

## XB115

## バイオ触媒と非水系バイオプロセスの新展開

(ダイセル化学工業) ○松山 彰収\*

バイオ触媒は、化学触媒では困難な選択性の高さという優位性を持って、化学工業のファインケミカル分野で、光学活性化合物のような、より付加価値の高い化学品の製造に利用されてきた。当社はこれまで Carbonyl reductase、 $\alpha$ -keto acid reductase、Secondary alcohol dehydrogenase、 $\alpha$ -keto acid dehydrogenase 等の不斉酸化還元反応や L-Amino acid dehydrogenase、D-Amino acid transaminase、Amine transaminase 等の不斉アミノ化反応を触媒するバイオ触媒、グルコース脱水素酵素、蟻酸脱水素酵素の補酵素を再生するバイオ触媒とそれらを用いたバイオプロセスの開発を行ってきたが、最近、R-1,3-butanediol 等のバイオプロセスによる生産物ばかりでなく、試薬としてバイオ触媒を商品化した。それによって、従来は、研究段階で酵素反応を物質生産検討に用いる場合に、入手しやすい市販のパン酵母による不斉還元反応やリパーゼによる加水分解反応、エステル化反応等に限定されてきたが、今後は、バイオ触媒が手軽に有機合成反応に利用出来るようになり、バイオプロセス開発に貢献すると思われる。

一方、基本的にバイオプロセスはバイオ触媒の安定性の問題から水溶媒反応場の反応が多いので、芳香族化合物のような水溶媒への溶解性の低い化学品が原料や生成物の場合、不均一な反応系で原料の溶解が反応の律速になり、生産性が上げられず、また、精製工程では反応液の脱水濃縮や生成物の有機溶媒による抽出等が必要になるので、エネルギーの大消費と高い生産コストが課題であった。それらを解決するためには、非水系反応場（100%水以外の有機溶媒系、有機溶媒・水二相系、超臨界流体系等と定義）を利用することが必要となる。そこで演者らは平成13年度より、経済産業省、NEDOによる「生物機能を活用した生産プロセスの基盤技術開発」および「微生物機能を活用した高度製造基盤技術開発」プロジェクトに参画することによって、非水系反応場に使用できるバイオ触媒の開発を行ってきた。

有機溶媒中で生育できる、できないという評価ではなく、有機溶媒中で有機合成反応に利用できるという観点から宿主細胞となる微生物のスクリーニングを行った。バイオ触媒として利用するためには、有機溶媒中における細胞構造の維持が最も重要な機能と考え、比較的毒性の強いペンタノールに微生物の細胞を晒した場合において、細胞構造維持の評価をその細胞懸濁液の濁度変化で行った。細菌、酵母等の微生物 200 属 709 種 1477 株を評価したところ、その中で 1183 株はダメージを

受けて濁度が大きく変化するのに対して 294 株は変化が小さいことがわかった。同様の方法で、更に毒性の強いオクタノール、ノナノールによって微生物を絞り込み、最終的に *Kocuria rhizophila* DC2201 を選抜した。図1に示したように、 $-0.8 \sim 7$  までの幅広い範囲の  $\text{Log}P_{ow}$  値を示す 28 種類のアルカン、アルコール、ケトン、エステル類の各有機溶媒に晒した場合においても、比較対照として用いた大腸菌が濁度の大きな変化、減少があるのに対して、DC2201 はほとんど濁度の減少がなく、細胞構造を維持していることを確認した。例えば、酢酸エチルに晒すと、図2に示した写真のように大腸菌は溶菌して水と酢酸エチルの界面がなくなり不溶物が生じるのに対して、DC2201 はほとんど溶菌せずにきれいな界面を示し、大きく挙動が異なる。DC2201 は有機溶媒反応場で利用できるバイオ触媒の宿主細胞として有望である。

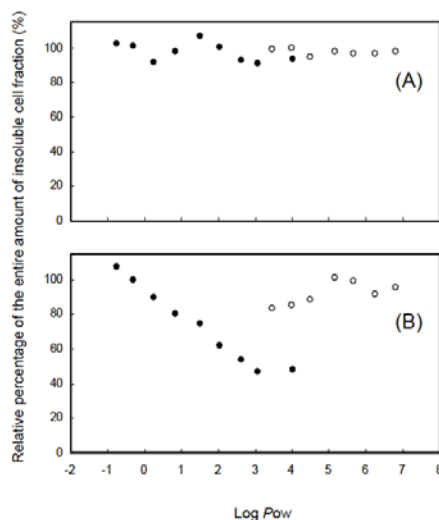


図1 DC2201 と大腸菌の各種有機溶媒に晒した場合の濁度変化 (A:DC2201、B:大腸菌)

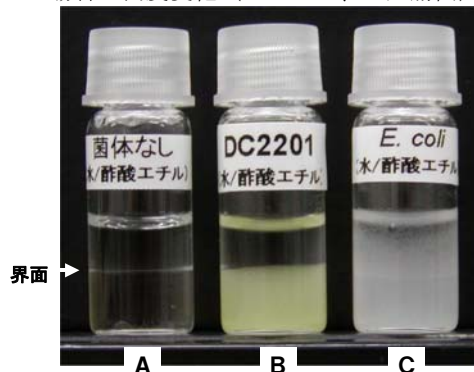


図2 酢酸エチル/水(50/50)液に晒した場合の菌体の状態 (A:菌体なし、B:DC2201、C:大腸菌)

\* 連絡先 ak-matsu@daicel.co.jp