

バイオキラリティー：左と右の世界

左右田 健 次*

1. はじめに

「バイオキラリティー」は生物を意味する英語の Bio- と、手や掌を意味するギリシャ語の ceir (ケイル) に由来するドイツ語 Cheir (ヒヤイル) から派生した Chirality との便宜的な合成語であり、英語ではバイオカイラリティー、ドイツ語ではビオキラリティーとなります。有機化学の教科書に描かれている片方の手と鏡に映ったその鏡像の関係、つまり両者を重ねあわすことができない構造の関係がキラリティーです。裏表が同じ軍手であれば、実像と鏡像は同じであり、この関係をキラリティーが存在しないことを意味するアキラリティーと呼びます。具体的にいえば、図1のアラニンの実像と鏡像が異なる構造を持つ鏡像異性体(エナンチオマー)が存在する、つまりキラリティーを示すキラルな化合物です。有機化学の分野ではキラル炭素に結合する原子の原子番号の大きい方から順位をつけて、その方向が時計回りの構造を

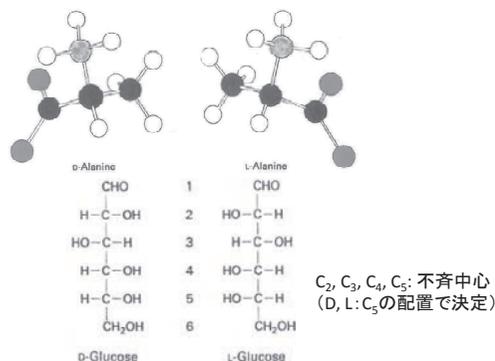


図1 アラニンとグルコースの鏡像異性体

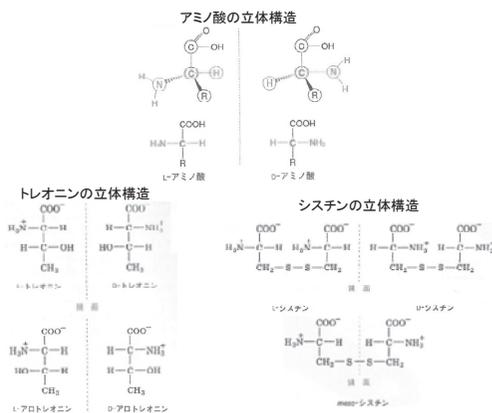


図2 アミノ酸の立体異性体

R, 反時計回りの構造をS異性体と呼び、ほとんどのアミノ酸はS異性体ですが、硫黄原子を含むシステインだけがR異性体となります。この不便さを避けるために生化学分野では、一般にグリセリンアルデヒドの構造を基にしたD-, L-表示を用いています。アラニンは一つの炭素(α-炭素)に4種類の原子や原子団が結合しており、このような炭素を不斉炭素(一般的には不斉中心)と呼びます。グルコースなどの糖もキラルであり、グルコースにはC₂, C₃, C₄, C₅が不斉炭素ですが、C₅の立体配置でD-, L-を決めます。キラル分子には複数の不斉炭素をもつものがあり、図2のようにアミノ酸ではトレオニンなどは2個の不斉炭素を持ち、4個の立体異性体(L-トレオニン, D-トレオニン, L-アロトレオニン, D-アロトレオニン)が存在します。システインは2分子のシステインがS

*京都大学名誉教授, 一般財団法人海洋化学研究所評議員

ルフィド結合を介して結合しており、システイン部分がLL, DD, DLの組み合わせがあり、D, L-システインから構成されるシスチンはメゾ体と呼ばれます。ワイン醸造の過程で副生する酒石酸にもL型、D型とメゾ型が存在します。ラセミ体は二つのエナンチオマーが等量存在している状態であって、アキラルではありません。本誌の対象とする主要分野と本論文の内容には少し距離がありますので、基本的な説明を述べました。

