

耐熱性エステル加水分解酵素 SNSM-87

■ 産生微生物(由来)

- 佐賀(S)、長崎(N)県境の土壌(Soil)から分離された中温菌(Mesophile)である *Klebsiella oxytoca* (> 50 ° C では生育不能)

■ 工業化する上での特徴

- 至適温度 65 ° C で、70 ° C でも活性を維持
- 既知の加水分解酵素と乏しい相同性(めずらしい酵素)
- 組換え大腸菌での大量生産に成功

K. oxytoca



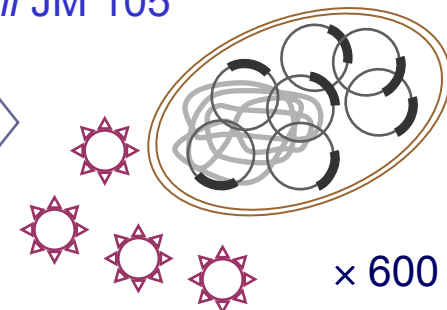
Hydrolase



E. coli JM 105

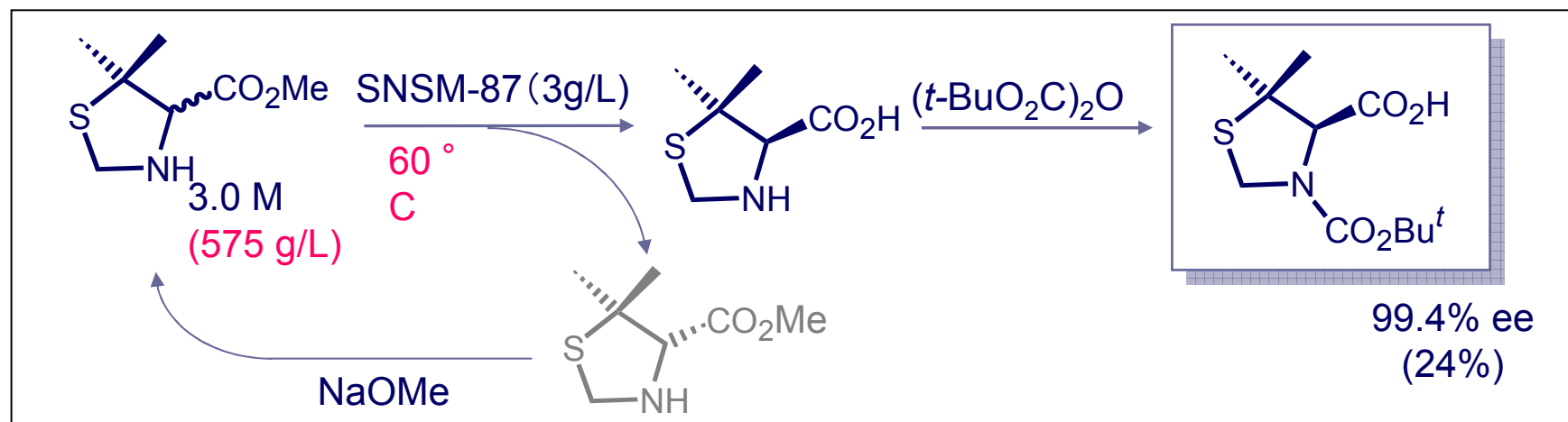
pBluescript SK (+)

