

酵素
反応

合成用酵素試薬

特

長

- 有機合成用の酵素触媒
- 不斉反応、光学分割に利用可能
- 天野エンザイム、ロシュ・ダイアグノスティックス、サンヨー食品の酵素触媒を取扱い

試薬の種類

- リパーゼ
 - *アマノリパーゼ
 - *CHIRAZYME
- 動的光学分割試薬
- D-アミノアシラーゼ
- エステラーゼ
- ヘム結合タンパク
 - *SanCat

生体触媒の利用は、「不要なものを出さない」、「不要なものを作らない」というグリーンケミストリーの観点から注目されており、光学活性な化合物を容易に得るための便利な手法の一つです。酵素は化合物の立体を正確に認識し、どちらか一方の立体にしか作用しないという厳密な基質特異性をもっています。過去、酵素は本体がタンパク質であるということから安定的な確保が厳しいこと、反応中の安定性、特に有機溶媒系での反応に問題がありました。近年は、遺伝子工学技術の進歩により、遺伝子組み換えで製造された酵素が安価かつ大量に製造され医薬品中間体合成など産業への応用が加速しています。

酵素反応の特長

- 高い立体選択性を示す
- 有機溶媒系だけではなく、水系の反応に使用可能
- 常温・常圧の温和な条件下で反応が進行
- 固定化することで繰り返し反応に使用可能
- 化学触媒を必要としないため安価、かつ、環境負荷(廃棄物)が軽減

リパーゼ

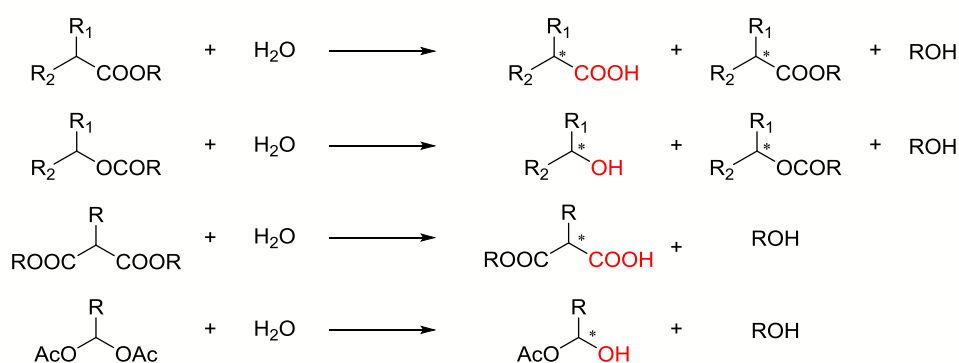
特長

リパーゼにより触媒される不斉反応は、ラセミ体原料の光学分割に利用することが可能です。

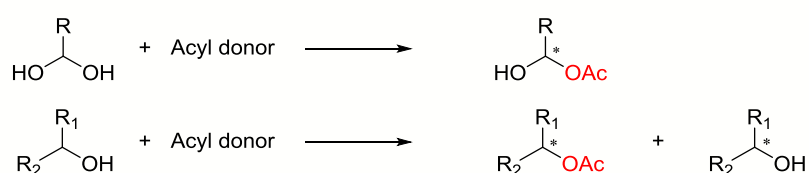
- トリグリセリドをグリセリンと脂肪酸に加水分解
- トリグリセリドのエステル交換反応を触媒
- 種々のエステルの立体特異的加水分解あるいはエステル交換反応を触媒

基本反応

● 加水分解反応



● エステル化反応



天野エンザイム「アマノリパーゼ」






「アマノリパーゼ」の性質

リパーゼがトリグリセリドに作用し脂肪酸を遊離するときの各性質です。

品名	形態	油脂位値特異性	脂肪酸鎖長特異性	立体選択性 報告例の数
Lipase AK Amano	粉末	1,3>2	短中長鎖	☆☆☆☆
Lipase AS Amano	粉末	1,3>>2	短中鎖	☆☆☆
Lipase AYS Amano	粉末	無し	短中長鎖	☆☆☆
Lipase G Amano 50	粉末	無し	中長鎖	☆
Lipase PS Amano SD	粉末	1,3>2	短中長鎖	☆☆☆☆☆
Lipase PS IM Amano, Immobilized on Diatomaceous Earth	固定化酵素	1,3>2	短中長鎖	☆☆☆☆☆

佐藤 幸秀：和光純薬時報, 84 (No.3), 11 (2016).

製品一覧

No.	コードNo.	品名	由来	活性	規格	容量	希望納入 価格(円)
1	125-06541	Lipase AK Amano 	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	≥20,000 FIP units/g	有機合成用	10g	6,500
	50g					18,500	
2	129-06561	Lipase AS Amano 	<i>Aspergillus niger</i>	≥12,000 units/g	有機合成用	10g	6,000
	125-06563					50g	13,000
3	122-06551	Lipase AYS Amano 	<i>Candida cylindracea</i>	≥30,000 units/g	有機合成用	10g	4,500
	128-06553					50g	10,500
4	121-06521	Lipase G Amano 50 	<i>Penicillium camemberti</i>	≥50,000 units/g	有機合成用	10g	7,500
	127-06523					50g	16,000
5	128-06531	Lipase PS Amano SD 	<i>Burkholderia cepacia</i>	≥23,000 FIP units/g	有機合成用	10g	5,500
	124-06533					50g	14,000

固定化触媒

No.	コードNo.	品名	由来	活性	規格	容量	希望納入 価格(円)
6	127-06501	Lipase PS IM Amano, Immobilized on Diatomaceous Earth 	<i>Burkholderia cepacia</i>	≥500 units/g	有機合成用	5g	5,000
	125-06502					25g	12,000