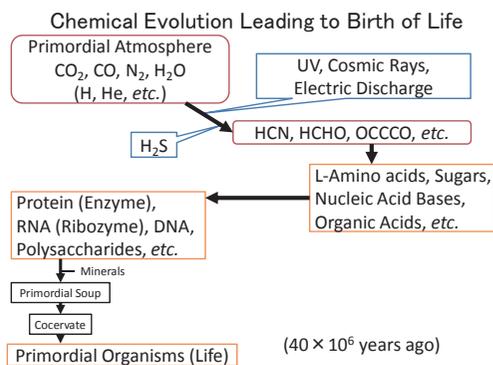


図3 従来の化学進化の仮説

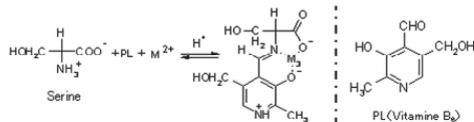
2. 生命の誕生とキラリティーの発現

137億年前に誕生した宇宙の片隅、「天の川銀河」の端に地球を含む太陽系が生まれたのは46億年前のことです。宇宙塵とガスの塊であった地球が40億年前になると現在の形に近づきました。他の惑星と違って地球は比較的温和で、気体、液体、固体の水の存在する特異な惑星です。この原始地球の大気はCO₂、CO、N₂、水蒸気などを主成分とし、分子状酸素O₂はほとんど含まれず、当然、オゾンO₃もオゾン層も存在しませんでした。太陽からの強い紫外線、宇宙線、空中放電などによって大気成分は励起され、H₂Sの作用も与って、シアン化水素などの簡単な有機化合物が合成されました。これらもさらに反応しあって、やや複雑なアミノ酸、糖、核酸塩基などが生成しました。この際に、アミノ酸のホモキラリティーの発現が起こった、つまり一旦、L-アミノ酸が選択的に合成され、タンパク質に取り込まれたという考えが一般的です。そのメカニズムについては、いろいろな説が提出されています。たとえば、小城ら^{1, 2)}はラセミアミノ酸が生成した後、溶液中のアスパラギン酸などいくつかのアミノ酸においてL-型が優先的に結晶化する実験結果を報告しています。井上ら³⁾は光増幅反応によるL-ア

ミノ酸の選択的合成を提案しています。その他、ゲル状のアミノ酸を回転することによりL-アミノ酸が優先的に生成するキラリティー発現の仮説など、いくつかの報告が出されています。いずれにしても、これらの仮説においては原始スープ中で、一度L-アミノ酸が選択的に生成された過程が前提となっており、その考えに基づいて、生命の誕生にいたる化学進化が想定されています(図3)。

しかし、私は、たとえ選択的にL-アミノ酸が生成されても、原始スープの環境を考えると、ラセミ化した可能性が高いと思います。アミノ酸は側鎖にインドール環を持つトリプトファンなどの例外はあるにしても、化学的に安定な化合物です。たとえば、アミノ酸のラセミ化に関する半減期は天然の状態では10⁵から10⁶年です。しかし、40億年前、原始地球での化学進化における時間の単位は10⁷~10⁸年であることを考慮に入れると、この環境でアミノ酸は安定であったとはいえません。さらに原始スープには種々の金属イオンが高濃度に溶けていたと考えられ、当然、アミノ酸と錯体を形成しており、その金属の電子吸引力によってラセミ化は大きく促進されたはずで、また、当時の地球表面の温度は150℃前後であり、高いpHや強い紫

Schiff Base Formation between Pyridoxal (PL) and Amino Acid in the presence of Metal



Racemization of Amino Acid with Pyridoxal Phosphate

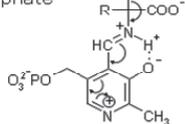


図4 金属イオン、アミノ酸とピリドキサルの反応並びにピリドキサルリン酸とアミノ酸の Schiff 塩基におけるラセミ化機構

外線、 γ -線などによる励起や当然、溶けていたビタミンや補酵素、さらには論理的には存在したはずのラセミ化酵素の作用を考えると、アミノ酸はラセミ体で存在した可能性は極めて高いと考えられます。特にピリドキサルリン酸などの補酵素とアミノ酸ラセマーゼはアミノ酸のラセミ化を大きく促進したでしょう⁴⁾。