pKK 223-3

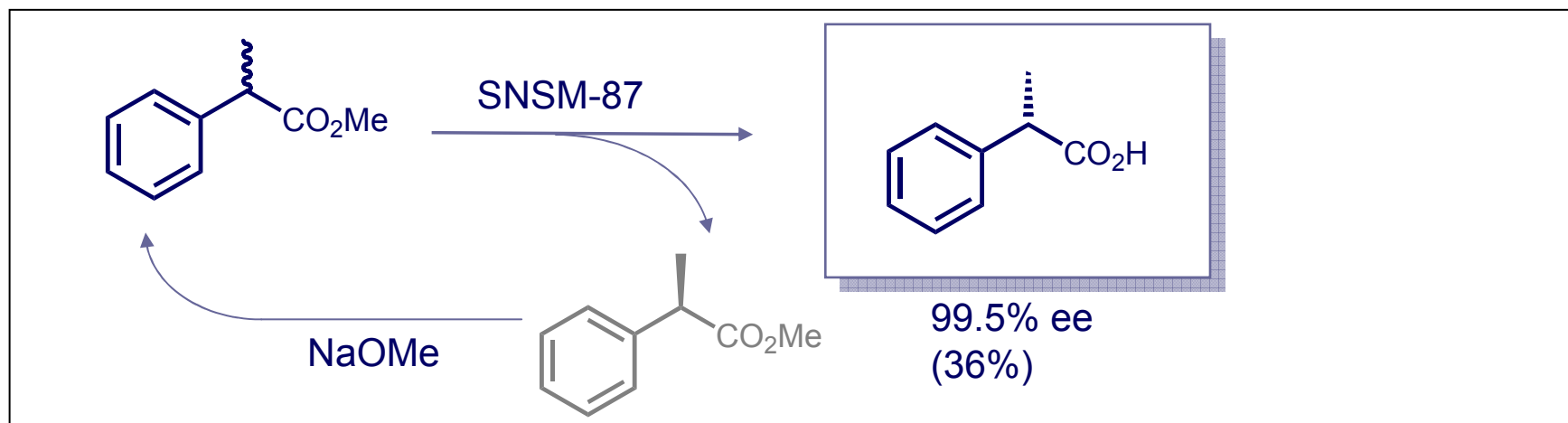


× 600

① SNSM-87 応用例



① SNSM-87 応用例



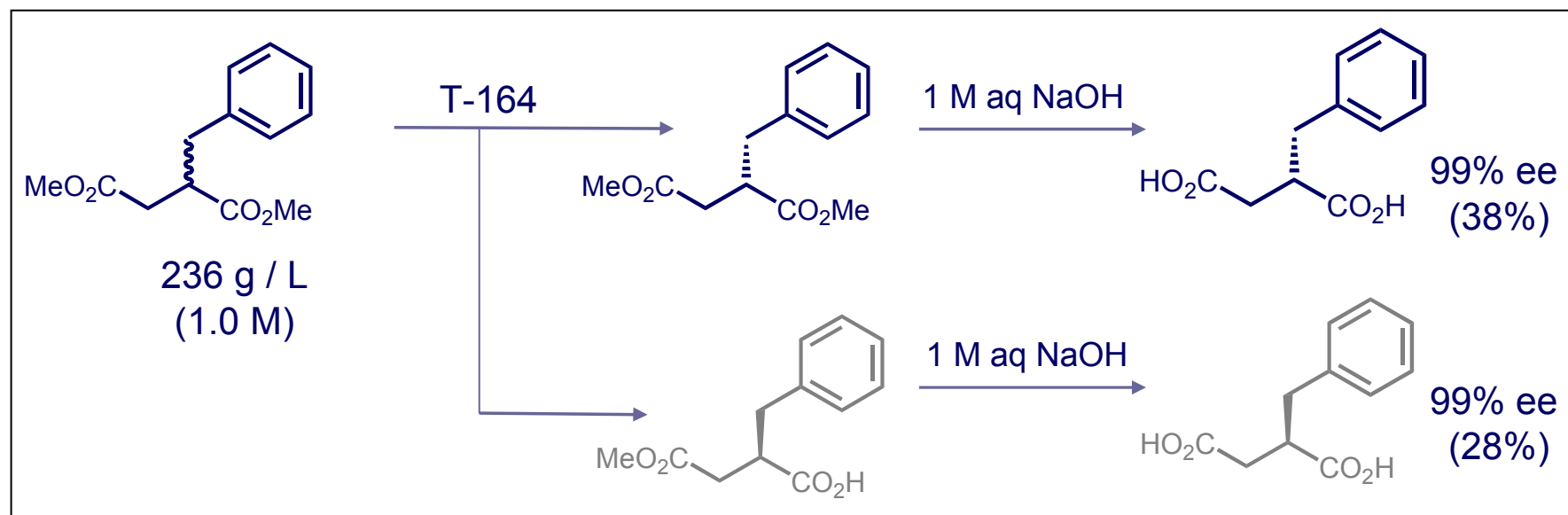
卯津羅淳子、卯津羅健作、三枝待子、神山俊治、橘佳永 「新規エステル分解酵素Aおよびその製法」、特許第3093039号