スクリーニングセット

6種類のアマノリパーゼのセットです。
リパーゼのスクリーニングをご検討のお客様はぜひご活用ください。

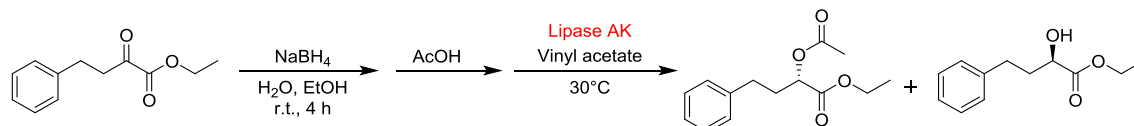


コードNo.	品名	規格	セット内容	希望納入 価格(円)
019-26831	Amano Lipase Screening Set (Contains 6 Lipase) 	有機合成用	製品一覧No. 1, 2, 3, 4, 5, 6 10g×5種類 (No. 1-5) 5g×1種類 (No. 6)	28,000

■ 反応例

● リパーゼ AK アミノを用いた反応例

酵素及び由来: Lipase from *Pseudomonas fluorescens*

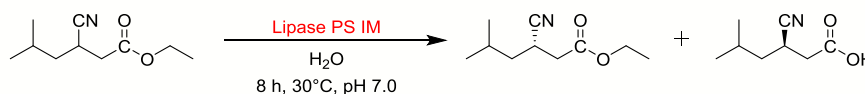


Zhimin, Q. and Renwei, L. : *Advanced Materials Research*, **560**, 333 (2012).

● リパーゼPS IMアミノ、けいそう土固定化を用いた反応例

酵素及び由来: Lipase from *Burkholderia cepacia*

けいそう土を担体としたリパーゼPSアミノSDを固定化した酵素です。固定化されていない粉末を用いる場合、有機溶媒中のエステル化等の反応性にばらつきが生じることがあります。これを解決するために、固定化酵素の使用が優れています。



Yu-Guo, Z. *et al.* : *Tetrahedron: Asymmetry*, **23**, 1517 (2012).

天野エンザイムによる総説はこちら

➤ 和光純薬時報 Vol.71 No.4 (2003.10)

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/journal/docs/jiho714.pdf>

➤ 和光純薬時報 Vol.84 No.3 (2016.07)




<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/journal/docs/jiho843.pdf>

ロシュ・ダイアグノスティックス 「CHIRAZYME」

「CHIRAZYME」の特長

- バルク供給が可能
- 製造向けに固定化などのカスタマイズに対応

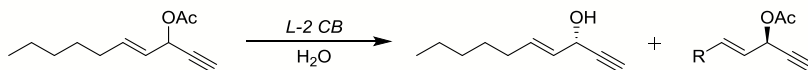
製品一覧

コードNo.	ロシュ コードNo.	品名	由来	形状	容量	希望納入 価格(円)
639-26071	06580238	CHIRAZYME L-2 CB 	Lipase from <i>Candida antarctica</i> , Type B	凍結乾燥 粉体	10g	25,200
636-26081	06580246	CHIRAZYME L-3 CR 	Lipase from <i>Candida cylindracea</i>	凍結乾燥 粉体	5g	27,500
633-26091	06671144	CHIRAZYME L-5 CA 	Lipase from <i>Candida antarctica</i> , Type A	凍結乾燥 粉体	5g	25,200

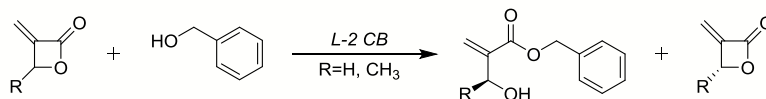
反応例

● CHIRAZYME L-2 CBを用いた反応例

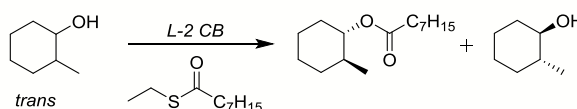
酵素及び由来: Lipase from *Candida antarctica*, Type B



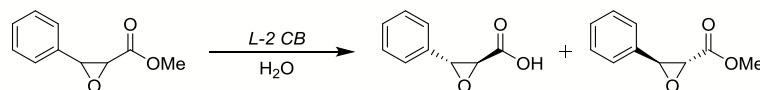
Naoshima, Y. *et al.*: *J. Mol. Catalysis B: Enzymatic*, **4**, 53 (1998).



Saha-Möller, C. R. *et al.*: *Tetrahedron Asymmetry*, **8**, 833 (1997).



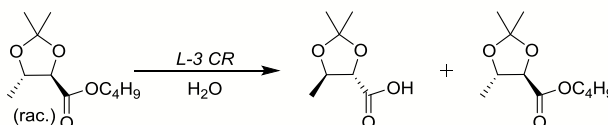
Frykman, H. *et al.*: *Tetrahedron Lett.*, **34**, 1367 (1993).



Vanderdeen, H. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 3801 (1996).

● CHIRAZYME L-3 CRを用いた反応例

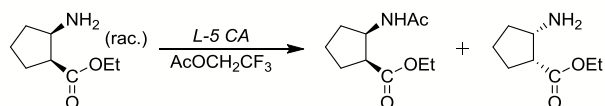
酵素及び由来: Lipase from *Candida cylindracea*



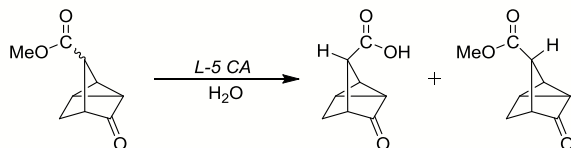
Potti, M. *et al.*: *Tetrahedron Lett.*, **30**, 5319 (1989).