たとえば、ビタミンB₆の1種ピリドキサルは金属イオン（たとえば2価のM²⁺）の存在下で図4に示すようにゼリンなどのアミノ酸と容易に反応して Schiff 塩基を形成します。さらにピリドキサルリン酸はより効率高く Schiff 塩基を生成し、プロトン化しているピリジン環NとイミンNの電子吸引力によりアミノ酸部分の α -炭素の周囲の電子密度は低下します。つまり、アミノ酸は極めてラセミ化されやすくなります。また、類似のメカニズムによって、アミノ基転移反応も起こります。これらのことを考えると、図3において、原始スープ中で一度、選択的にL-アミノ酸ができて、そのままタンパク質に取り込まれるのではなく、ラセミ体で存在したアミノ酸のうち、L体だけが選択的に活性化されて（たとえばアミノアシルアデニレートとなり）タンパク質に取り込まれたと考

Chemical Evolution Leading to Birth of Life

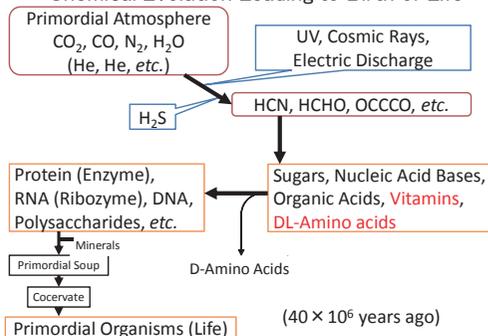


図5 生命の誕生と化学進化の新しい仮説

える方が妥当と思います。

また、化学進化の過程で、今まで等閑視されてきたビタミンとビタミンから誘導される補酵素ならびに酵素が重要な役割を果たしたと思います（図5）。この過程で残ったD-アミノ酸は同様な機構でラセミ化をうけ、そのL-体が選択的活性化反応によりタンパク質に取り込まれ、結果的にラセミアミノ酸の両異性体はともにL-アミノ酸残基の形でタンパク質に取り込まれます。

糖など代謝上重要なキラル化合物のキラリティーも化学進化の過程で生まれたはずですが、ここでは、アミノ酸を例にとり生命の誕生にいたる最も重要なバイオキラリティー発現のメカニズムを述べました。一方、かつては現在の生物界は「L-アミノ酸のみから構成されるタンパク質の世界」という認識のもとに、D-アミノ酸は非天然型アミノ酸つまり「この世ならざるアミノ酸」と解されていました。しかし、近年、キラル担体を利用したカラムクロマトグラフィーの発展により、D-アミノ酸は微生物だけでなく、ほとんどすべての動物、植物に見いだされるようになり、それぞれ微量で特異な生理作用を示すことが明らかになっています。

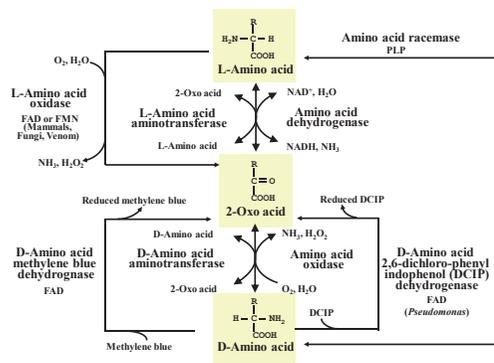


図6 L-アミノ酸代謝とD-アミノ酸代謝の関連酵素系

3. D-アミノ酸代謝の酵素

このように広く存在が明らかになっているD-アミノ酸の代謝とL-アミノ酸代謝を直接結びつけているのはアミノ酸ラセマーゼとアミノ酸エピメラーゼです。後者も本質的にはラセマーゼと変わりません。また、D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼ (DAAT) とL-アミノ酸アミノトランスフェラーゼなどにより生成するアキラルなケト酸 (オキソ酸, R-CO-COOH) を介して、二つのキラルアミノ酸の世界がつながっています (図6)。表1はこの中で私たちの研究グループが研究したD-アミノ酸代謝に関する酵素の一覧です。ここでは、中心的な重要性を示すDAATの性質と構