野本史樹、佐古田昭子、卯津羅健作 「エステル分解酵素遺伝子およびそれを用いるエステル分解酵素の製法」、特開平9-275982

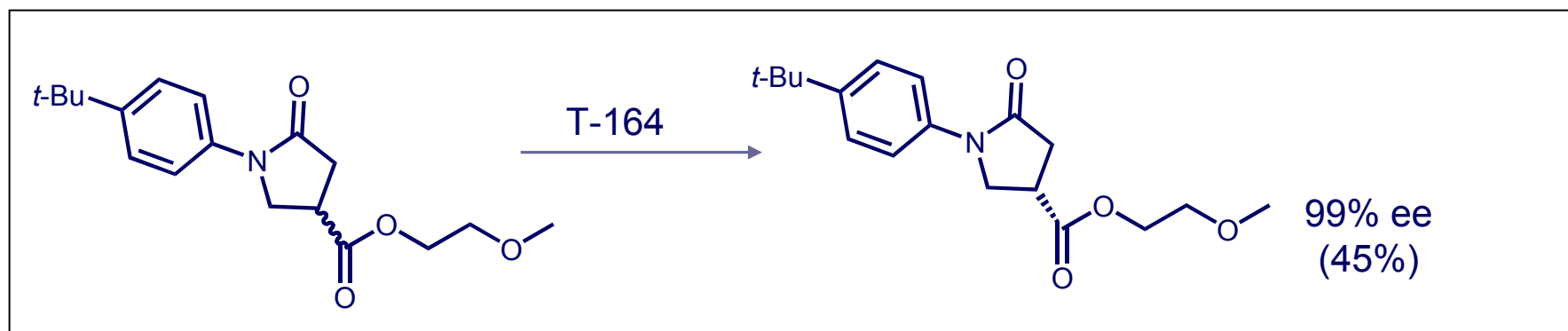
Chikusa, Y.; Hirayama, Y.; Ikunaka, M.; Inoue, T.; Kamiyama, S.; Moriwaki, M.; Nishimoto, Y.; Nomoto, F.; Ogawa, K.; Ohno, T.; Otsuka, K.; Sakota, A. K.; Shirasaka, N.; Uzura, A.; Uzura, K. There's No Industrial Biocatalyst Like Hydrolase: Development of Scalable Enantioselective Processes Using Hydrolytic enzymes. *Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7*, 289–296.

Ikunaka, M.; Matsumoto, J.; Nishimoto, Y. A Concise Synthesis of (2*S*,3*S*)- BocAHPBA and (*R*)-BocDMTA, Chiral Building Blocks for Peptide-mimetic HIV Protease Inhibitors. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 1201–1208.