● CHIRAZYME L-5 CAを用いた反応例

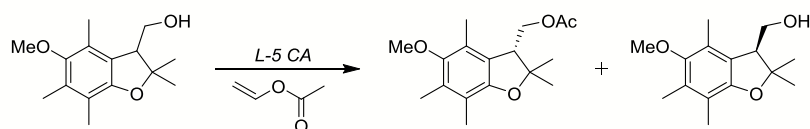
酵素及び由来: Lipase from *Candida antarctica*, Type A



Kanerva, L. T. *et al.*: *Tetrahedron Asymmetry*, **7**, 1789 (1996).



Holla, E. W. *et al.*: *Synthesis*, 823 (1996).



Ayers, T. A. *et al.*: *Tetrahedron Asymmetry*, **8**, 45 (1997).

固定化触媒

■ 特長

- 反応後の酵素回収が可能になり、再使用が可能
- 酵素の安定性が増すため、酵素自体が不安定な環境下でも反応が可能
- 反応後に混在する酵素由来のタンパク質が少なく、分液操作でエマルジョン化が起こりにくい
- エマルジョン化が起こりにくいいため、反応後の処理が簡単になり、収率が上がる
- 酵素由来のタンパク質が廃液中に混在しないため、BOD(生物学的酸素要求量)が上昇しない

■ 製品一覧

コードNo.	ロシュコードNo.	品名	由来	形状	容量	希望納入価格(円)
632-26061	06580220	CHIRAZYME L-2 C4	Immobilized Lipase from <i>Candida antarctica</i> , Type B	有機ポリマー担体 固定化品	5g	23,400
635-40971	08313610001	CHIRAZYME L-2 C5	Immobilized Lipase from <i>Candida antarctica</i> , Type B	セラミック担体 固定化品	1g	28,000
631-40951	08313598001	CHIRAZYME L-3 C5	Immobilized Lipase from <i>Candida cylindracea</i>	セラミック担体 固定化品	1g	28,000
638-40961	08313601001	CHIRAZYME L-5 C5	Immobilized Lipase from <i>Candida antarctica</i> , Type A	セラミック担体 固定化品	1g	28,000

製品一覧のセラミック担体固定化品は、東洋電化工業のトヨナイト®を使用しています。セラミックを用いることで、あらゆる環境下で高い安定性を示します。

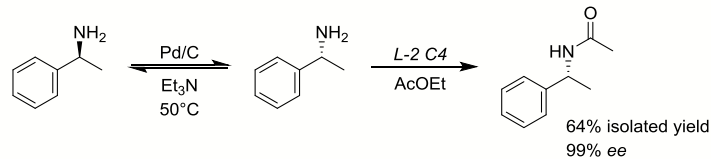
トヨナイト®の特長

- 圧力変形しない
- 酸・アルカリ・有機溶媒等の耐薬品性に優れている
pH2~10で使用可能、120°Cの加熱殺菌が可能

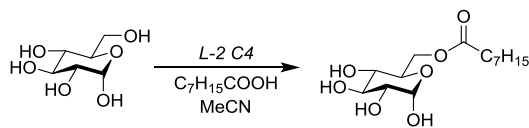
■ 反応例

● CHIRAZYME L-2 C4を用いた反応例

酵素及び由来: Immobilized Lipase from *Candida antarctica*, Type B



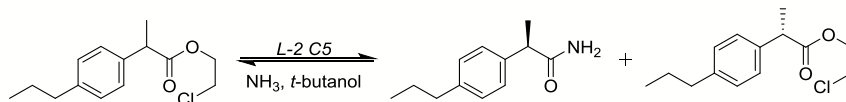
Reetz, M. *et al.*: *CHIMIA*, **50**, 668 (1996).



Ljunger, G. *et al.*: *Biotechnology Lett.*, **16**, 1167 (1996).

● CHIRAZYME L-2 C5を用いた反応例

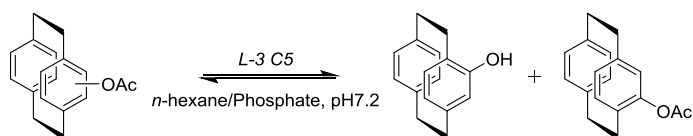
酵素及び由来: Immobilized Lipase from *Candida antarctica*, Type B



Sheldon, R. A. *et al.*: WO 9507359 A1 19950316 (1995)

● CHIRAZYME L-3 C5を用いた反応例

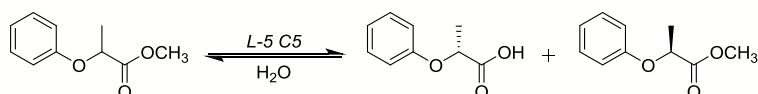
酵素及び由来: Immobilized Lipase from *Candida cylindracea*



Cipiciani, A. *et al.*: *Tetrahedron*, **53**, 11853 (1997).

● CHIRAZYME L-5 C5を用いた反応例

酵素及び由来: Immobilized Lipase from *Candida antarctica*, Type A



動的光学分割試薬 「V-MPS4」

通常、リパーゼを利用した反応は、ラセミ体のうちの片方の鏡像異性体だけを反応させるため、生成物の収率は最大50%です。

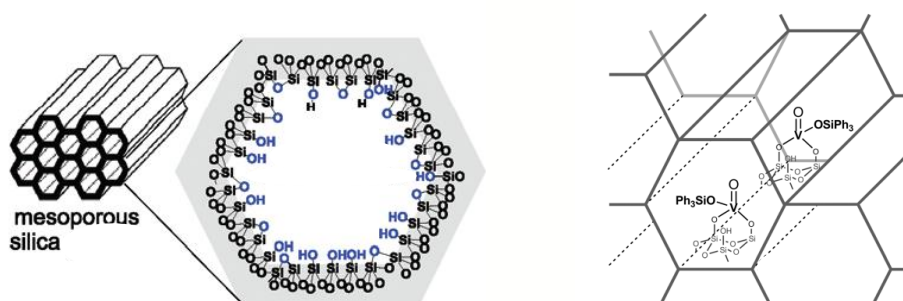
本製品は、メソポーラスシリカにオキソバナジウム化合物を担持した触媒です。アリルアルコールに対しリパーゼと同一の反応系内で用いることで、最大4つの異性体から1つのエナンチオマーのみを得ることができます。