表1 当研究室で研究したD-アミノ酸代謝関連酵素

ENZYMES STUDIED IN OUR LABORATORY

- I: D-Amino Acid Aminotransferase (*Bacillus* sp. YM-1)
- II: Amino Acid Racemases
 - (1): Amino Acid Racemase with Low Substrate Specificity (*Pseudomonas putida*)
 - (2): Arg Racemase (*Pseudomonas putida*)
 - (3): Ala Racemase (*Geobacillus stercrothermophilus*, *B. psychrosaccharolyticus*)
 - (4): Glu Racemase (*Lactococcus pentosaceus*)
 - (5): α -Amino- ϵ -caprolactam Racemase (*Achromobacter obae*)
- III: D-Selenocystine α , β -Lyase (*Clostridium sticklandii*)
- IV: Poly- γ -DL-Glu Synthetase (*Bacillus subtilis*)
- IIV: D-Arginase (*Arthro bacter* sp. KUJ 8602)
- IIV: Others
 - Glutaminase acting on D-Gln
 - Chemical Synthesis & Enzymatic Hydrolysis of DD-, LD-&DD-Glutathione

表2 D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼ反応
D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼ (DAAT)

キラル化合物 (D-アミノ酸) とアキラル化合物 (α -ケト酸) の交換反応



補酵素:ピリドキサル リン酸 (PLP)

造の特徴とアミノ酸ラセマーゼの特異な点を述べます。

3-1. D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼ

この酵素 (DAAT) は表2に示すようにD-アラニンなどのD-アミノ酸と α -ケトグルタル酸 (α -KGA) やピルビン酸 (Pyr) などのケト酸の間のアミノ基 (NH_2) の転移を触媒する酵素であり、ピリドキサルリン酸 (PLP) が補酵素です。私たちは枯草菌の仲間である *Bacillus* 属細菌の本酵素 (2量体) を研究しました^{5, 6} (図7)。この酵素は植物にも存在しています。アミノトランスフェラーゼをはじめとするピリドキサル酵素 (PLP酵素, ビタミンB₆酵素) の一般的な反応機構は図8に示されるように、ホロ酵素の触媒中心に存在するリジ

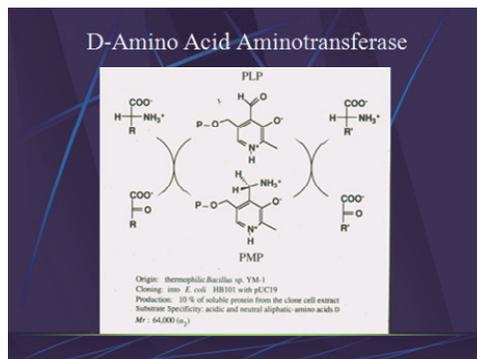


図7 D-アミノ酸アミノトランスフェラーゼ; 反応と基本的性質

Basic Reactions of PLP Enzymes

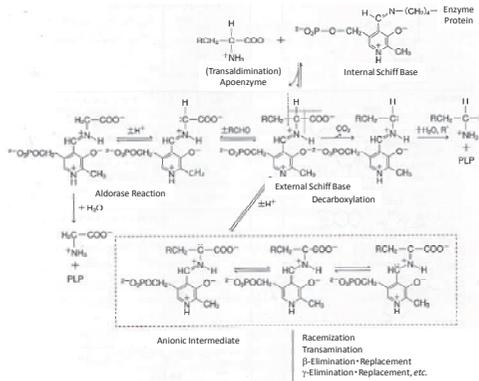


図8 ピリドキサルリン酸酵素の基本的反応機構
 ン残基と PLP の間に形成された Schiff 塩基(酵素内 Schiff 塩基) 中間体が基質アミノ酸と反応し、Schiff 塩基転移が起こって酵素外 Schiff 塩基中間体ができます。図4においても示したようにこの中間体のピリジン環 N とイミン N はともにプロトン化しているので、その強い電子吸引性により基質の α -C の電子密度は大きく低下し、それぞれの酵素の活性中心の構造によって、 α -脱炭酸反応やアルドラーゼ反応が起きます。また、 α -水素が脱離すれば点線で囲んだカルバニオン中間体が生じ、これからラセミ化、アミノ基転移、 β -脱離などの反応が進みます(図8)。基本的なアミノ基転移反応の機構は図9に示してあります。この機構に

