

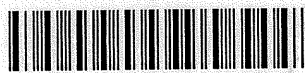
汎用型不斉還元酵素モジュールの開発と
キラルアルコール生産システムへの応用

(研究課題番号 13853009)

平成13年度～平成17年度科学研究費補助金(基盤研究(S))
研究成果報告書

平成18年5月

京都大学図書



1060664821

附属図書館

究代表者 清水 昌
(京都大学農学研究科教授)

はしがき

本研究では、様々な光学活性アルコール類の生産プロセスに利用可能な「汎用型不斉還元酵素モジュール」を開発し、キラルアルコール生産システムに関する研究を推進することを目指している。

汎用型不斉還元酵素モジュールの開発と キラルアルコール生産システムへの応用

(研究課題番号 13853009)

研究総覧

研究代表者：清水 昌 (京都大学・農学研究科・教授)

研究分担者：丸岡 達彦 (京都大学・農学研究科・助教授)

研究分担者：小川 順 (京都大学・農学研究科・助手)

研究分担者：喜多 恵子 (京都大学・農学研究科・教授)

平成13年度～平成17年度科学研究費補助金 (基盤研究 (S))

研究成果報告書

交付決定額 (配分額)

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成13年度	29,000,000	3,700,000	32,700,000
平成14年度	25,700,000	7,710,000	33,410,000
平成15年度	15,700,000	4,710,000	20,410,000
平成16年度	13,400,000	4,020,000	17,420,000
平成17年度	11,100,000	3,300,000	14,400,000
平成18年5月	0,000	0,000	0,000
総計	94,900,000	28,470,000	123,370,000

研究代表者 清水 昌
(京都大学農学研究科教授)

はしがき

本研究では、様々な光学活性アルコール類の生産プロセスに利用可能な「汎用型不斉還元酵素モジュール」の開発を目的に、各種カルボニル還元酵素に関する酵素化学的情報および遺伝子情報をもとに効率的な不斉還元システムの構築を目指して研究を進めた。その結果、所期の目的を達したので本報告書を作成した。

研究組織

研究代表者：清水 昌（京都大学・農学研究科・教授）

研究分担者：片岡道彦（京都大学・農学研究科・助教授）

研究分担者：小川 順（京都大学・農学研究科・助手）

研究分担者：喜多恵子（京都大学・農学研究科・教授）

（研究協力者：長谷川淳三（（株）カネカ）

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 13 年度	29,000,000	8,700,000	37,700,000
平成 14 年度	25,700,000	7,710,000	33,410,000
平成 15 年度	15,700,000	4,710,000	20,410,000
平成 16 年度	13,400,000	4,020,000	17,420,000
平成 17 年度	11,100,000	3,330,000	14,430,000
総計	94,900,000	28,470,000	123,370,000

研究発表

(1) 学会誌等

1. Hidalgo, A.-R. G. D., M. A. Akond, K. Kita, M. Kataoka and S. Shimizu. Isolation and primary structural analysis of two conjugated polyketone reductases from *Candida parapsilosis*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65** (12), 2785-2788 (2001)
2. Kataoka, M., M. Sasaki, A.-R. G. D. Hidalgo, M. Nakano and S. Shimizu. Glycolic acid production using ethylene glycol-oxidizing microorganisms. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65** (10), 2265-2270 (2001)
3. Kizaki, N., Y. Yasohara, J. Hasegawa, M. Wada, M. Kataoka and S. Shimizu. Synthesis of optically pure ethyl (*S*)-4-chloro-3-hydroxybutanoate by *Escherichia coli* transformant cells coexpressing the carbonyl reductase and glucose dehydrogenase genes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **55**, 590-595 (2001)
4. 清水 昌. 微生物生産の将来を嘱望する、「高分子科学とバイオテクノロジーとのキャッチボール -21 世紀における高分子とバイオテクノロジーの融合とその将来-」社団法人高分子学会編、エヌ・ティー・エス、東京、pp. 47-64 (2001)
5. 清水 昌. 生体触媒とバイオプロセス・スーパー生体触媒の探索と開発. 触媒. **43**, 190-195 (2001)
6. Shimizu, S. Vitamins and related compounds: microbial production. *Biotechnology*, vol. 10, Reed, G., Rehm, H.-J., eds., VCH, Weinheim, 320-340 (2001)
7. 清水 昌、小林達彦、片岡道彦、小川 順. アクリルアミド発酵、アデノシルホモシステイン発酵、アデノシルメチオニン発酵、カプロン酸発酵、グリセロール発酵、CoA 発酵、多価不飽和脂肪酸発酵、ニコチンアミド発酵、D-パントラクトン発酵、「発酵ハンドブック」梶倉辰六郎、山田秀明、別府輝彦、左右田健次監修、共立出版、東京、pp. 7-9, 26, 27, 112, 127-128, 161-162, 267-271, 313, 325-326, 660-661 (2001)
8. Yasohara, Y., N. Kizaki, J. Hasegawa, M. Wada, M. Kataoka and S. Shimizu. Stereoselective reduction of alkyl 3-oxobutanoate by carbonyl reductase from *Candida magnoliae*. *Tetrahedron: Asymmetry*, **12**, 1713-1718 (2001)
9. Yoshizumi, A., M. Wada, H. Takagi, S. Shimizu and S. Nakamori. Cloning, sequence analysis, and expression in *Escherichia coli* of the gene encoding monovalent cation-activated Levodione reductase from *Corynebacterium aquaticum* M-13. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65** (4), 830-836 (2001)
10. 本田孝祐、片岡道彦、清水 昌. 化学品の製造に有用な生体触媒の探索と開発. ケミカルエンジニアリング, **47** (5), 345-351 (2002)
11. Kataoka, M., A. Kotaka, A. Hasegawa, M. Wada, A. Yoshizumi, S. Nakamori, S. Shimizu. Old yellow enzyme from *Candida macedoniensis* catalyzes stereospecific reduction of C=C bond of ketoisophorone. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66** (12), 2651-2657 (2002)