■ 特長

- メソポーラスシリカにオキソバナジウム触媒を担持した固定化触媒
- 本製品をリパーゼ(酵素)と併用するとラセミ体から光学活性体が**定量的**に得られる

Egi M., Sugiyama K., Saneto M., Hanada R., Kato K. and Akai S. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**, 3654 (2013).
Sugiyama K., Oki Y., Kawanishi S., Kato K., Ikawa T., Egi M. and Akai S. : *Catal. Sci. Technol.*, **6**, 5023(2016).

■ 構造

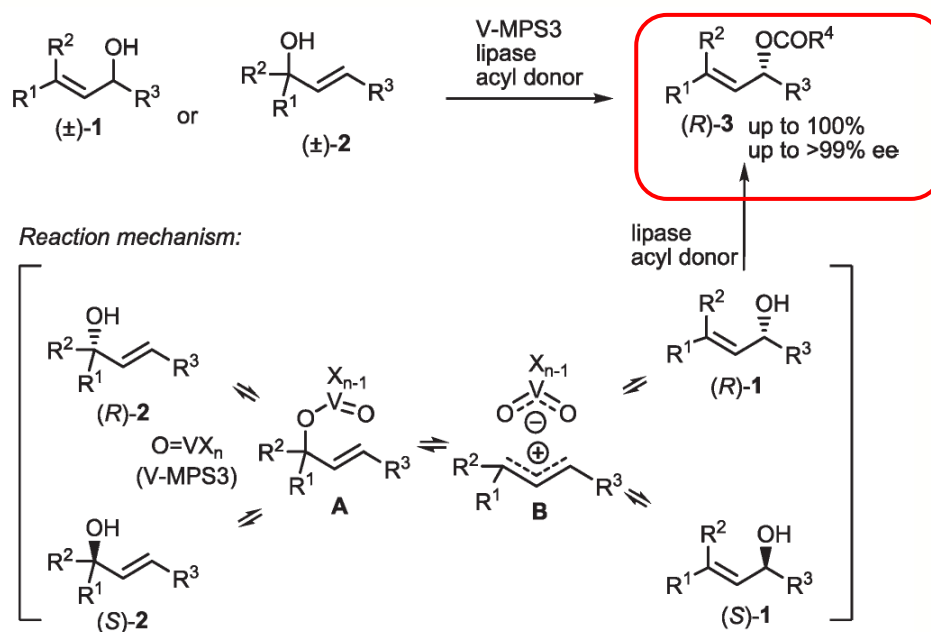


■ 製品一覧

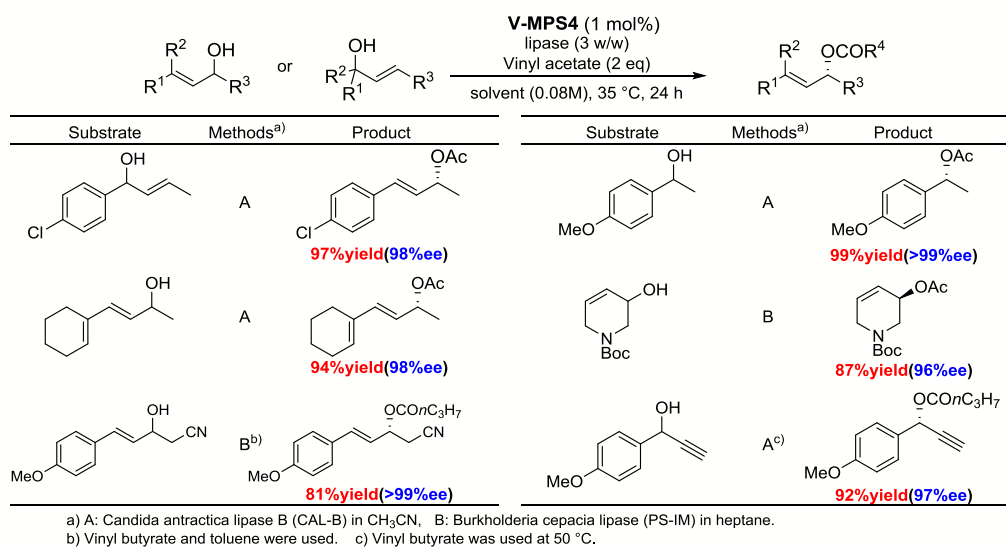
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
228-02341	V-MPS4	有機合成用	1g	16,000
224-02343			5g	50,000

V-MPS4は湿気に対して不安定なため、不活性ガス下でご使用ください(グローブボックス推奨)。

■ 反応メカニズム



反応例1

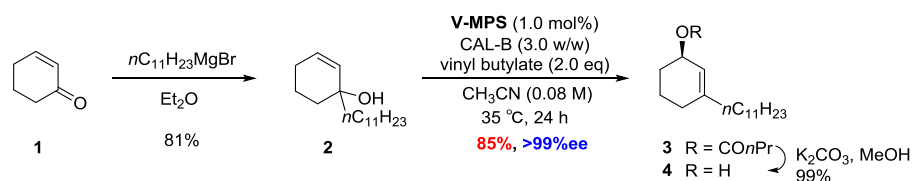


Sugiyama K., Oki Y., Kawanishi S., Kato K., Ikawa T., Egi M. and Akai S. : *Catal. Sci. Technol.*, **6**, 5023 (2016).