② 耐熱性、有機溶剤耐性プロテアーゼ T-164 (*Bacillus brevis* 由来)



② 耐熱性、有機溶剤耐性プロテアーゼ T-164 (*Bacillus brevis* 由来)

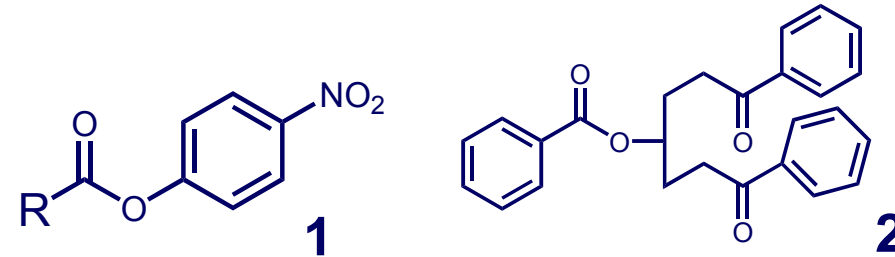


大塚耕太郎、白坂直輝 「熱安定性耐溶媒性エステル分解酵素」、特開平10-248561

光学活性な1-(4-*t*-ブチルフェニル-5-オキシ-3-ピロリジンカルボン酸および/またはその鏡像対掌体エステルの製造方法」、特開平11-113594

Chikusa, Y.; Hirayama, Y.; Ikunaka, M.; Inoue, T.; Kamiyama, S.; Moriwaki, M.; Nishimoto, Y.; Nomoto, F.; Ogawa, K.; Ohno, T.; Otsuka, K.; Sakota, A. K.; Shirasaka, N.; Uzura, A.; Uzura, K. There's No Industrial Biocatalyst Like Hydrolase: Development of Scalable Enantioselective Processes Using Hydrolytic enzymes. *Org. Process Res. Dev.* **2003**, 7, 289–296.

③ かさ高いエステルの加水分解酵素 KM-109 (*Acinetobacter calcoaceticus*由来)



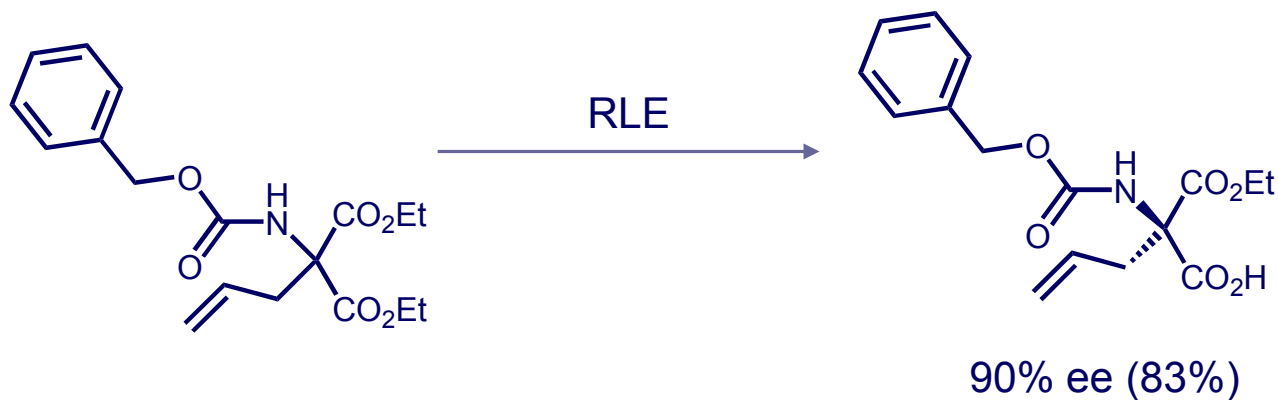
～他のリパーゼとの活性比較～

由来	基質1に対する相対活性 (R=CH ₃ を100とする)		基質2に対する 反応性
	R = <i>n</i> -C ₅ H ₁₁	R = Ph	
<i>Candida rugosa</i>	153	132	-
<i>Pseudomonas</i> sp	689	0	-
<i>Candida antarctica</i>	313	11	-
KM109	1,800	12,000	+