12. Ogawa, J., S. Shimizu. Industrial microbial enzymes: their discovery by screening and use in large-scale production of useful chemicals in Japan. *Curr. Opinion Biotechnol.*, **13**, 367-375 (2002)
13. Ogawa, J., W. T. Sulistyaningdyah, H. Tanaka, K. Kano, T. Ikeda, S. Shimizu. Bilirubin dehydrogenase, an enzyme in *Aspergillus ochraceus* IB-3 useful for diagnostic measurement of Bilirubin. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66** (11), 2376-2381 (2002)
14. 清水 昌. 第1章 第4編 4. 物質生産のための生体触媒の探索と開発. 微生物利用の大展開 (今中忠行監修), エヌ・ティー・エス, 東京, pp. 964-969 (2002).
15. 八十原良彦、長谷川淳三、清水 昌: 酵素法による高効率カルボニル不斉還元システムの構築と実用化. バイオサイエンスとインダストリー, **60** (9), 604-605 (2002)
16. Honda, K., M. Kataoka, E. Sakuradani, S. Shimizu. Role of *Acinetobacter calcoaceticus* 3,4-dihydrocoumarin hydrolase in oxidative stress defence against peroxyacids. *Eur. J. Biochem.*, **270**, 486-494 (2003)
17. Kataoka, M., K. Kita, M. Wada, Y. Yasohara, J. Hasagawa, S. Shimizu. Novel bioreduction system for the production of chiral alcohols. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **62** (5-6), 437-445 (2003)
18. 水上 透, 清水 昌: バイオプロセスの構造改革を目指して. バイオサイエンスとインダストリー, **61** (11), 735-738 (2003)
19. 清水 昌. ビタミン研究のブレークスルー: 「パントテン酸」(I) (1) パントテン酸およびコエンザイム A の生合成と製造に関する研究の展開. ビタミン, **77** (2), 95-99 (2003)
20. 清水 昌. 微生物によるビタミン類の生産に関する基盤的研究. ビタミン, **77** (3), 131-145 (2003)
21. Sogabe, S., A. Yoshizumi, T.A. Fukami, Y. Shiratori, S. Shimizu, H. Takagi, S. Nakamori, M. Wada. The crystal structure and stereospecificity of levodione reductase from *Corynebacterium aquaticum* M-13. *J. Biol. Chem.*, **278** (21), 19387-95 (2003)
22. Wada, M., A. Yoshizumi, Y. Noda, M. Kataoka, S. Shimizu, H. Takagi, S. Nakamori. Production of a doubly chiral compound, (4*R*,6*R*)-4-hydroxy-2,2,6-trimethylcyclohexanone, by two-step enzymatic asymmetric reduction. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69** (2), 933-937 (2003)
23. Kataoka, M., A.-R. Delacruz-Hidalgo, M.A. Akond, E. Sakuradani, K. Kita, S. Shimizu. Gene cloning and overexpression of two conjugated polyketone reductases, novel aldo-keto reductase family enzymes, of *Candida parapsilosis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **64** (3), 359-366 (2004)
24. Kataoka, M., A. Kotaka, R. Thiwthong, M. Wada, S. Nakamori, S. Shimizu. Cloning and overexpression of the old yellow enzyme gene of *Candida macedoniensis*, and its application to the production of a chiral compound. *J. Biotechnol.*, **114** (1-2), 1-9 (2004)
25. Ogawa, J., S. Shimizu. Enzymes. Bioprocesses and Biotechnology for Functional