Mechanism of D-AAT

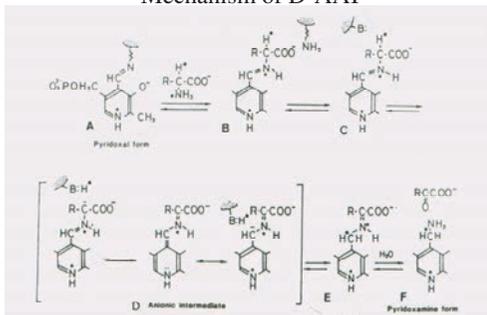


図9 D-アミノ酸の反応機構

Stereospecificity of H-transfer

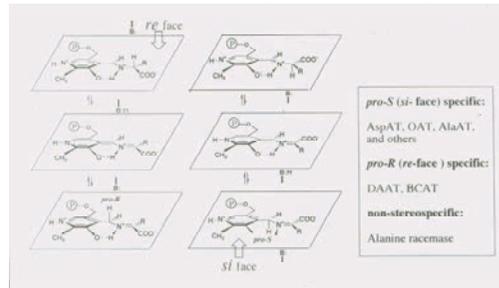


図10 ピリドキサル酵素反応における水素転移の立体特異性

において、アミノ酸の α -H は酵素活性中心の塩基に移ってからケトイミン中間体(ピリドキサミンリン酸(PMP) - ケト酸 Schiff 塩基)の補酵素部分の 4-C に移ります。この際、この水素転移がピリジン環平面のどちら側で起るか、という立体化学の問題が生じます。

水素転移の立体化学的機構を図10に示しています。ここで酵素外 Schiff 塩基中間体のピリジン-イミン π 電子平面の上部または下部、つまり re 面上、または si 面上のどちらで水素転移が起こったか、という二つの可能性が問題になります。当時、報告されていたアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AspAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(AlaAT)などはいずれも si 面特異的でした。私たちは立体特異的に 4- 3 H 標識した PMP を利用して、この水素転移の立体特異性を調べました。その結果、オルニチン γ -アミノトランスフェラーゼ(OAT)⁷⁾ は si 面特異的であり、DAAT と大腸菌の分岐鎖 L-アミノ酸アミノトランスフェラーゼ(BCAT) は re 面特異的、すなわちプロ-R 特異的であることを証明しました。これはプロ-R 特異的な水素転移が明らかにされた最初の例です⁸⁾。さらにアラニンラセマーゼが副反応として触媒するアミノ基転移反応では、非立体特異的な、つまり両面上で水素

表3 ピリドキサル酵素の分子進化と水素転移反応の立体特異性

PLP酵素の分子進化と水素転移反応の立体特異性

| Fold-type | Enzyme | Stereochemistry |
|-----------|--|-----------------|
| I | Aspartate aminotransferase | <i>si</i> |
| | Ornithine aminotransferase | <i>si</i> |
| | Tryptophanase | <i>si</i> |
| | Phosphoserine aminotransferase | <i>si</i> |
| | Serine hydroxymethyltransferase | <i>si</i> |
| II | Tryptophan synthase β subunit | <i>si</i> |
| III | Alanine racemase | Both |
| IV | D-Amino acid aminotransferase | <i>re</i> |
| | Branched-chain L-amino acid aminotransferase | <i>re</i> |
| | 4-Amino-4-deoxychorismate lyase | <i>re</i> |

転移の起こることも明らかにしました⁹⁾。アミノ酸代謝の中心に位置するいろいろなアミノトランスフェラーゼを一次構造に基づいて分子進化の観点から Christen らは4種に分類しました¹⁰⁾。これと水素転移の立体特異性との関連を示したのが表3です。DAATと基質がL型であるBCATは1次構造と水素転移の立体特異性の双方から同じグループに属する事実は分子進化の面から興味深いと思います。われわれはDAATの3次構造を明らかにしました¹¹⁾。特に活性中心付近の酵素反応に関与するアミノ酸残基の立体的配置を図11に示してあります。結合しているPLPのピリジン環の面に対してDAATでは酵素反応に重要な残基が*re*面側に