④ 酵母で作るウサギの酵素 RLE

- 微生物由来酵素ではできない加水分解反応を触媒
- 機能的にブタ肝臓エステラーゼ(PLE)と高い相同性
- 酵母へのウサギ遺伝子組換えにより大量生産に成功

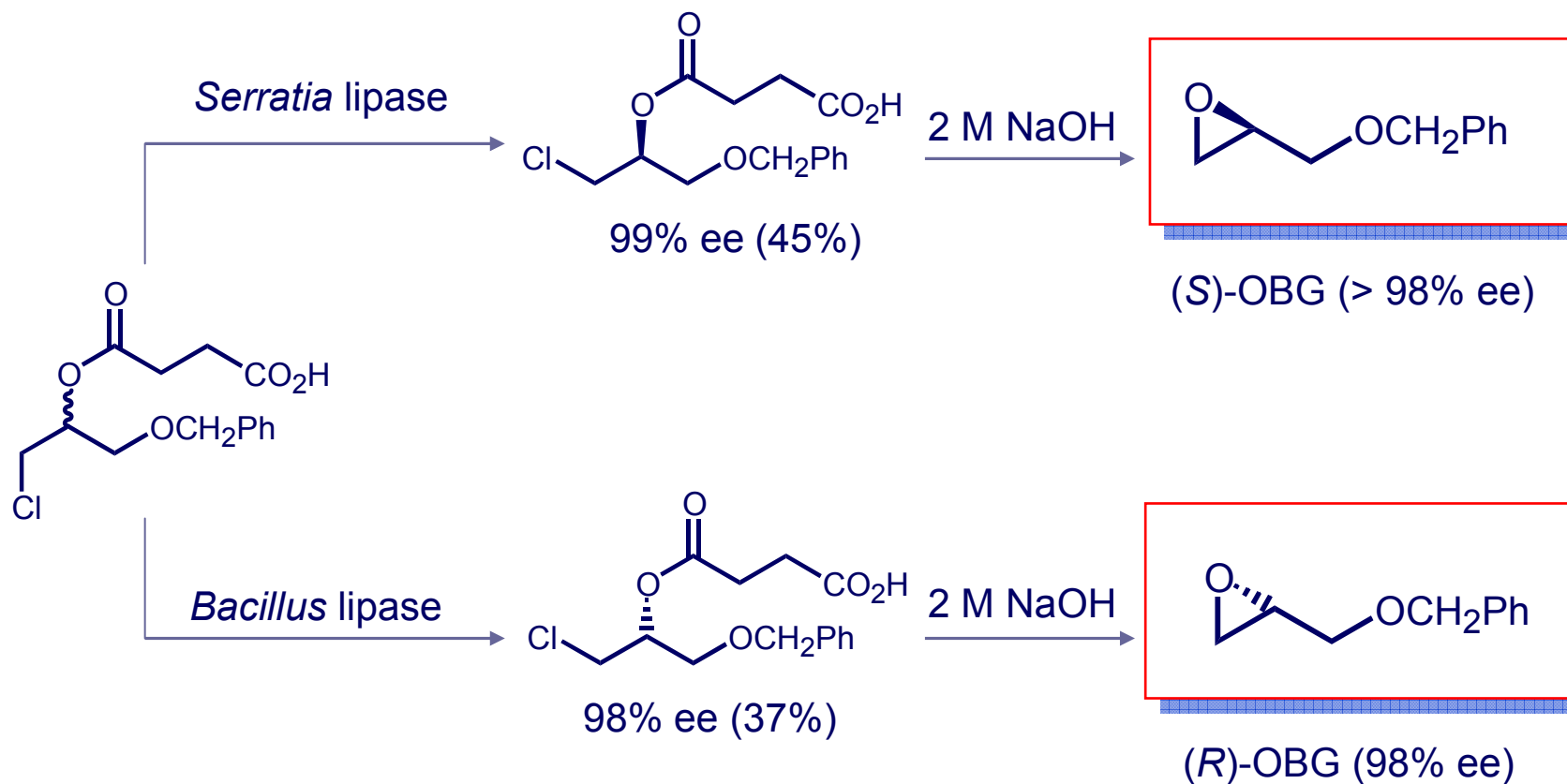
アニマルフリー: ウイルス感染リスク、宗教的問題を回避



(特許)

