAPRD* を用いて、43.2 mg の (*S*)-1-phenylethanol を高い不斉収率 (>99% ee) で得ることができたと述べている。

第五章「Conclusions and future perspectives」では、本研究の結果を総括し、今後の展望について述べている。

以上を要するに、本論文は *Geotrichum candidum* NBRC 4597 由来の Acetophenone reductase (*GcAPRD*) の固定化および固定化酵素を用いる効率的な反応に成功したものであり、工学上ならびに工業上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (工学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。