あるのに対し、AspATでは*si*面側に存在しています。DAATでは基質特異性がD型でありながら、1次構造がBCATに類似し、水素転移の立体特異性もともに*re*面特異的であり、さらに活性中心における触媒アミノ酸残基の立体配置もBCATとともに*re*面側であります。この結果は、一般的なAspATやAlaATなど、一般的なアミノトランスフェラーゼとは対照的であることからDAATは極めて特色あるPLP酵素といえます。

3-2. アミノ酸ラセマーゼ

私たちは *Pseudomonas* 属細菌から新規なアルギニンラセマーゼと低基質アミノ酸ラセマーゼを発見し、それぞれの特性、構造を研究しました。両者はともに基質特異性が低く、当時知られていたアミノ酸ラセマーゼとは対照的でした。*Pediococcus pentosaceus*の単量体酵素グルタミン酸ラセマーゼも研究しました。このラセマーゼは補酵素を持たない代わりに、活性中心のシステイン残基のチオール基が重要な役割をもち、基質の α -水素の脱離に関与することを証明しました¹²⁾。アミノ酸ラセマーゼは基質アミノ酸の両異性体に作用し、種類によって補酵素要求性と非要求性の双方があり、基質が生成物、生成物が基質である点や副反応としてアミノ基転移も触媒する点で、酵素の中でも極めて異例な存在といえます。

AspAT & D-AAT

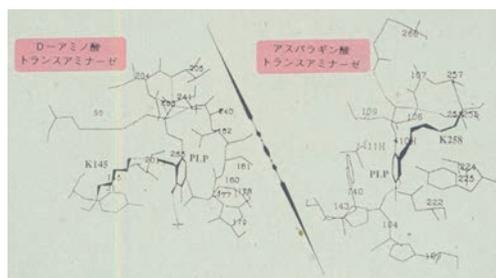
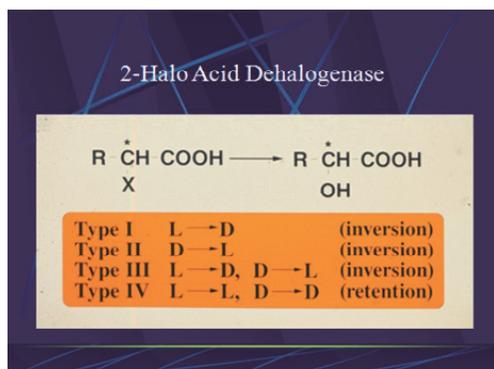


図11 アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼとD-アミノ酸アミノトランスフェラーゼの活性中心

4. ハロ酸代謝酵素のキラリティー

アミノ酸以外にキララなカルボン酸としては乳酸などのヒドロキシ酸とハロ酸が存在します。私たちは当時、ほとんど注目されていなかったハロ酸代謝関連酵素をキラリティーとの関係に立って研究しました。ハロ酸、つまりハロアルカン酸は海藻中など、天然にも存在し、一方、

表4 ハロ酸デハロゲナーゼの分類



工業原料として大量に化学合成されています。アミノ酸と同様にキラルであり、D体とL体が存在します。私たちはハロ酸の脱ハロゲンを触媒して、ヒドロキシ酸を生成する反応を行うハロ酸デハロゲナーゼ (DEX) をスクリーニングして、*Pseudomonas*, *Moraxella* などの細菌に高い活性を見出し、性質や構造、反応機構を調べました^{13, 14)}。DEXは基質と立体特異性に基づいて、表4のように分類されていました。I, II, III型の酵素、つまりL-ハロ酸、D-ハロ酸、D, L-両異性体に作用する3種のDEXはいずれも立体反転で、対応するヒドロキシ酸を生成します。Wales大学のSlatorら¹⁵⁾はIVの酵素は立体保持での脱ハロゲンを触媒すると報告