西本幸史、生中雅也 「ウサギ肝臓由来のエステラーゼを発見する微生物およびそれを用いたウサギ肝臓由来のエステラーゼの製造方法」、
特開2004-180681

⑤ リパーゼによる光学活性ベンジルグリシジルエーテル



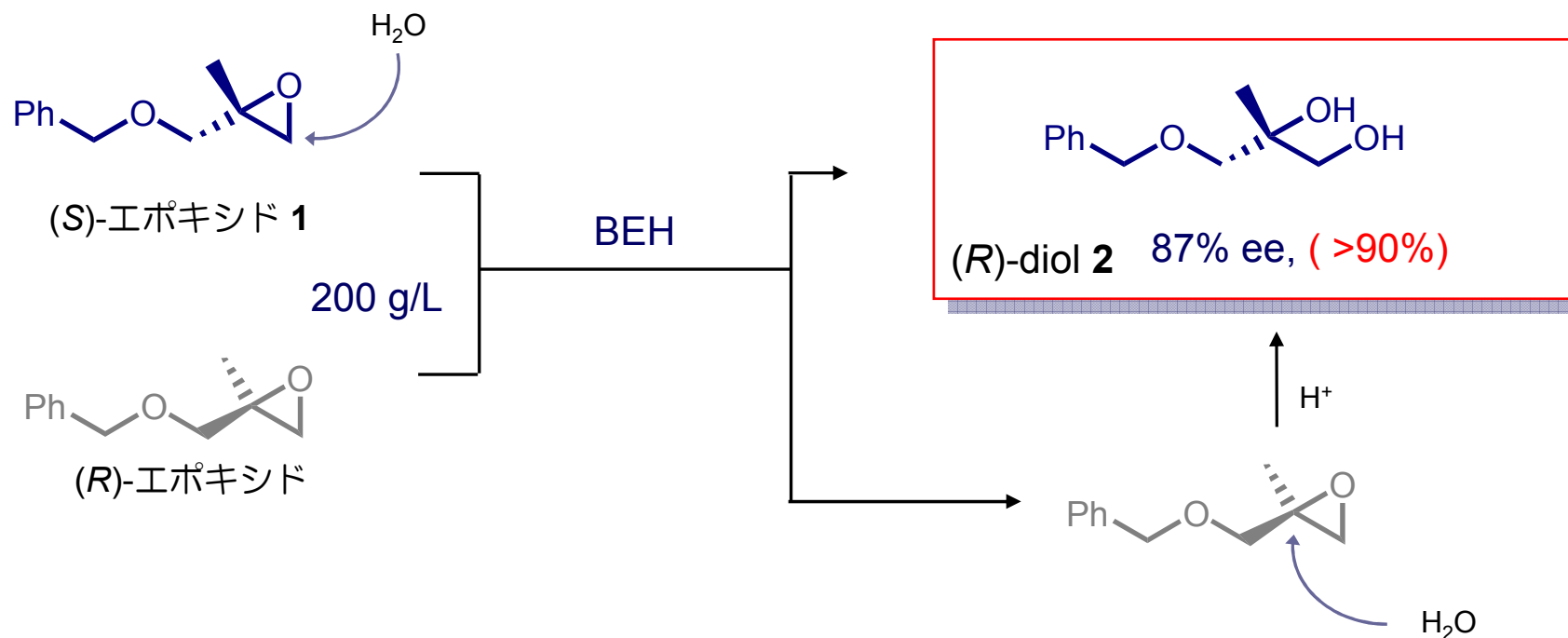
(特許)

大塚耕太郎、山本千絵、梅里知子、神山俊治 「光学活性グリセロール誘導体の製法」、特開平9-140394

野本史樹、野田秀夫、福田秀樹 「光学活性体の製造方法」、特開2004-194559

⑥ 固定化エポキシドヒドロラーゼ BEH (*Bacillus subtilis* 由来)