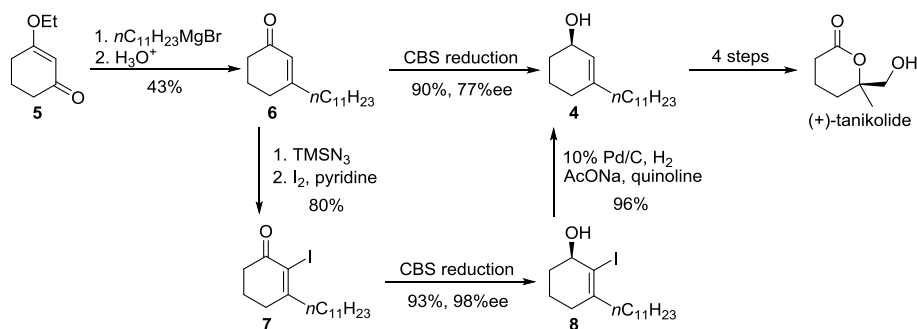
応用例1

● (+)-tanikolide の合成工程

動的光学分割法



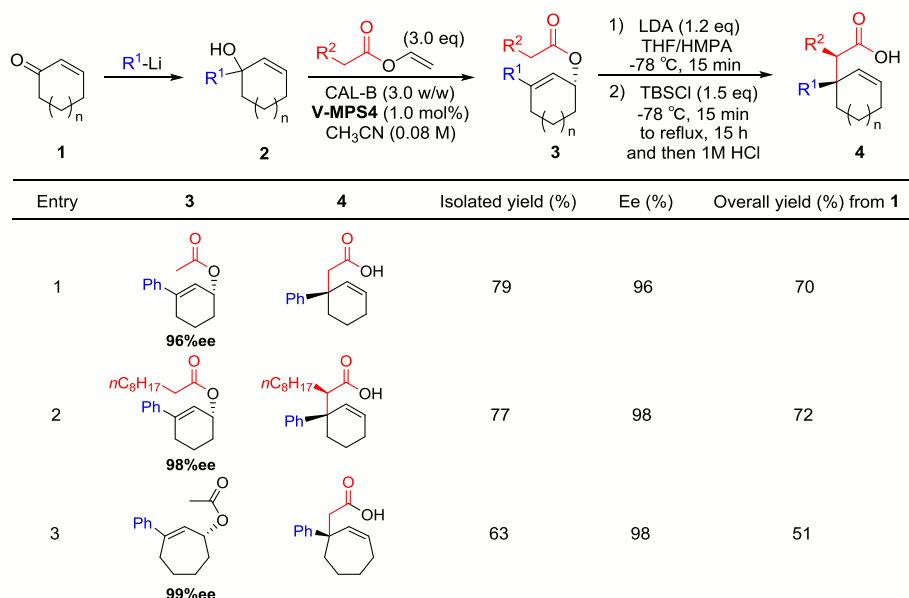
従来の合成法



赤井周司 : 生産と技術, **66**, 57 (2014).

Fujioka H., Matsuda S., Horai M., Fujii E., Morishita M., Nishiguchi N., Hata K. and Kita Y. : *Chem. Eur. J.*, **13**, 5238 (2007).

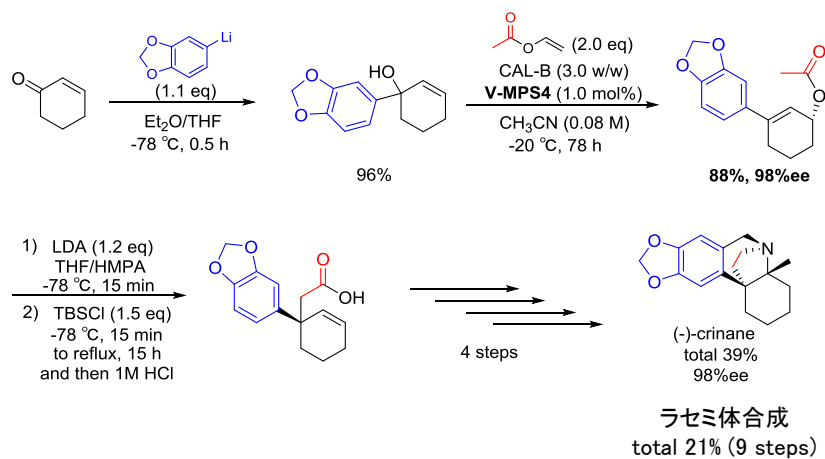
反応例1



Kawanishi S., Sugiyama K., Oki Y. and Akai S. : *Green Chem.*, published online (2016). DOI:10.1039/C6GC01995A

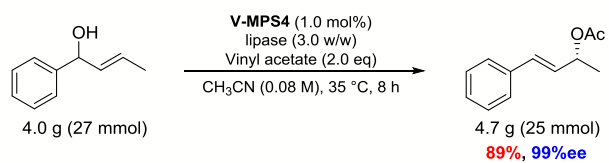
応用例2

● (-)-crinane の全合成



Kawanishi S., Sugiyama K., Oki Y. and Akai S. : *Green Chem.*, published online (2016). DOI:10.1039/C6GC01995A

■ 当社実施例



攪拌速度を速めることで反応時間を短縮することが可能です。

大阪大学大学院 赤井周司教授による総説はこちら

➤ 和光純薬時報 Vol.85 No.1 (2017.01)