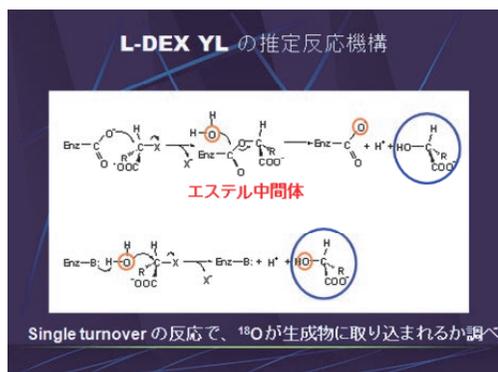


図12 デハロゲナーゼの推定反応機構

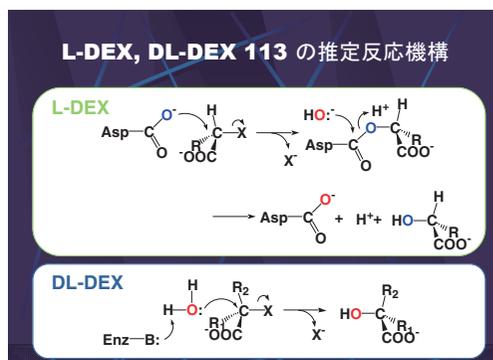


図13 L-ハロ酸デハロゲナーゼとDL-ハロ酸デハロゲナーゼの反応機構

しました。その後、私たちが研究した結果、この考えは誤りで立体反転で反応は進行し、以前私たちが発見したIIIのDL-DEXと同じであることが実証されました。私たちはI型のL-DEXとIII型のDL-DEXの反応機構を研究しました。

DEXの反応機構については、図12に示すように二つの可能性が考えられます。一つは活性中心のカルボキシル基とハロ酸が反応して脱ハロゲンが起こるとともにエステル中間体が生成し、活性化された水分子による加水分解の結果、ヒドロキシ酸が生じる機構です。他は酵素の活性中心の塩基により活性化された水分子が直接、ハロ酸を攻撃してハライドイオンとヒドロキシ酸が生成する機構です。¹⁸O標識水中で、酵素が基質に比して極めて少なく、次々反応が進むマルチプルターンオーバー、つまり一般の酵素反応の条件と、酵素が基質より圧倒的に多く、酵素反応が1回だけで終わるシングルターンオーバーの条件で反応を行い、生成する乳酸の質量分析を行いました。L-DEX反応では、シングルターンオーバー条件では10%以下の¹⁸Oの取り込みであったのに、マルチプルターンオーバーの条件下では95%以上が取り込まれていました。この結果は、エステル中間体が生成

し、次々反応が進み ^{18}O が乳酸に取り込まれたことを示しています。一方、DL-DEX 反応では、シングルターンオーバー条件下で、圧倒的に多くの ^{18}O が乳酸に取り込まれ、水分子の直接的攻撃による脱ハロゲンが起こることが証明されました (図 13)。

5. 終わりに

私たちは、上記以外にもバイオキラリティー、特に表 1 に示すような D- アミノ代謝に関するいくつかの酵素化学的研究をしました。たとえば、*Bacillus* 属細菌によるポリ- γ -グルタミン酸合成を触媒するポリ- γ -グルタミン酸シンセターゼは D- および、L- グルタミン酸をアトランダムに重合する反応を触媒します。しかし、D 体、L 体の配列は酵素でなく、基質グルタミン酸の DL 比など反応液の状態、反応条件によって決められる点で、他に例のない酵素であります。生成物ポリ- γ -グルタミン酸は数万から数十万の分子量を示し、高い保水性と安全性のために化粧品原料などに利用され、また、マルチアニオンとしての特性に基づき徐放性をもつ金属イオンの保持剤として使われています。ホモキラリティーは生物界の示す大きな特徴です。しかし、一方では微量ながら D- アミノ酸の普遍的に近い存在やこの合成酵素にみられるように酵素としての重要な特性である立体特異性を示さない例もあり、生物界には「ホモキラリティーの破れ」が見られます。さらに、この「ホモキラリティーの破れ」は生命活動に重要な役割を果たしており、バイオキラリティーの研究は大きな可能性を秘めている未知の分野といえます。