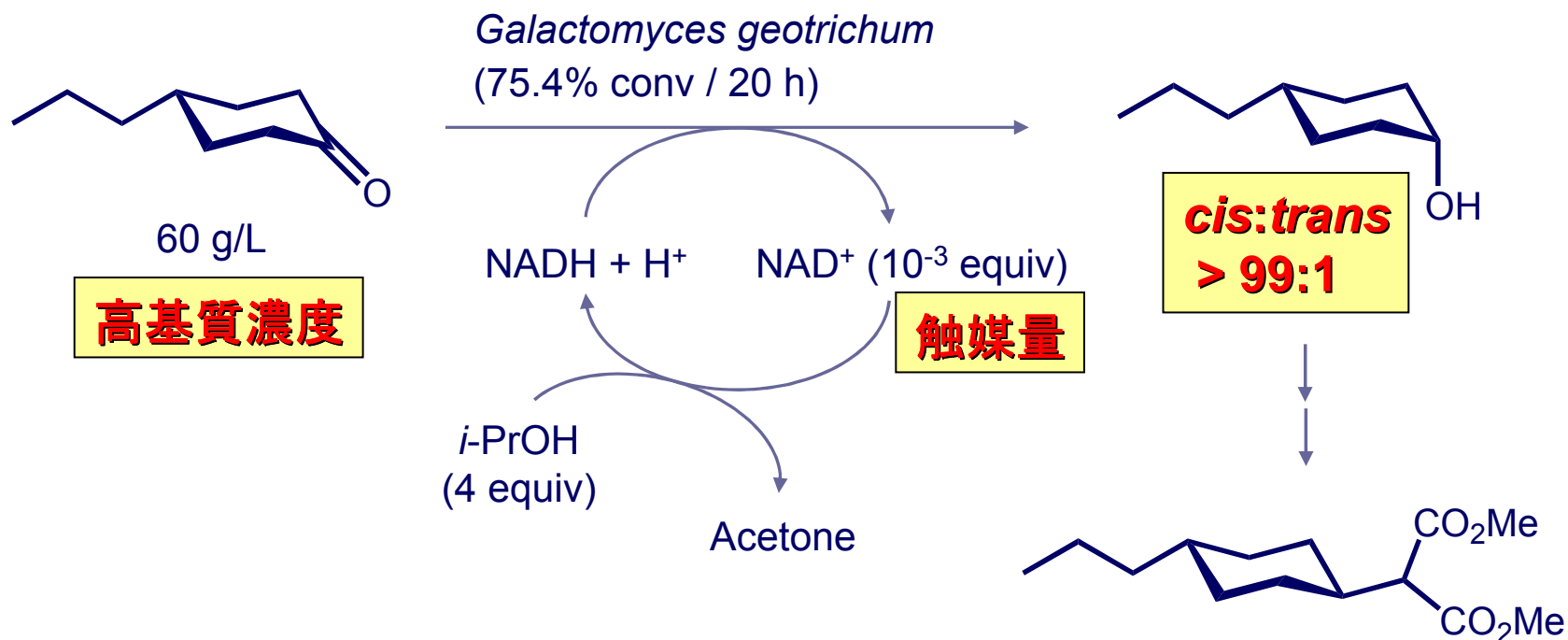
有機合成では困難な3級アルコールを理論収率100%で生成可能な酵素を、遺伝子操作による大量発現、及び固定化に成功



山口仁美、生中雅也 「光学活性な化合物の製造方法」、特願2004-349376

山口仁美、白坂直輝、生中雅也 「バチルス・サチルス由来のエポキシドヒドロラーゼを発現する微生物およびそれを用いたエポキシドヒドロラーゼの製造方法」、特願2004-349377