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/journal/docs/jiho851.pdf>

D-アミノアシラーゼ

■ 特長

- アミノ酸のアミド結合を加水分解
- D-アミノ酸のみに特異的に反応し、L-アミノ酸には反応しないことから優れた立体選択性を示す

■ 製品一覧

コードNo.	品名	由来	活性	規格	容量	希望納入価格(円)
015-26311	D-Aminoacylase Amano 	<i>E. coli</i>	≥5.0 Munits/g*	有機合成用	10Munits	13,000
011-26313					50Munits	32,000

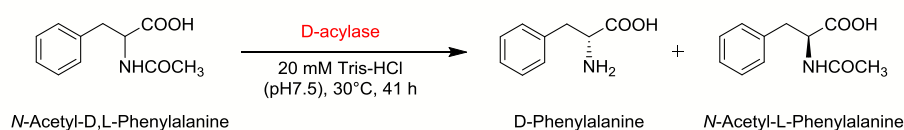
※Munits/gのMはミリオンです。

■ 反応例

- D-アミノアシラーゼを用いた反応例

酵素及び由来: D-Aminoacylase from *E. coli*

D-アミノアシラーゼは、D-アミノ酸にのみ特異的に反応し、L-アミノ酸には反応しないことから優れた立体選択性を示します。直鎖脂肪族アミノ酸だけではなく、芳香族アミノ酸にも作用します。




広瀬 芳彦: 和光純薬時報, 71, 4 (2003).

エステラーゼ

■ 特長

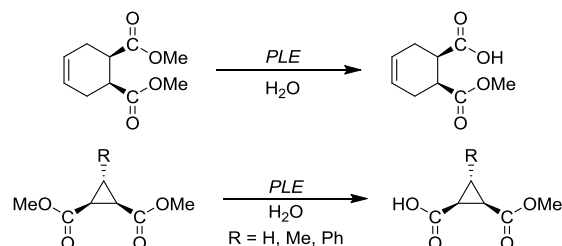
- 加水分解反応を触媒
- エステル化反応は進行しないため使用溶媒の選択が増える

コードNo.	ロシュコードNo.	品名	由来	形状	容量	希望納入価格(円)
632-26103	11681800103	PLE 	Esterase from porcine liver	硫安懸濁液	200KU	12,000

■ 反応例

- PLEを用いた反応例

酵素及び由来: PLE from porcine liver



固定化触媒

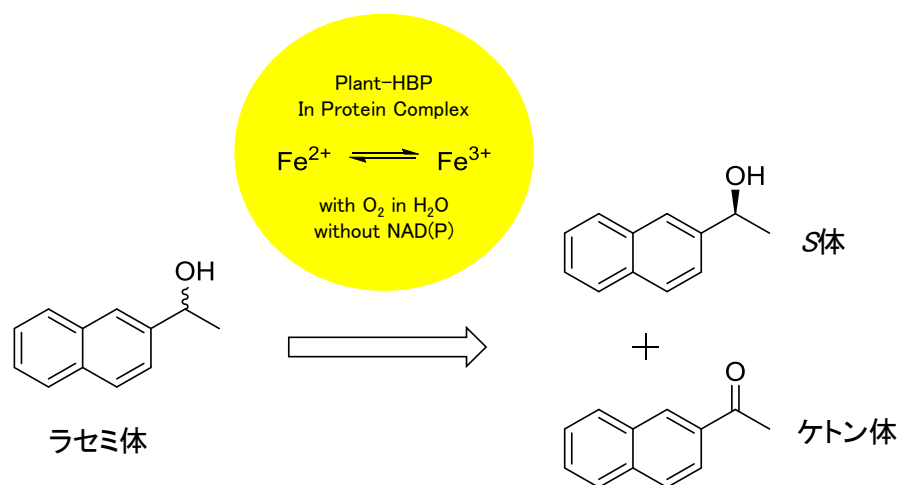
コードNo.	ロシュコードNo.	品名	由来	形状	容量	希望納入価格(円)
634-40941	08313580001	Immobilized PLE C5 	Esterase from porcine liver	セラミック担体固定化品	1g	28,000

サンヨー食品 2級アルコール脱水素酵素「SanCat」

SanCatは2級アルコールのラセミ体のうち、*R*体のみを選択的に酸化する酵素です。水/溶媒中、開放系(40°C)にて効率よく酵素変換されます。

SanCat-*R*はエンドウ豆由来の鉄結合蛋白質であるヘム蛋白質(HBP; Heme-Binding Protein)を用いており、NAD(P)非依存な植物HBPを利用した反応系を可能とします。一方、SanCat-Superは該当ヘム蛋白質が蛍光菌由来HasA(heme-acquisition system A)であることを突き止め、大腸菌に発現させた蛍光菌HasAを更にセラミック担体に固定化した酵素です。

NaBH₄と併用するとラセミ体から光学活性体が定量的に得られる特長があります。



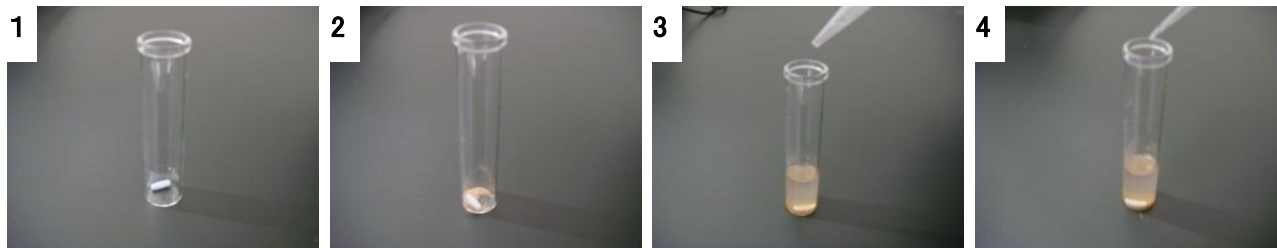
■ 特長

- 2級アルコールのうち、*R*体のみを選択的に酸化
- 水系、有機溶媒で反応が可能
- 常温・常圧の温和な条件下で反応が進行
- 固定化することで繰り返し反応が可能