ここに述べた内容は吉村徹先生(名古屋大学)、芦内誠先生(高知大学)をはじめとする多くの方々との協同研究の結果であります。終わりに、

百瀬慎太郎の詩「山を想えば人恋し、人を想えば山恋し」を記して、皆さんへの感謝の言葉に代えます。

参考文献

- 1) Kojo, S., Tanaka, K. (2001) Enantioselective Crystallization of D,L-Amino Acids Induced by Spontaneous Asymmetric Resolution of D,L-Asparagine, *Chem. Commun.*, 16, 1980-1981.
- 2) Kojo, S., Uchino, H., Yoshimura, M., Tanaka, K. (2004) Racemic D,L-Asparagine Causes Enantiometric Excess of Other Coexisting Racemic D,L-Amino Acids During Recrystallization: a Hypothesis Accounting for the Origin of L-Amino Acids in the Biosphere, *Chem. Commun.*, 19, 2146-2147.
- 3) Everitt, S.R.L., Inoue, Y. (1999) "Organic Molecular Photochemistry", Marcel Dekker, New York, pp.71-130.
- 4) Soda, K., (2007) An Assay on D-Amino Acids: Retrospection and Perspective, in "D-Amino Acids: A New Frontier in Amino Acids and Protein Research" ed. by Konno, R., Bruecker, H., D'Aniello, A., Fischer, G., Fujii, N., Homma, H., Nova Biomedical Books, New York, pp.3-14.
- 5) Tanizawa, K., Masu, Y., Asano, S., Tanaka, H., Soda, K. (1989) Thermostable D-Amino Acid Aminotransferase from a Thermophilic *Bacillus* Species. *J. Biol. Chem.*, 264, 2445-2449.
- 6) Bhatia, M., B., Futaki, S., Ueno, H., Manning, J. M., Ringe, T., Yoshimura, T., Soda, K. *J. Biol. Chem.*, 268, 6932-6938.

- 7) Jhee, K.,-H., Yoshimura, T., Esaki, N., Yonaha, K., Soda, K. (1995) Thermostable Ornithine Aminotransferase from *Bacillus* sp. YM-2: Purification and Characterization. *J. Biochem.*, 118, 101-108.
- 8) Yoshimura, T., Nishimura, K., Ito, J., Esaki, N., Kagamiyama, H., Manning, J. M., Soda, K. (1993) Unique Stereospecificity of D-Amino Acid Aminotransferase and Branched-Chain L-Amino Acid Aminotransferase for C-4' Hydrogen transfer of the Coenzyme. *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 3897-3900.
- 9) Soda, K., Yoshimura, T., Esaki, N. (2001) Stereospecificity for the Hydrogen Transfer of Pyridoxal Enzyme Reaction. *The Chemical Record*, 1, 373-384.
- 10) Mehta, P., K., Hale, T., L., Christen, P. (1989) Evolutionary Relationship among Aminotransferases -Tyrosine Aminotransferase, Histidinol-phosphate Aminotransferase, and Aspartate Aminotransferase are Homologous Proteins. *Eur. J. Biochem.*, 186, 249-253.
- 11) Sugio, S., Petsko, G., A., Manning, J., M., Soda, K., Ringe, D. (1995) Crystal-structure of a D-Amino Acid Aminotransferase-How the Protein Controls Stereoselectivity, *Biochemistry*, 34, 9661-9669.
- 12) Choi, S., Esaki, N., Yoshimura, T., Soda, K. (1992) Reaction Mechanism of Glutamate Racemase, a Pyridoxal-independent Amino Racemase, *J. Biochem.*, 112, 139-142.
- 13) Liu, J., -Q., Kurihara, T., Miyagai, N., Esaki, N., Soda, K. (1995) Reaction Mechanism of L-2-Haloacid Dehalogenase of *Pseudomonas* sp. YL, *J. Biol. Chem.*, 270, 18309-18312.
- 14) Nardi-dei, V., Kurihara, T., Park, C., Esaki, N., Soda, K. (1997) Bacterial DL-Haloacid Dehalogenase from *Pseudomonas* sp. Strain 113: Gene Cloning and Structural Comparison with D- and L-2-Haloacid Dehalogenases. *J. Bacteriol.* 179, 4232-4238.
- 15) Slater, J., H. (1994) in *Biochemistry of Microbial Degradation*, ed. by Ratledge C. (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands), pp 379-421.