⑦ ヒドリド還元とは立体選択性が逆の微生物還元



(特許)

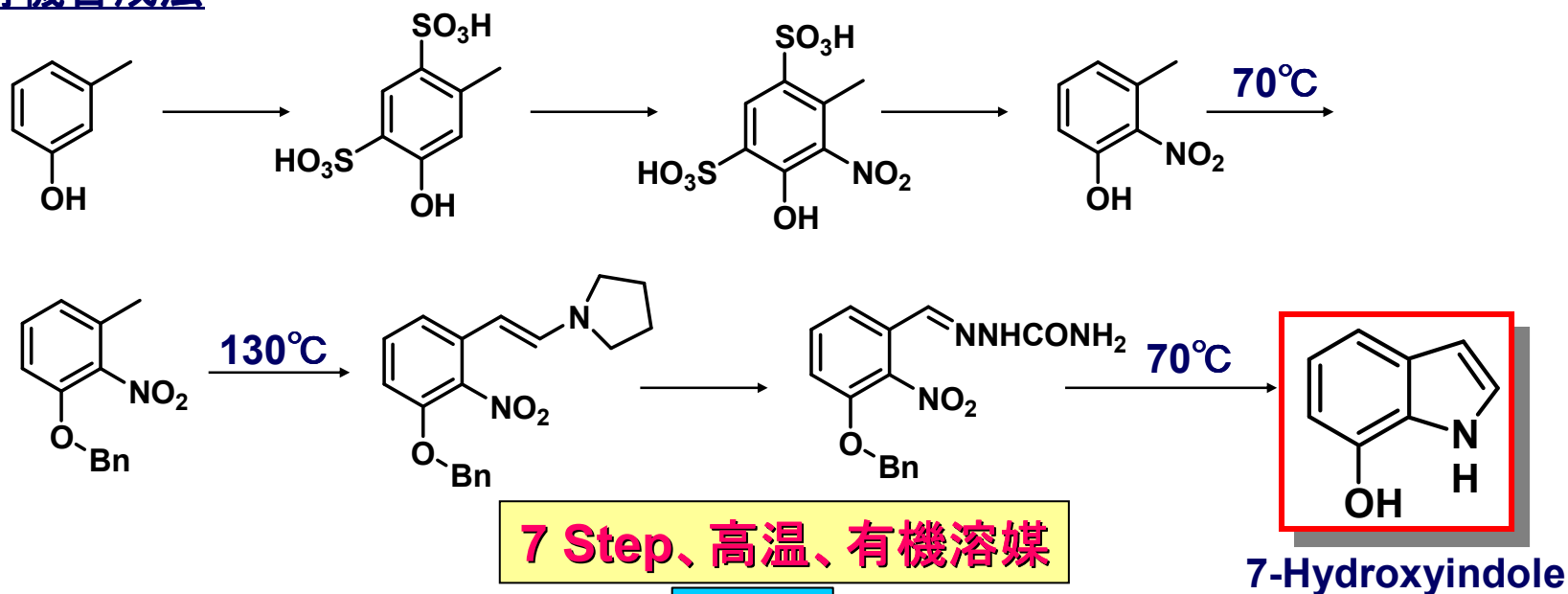
野本史樹、奥田佳朗 「微生物による立体選択的還元を用いたシスおよびトランス4-置換シクロヘキサノールの製造方法」、
特願2003-315247

(論文)

Ikunaka, M.; Moriya, N.; Nomoto, F.; Ohsako, A.; Okuda, Y.; Suenaga, H. The Highly Selective Equatorial Hydride Delivery by Biocatalysis: Chemoenzymatic Synthesis of *trans*-2-(4-Propylcyclohexyl)-1,3-propanediol via *cis*-4-Propyl-cyclohexanol. *Org. Process Res. Dev.* **2004**, 8, 389–395.

⑧ 水酸化酵素を利用した7-ヒドロキシインドールの調整

有機合成法



バイオ法