■ 製品一覧

コードNo.	品名	由来	活性	容量	希望納入価格(円)
350-42331	SanCat-Super	大腸菌発現させたHasA遺伝子	40 units/g	250mg	30,000
355-34211	SanCat- <i>R</i>	エンドウ豆蛋白質	10 units/g	1g	10,000
351-34213				5g	35,000

■ 使用方法



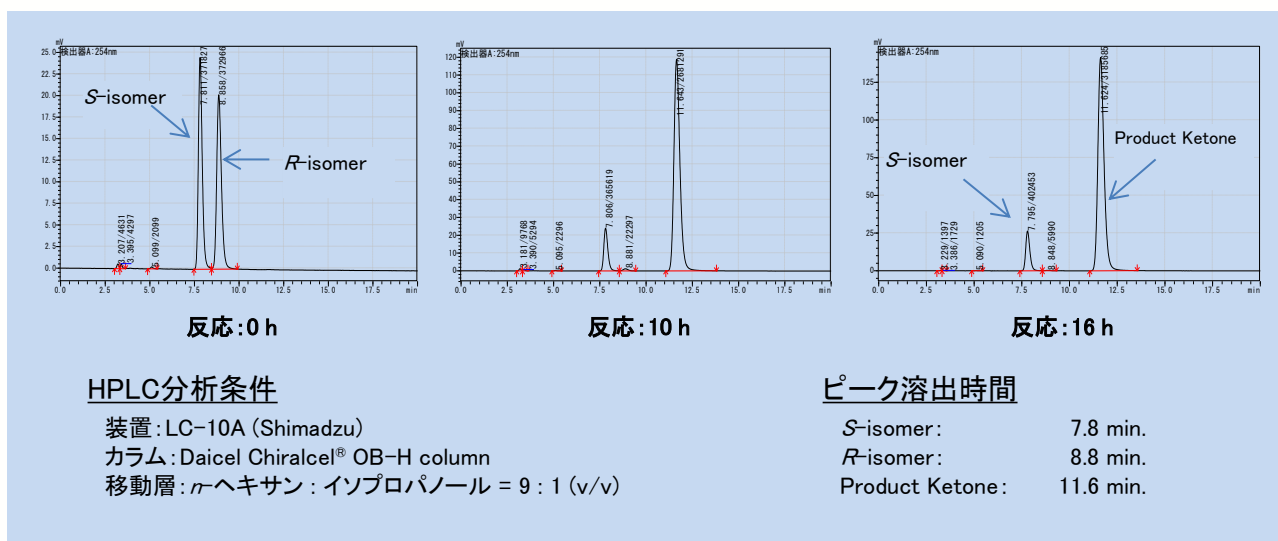
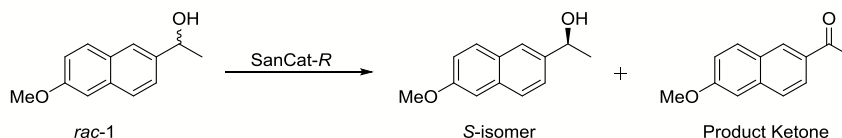
1. 試験管18mm×15mLを用意し、攪拌子を入れる。
2. SanCat-Superを2mg(酵素27 μ g相当量:0.0018 μ M)~5mg試験管に入れる。
3. 50mMグリシンNaOH緩衝液(pH9.0)を4mL加える。
4. 最後に、240mM基質溶液(凡そ40,000ppm)を15 μ L(基質0.6mg相当量:1.2mM)添加し、40°Cで攪拌しながら反応させる。

注意事項

- 基質(1g)を2-プロパノール(25mL)溶解し、240mM:40,000ppmの基質溶液とする。
- 100mMグリシン(7.5g/L)50mLに対し、100mM水酸化ナトリウム(4.0g/L)8.8mLを加え、脱イオン水にて100mLに調整(pH9.0:100mMグリシンNaOH緩衝液(pH9.0))、脱イオン水100mLを加えて50mM緩衝液(200mL)とする。
- 反応後は、ヘキサンなどの有機溶媒にて抽出し、HPLCで反応を追跡する。

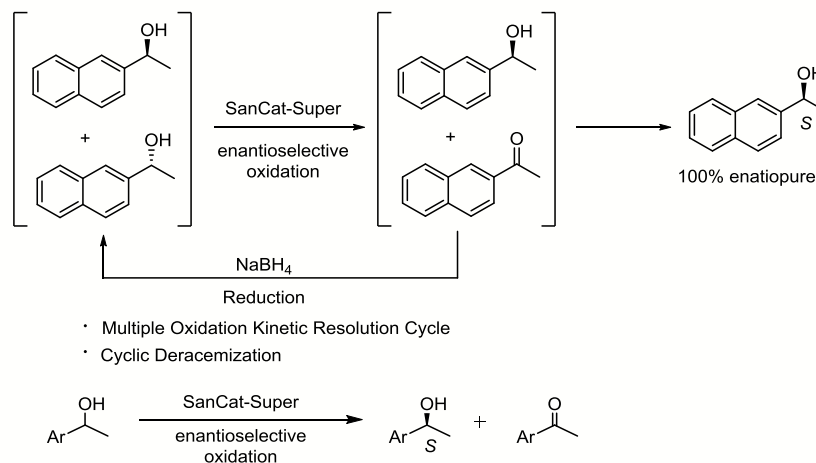
■ 反応例

- SanCat-Rを用いた1-(1-ナフチル)エタノール類の光学分割



■ 反応例

● SanCat-Superの反応イメージと1-フェニルエタノール類の光学分割

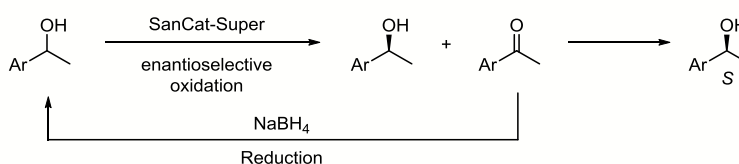


Substrate	Reaction Time		Product			
	Racemic-ArCH(OH)R	Ar	R	(h)	Compound	OP (% ee) ^a
1	6-MeO-2-Np	Me	50	(<i>S</i>)- 1	>99	50
2	2-Np	Me	55	(<i>S</i>)- 2a	>99	50
3a	3-Cl-Ar	Me	50	(<i>S</i>)- 3a	>99	50
4a	3-Br-Ar	Me	55	(<i>S</i>)- 4a	>99	49
5a	3-Me-Ar	Me	60	(<i>S</i>)- 5a	>99	50
6a	3-MeO-Ar	Me	50	(<i>S</i>)- 6a	>99	50
3b	4-Cl-Ar	Me	50	(<i>S</i>)- 3b	>99	50
4b	4-Br-Ar	Me	55	(<i>S</i>)- 4b	>99	50
5b	4-Me-Ar	Me	60	(<i>S</i>)- 5b	>99	49
6b	4-MeO-Ar	Me	50	(<i>S</i>)- 6b	>99	50

^a Optical purity (OP) determined by gas chromatograph. ee: enantiomeric excess; ^b Chemical yield (CY);

^c Immobilized HasA from *Pseudomana fluorescens*.

● SanCat-Superを用いたNaBH₄によるケトンのラセミ化を伴う1-フェニルエタノール類の不斉化



Application of SanCat-Super to cyclic deracemization using NaBH₄.

Deracemization: SanCat-Super (100 mg)/rac-1 (100mg)/50 mM glycine-NaOH Buffer (300 mL)								
	NaBH ₄	Time (h)	% Ketone	% Alcohol ^a	% <i>R</i> -isomer	% <i>S</i> -isomer	Compound	% ee
1st	0	60	50	50	1.6	98.4	(<i>S</i>)- 1 ^b	96.8
					1.2	98.8	(<i>S</i>)- 2 ^c	97.6
2nd	50 mg	80	32	68	1.1	98.9	(<i>S</i>)- 1	97.8
					0.9	99.1	(<i>S</i>)- 2	98.2
3rd	50 mg	90	17	83	0.7	99.3	(<i>S</i>)- 1	98.6
					0.5	99.5	(<i>S</i>)- 2	99.0
4th	50 mg	100	4	96	0.4	99.6	(<i>S</i>)- 1	99.2
					0.2	99.8	(<i>S</i>)- 2	99.6

SanCat-Super-deracemization can be achieved by NaBH₄ addition. ^a Chemical yield (%); ^b 6-MeO-2-Np; ^c 2-Np.

NaBH₄と併用するとラセミ体から光学活性体が**定量的**に得られます。

参考文献

- Kamori, M. *et al.* : *J. Mol. Catal. B Enzym.* **9**, 269 (2000).
Nagaoka, H. : *Catalysts.* **6**, 38 (2016).
Nagaoka, H. : *RSC Adv.* **4**, 16333 (2014).
Nagaoka, H. : *ACS Catal.* **4**, 553 (2014).
Nagaoka, H. : *Dalton Trans.* **44**, 13384 (2015).
Nagaoka, H. *et al.* : *Biotechnol. Prog.*, **28**, 953 (2012).
Egami, H. *et al.* : *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 8940 (2007).
Nagaoka, H. *et al.* : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 1991 (1999).
Nagaoka, H. *et al.* : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 781 (2000).
Nagaoka, H. *et al.* : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 634 (2001).
Nagaoka, H. : *Biotechnol. Prog.*, **19**, 1149 (2003).
Nagaoka, H. : *Biotechnol. Prog.*, **20**, 128 (2004).
Nagaoka, H. : *Biomolecules.* **4**, 41 (2016).

サンヨー食品による総説はこちら

➤ Wako Organic Square Vol.44(2013.06)

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/journal/docs/org44.pdf>

➤ Wako Organic Square Vol.59(2017.03)

<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/journal/docs/org59.pdf>

Ref. …2~10℃保存 F …-20℃保存 80 …-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。
特定 I …特定毒物 I II …毒物 I II III …劇物 毒薬 劇薬 危 …危険物 向精神薬 特麻薬 …特定麻薬向精神薬原料 カルタヘナ …カルタヘナ法
1 …化審法 第一種特定化学物質 2 …化審法 第二種特定化学物質 化兵1 …化学兵器禁止法 第一種指定物質 化兵2 …化学兵器禁止法 第二種指定物質
覚せい剤取締法 …「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。覚
国民保護法 …生物・毒素兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。毒薬等
上記以外の法律及び最新情報は、siyaku.com (<https://www.siyaku.com/>) をご参照下さい。

- 本文に記載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

富士フイルム 和光純薬株式会社

本 社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所
- 中国営業所
- 東海営業所
- 横浜営業所
- 筑波営業所
- 東北営業所
- 北海道営業所



フリーダイヤル 0120-052-099
フリーファックス 0120-052-806
試薬URL : <https://labchem.wako-chem.co.jp>

■ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA
TEL: +1-804-714-1920 FAX: +1-804-271-7791
■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH Fuggerstraße 12, 41468 Neuss, Germany
TEL: +49-2131-311-0 FAX: +49-2131-311-100

Online Catalog: www.e-reagent.com