- Foods and Nutraceuticals, ed. by J.-R. Neese, J. Bruce German, Marcel Dekker, New York-Basel, pp.197-205 (2004)
26. 清水 昌. 有用物質生産のための微生物プロセスの開発に関する基盤的研究. 農化誌, **78** (1), 4-13 (2004)
 27. 清水 昌. 第VI部生物工場へのアプローチ (第11章) 微生物工場-暮らしに役立つ微生物の話. 京大人気講義シリーズバイオサイエンスの新戦略-京都大学農学部編-, 丸善, pp.146-160 (2004)
 28. Sulistyningdyah, W.T., J. Ogawa, H. Tanaka, C. Maeda, S. Shimizu. Characterization of alkaliphilic laccase activity in the culture supernatant of *Myrothecium verrucaria* 24G-4 in comparison with bilirubin oxidase. *FEMS Microbiol. Lett.*, **230** (2), 209-214 (2004)
 29. Sulistyningdyah, W.T., J. Ogawa, Q.S. Li, R. Shinkyō, T. Sakaki, K. Inouye, R.D. Schmid, S. Shimizu. Metabolism of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins by cytochrome P450 BM-3 and its mutant. *Biotechnol. Lett.*, **26** (24), 1857-1860 (2004)
 30. Honda, K., H. Tsuboi, T. Minetoki, H. Nose, K. Sakamoto, M. Kataoka, S. Shimizu. Expression of the *Fusarium oxysporum* lactonase gene in *Aspergillus oryzae* -molecular properties of the recombinant enzyme and its application-. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **66** (5), 520-526 (2005)
 31. Ishige, T., K. Honda, S. Shimizu. Whole organism biocatalysis. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **9** (2), 174-180 (2005)
 32. Li, Q.S., J. Ogawa, R.D. Schmid, S. Shimizu. Indole hydroxylation by bacterial cytochrome P450 BM-3 and modulation of activity by cumene hydroperoxide. *Biosci Biotechnol Biochem.*, **69** (2), 293-300 (2005)
 33. Ogawa, J., S. Kishino, A. Ando, S. Sugimoto, K. Mihara, S. Shimizu. Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *J. Biosci. Bioeng.*, **100** (4), 355-364 (2005)
 34. Ogawa, J., S. Shimizu. Screening for Unique Microbial Reactions Useful for Industrial Applications. Handbook of Industrial Biocatalysis, ed. by Ching T. Hou, Taylor & Francis, Boca Raton, pp.2-1~2-21(2005)
 35. Sulistyningdyah, W.T., J. Ogawa, Q.-S. Li, C. Maeda, Y. Yano, R.D. Schmid, S. Shimizu. Hydroxylation activity of P450 BM-3 mutant F87V towards aromatic compounds and its application to the synthesis of hydroquinone derivatives from phenolic compounds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **67** (4), 556-562 (2005).
 36. Kataoka, M., A. Hoshino-Hasegawa, R. Thiwthong, N. Higuchi, T. Ishige, S. Shimizu. Gene cloning of an NADPH-dependent menadione reductase from *Candida macedoniensis*, and its application to chiral alcohol production. *Enzyme Microb. Technol.*, **38**, 944-951 (2006)
 37. 片岡道彦、清水 昌. 旧黄色酵素の再発見: キラルインダストリーへの利用. バイオサイエンスとインダストリー, 印刷中 (2006)
 38. M. Kataoka, Y. Nakamura, N. Urano, T. Ishige, G. Shi, S. Kita, K. Sakamoto, S. Shimizu: A novel NADP⁺-dependent L-1-amino-2-propanol dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* MAK154: A promising enzyme for the production of

- double chiral aminoalcohols. *Lett. Appl. Microbiol.*, in press (2006)
39. Honda, K., T. Ishige, S. Shimizu. Microbial and enzymatic processes for the production of chiral compounds. *Biocatalysis in the Pharmaceutical and Biotechnological Industries* (ed by R.T. Patel), Marcel Dekker, New York, in press (2006)

(2) 口頭発表

1. 中村幸宏、片岡道彦、櫻谷英治、北 伸二、津崎和也、坂本恵司、森川忠則、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* MAK154 からの amino-alcohol dehydrogenase 遺伝子のクローニングと大腸菌での発現. 平成 13 年度日本生物工学会大会, 平成 13 年 9 月
2. 本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: *Acinetobacter calcoaceticus* F46 由来 3,4-dihydrocoumarin hydrolase による過酢酸の分解. 平成 13 年度日本生物工学会大会, 平成 13 年 9 月
3. A.-R. G. D. Hidalgo, M. A. Akond, 櫻谷英治、片岡道彦、清水 昌: Molecular cloning of the conjugated polyketone reductase genes of *Candida parapsilosis*. 日本農芸化学会 2001 年度関西・西日本・中四国支部合同大会, 平成 13 年 10 月
4. 本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: *Acinetobacter calcoaceticus* F46 の生産する Dihydrocoumarin hydrolase の機能解析と応用. 酵素工学会第 46 回講演会, 平成 13 年 10 月
5. 清水 昌、片岡道彦: 補酵素再生系と共役させたカルボニル還元酵素を用いる汎用型不斉還元システムの構築とキラルアルコール合成への利用. ビタミン B 研究委員会第 385 回会議, 平成 13 年 12 月
6. M. Kataoka, K. Mori, H. Kawabata, S. Shimizu: Alteration of stereospecificity of L-allo-threonine aldolase of *Aeromonas jandaei*. 3rd International Symposium on Vitamin B6, PQQ, Carbonyl Catalysis and Quinoproteins, 平成 14 年 4 月
7. 片岡道彦、小高敦史、長谷川晶子、清水 昌: *Candida* 属酵母由来の旧黄色酵素はエノン二重結合を不斉還元する. 日本ビタミン学会第 54 回大会, 平成 14 年 4 月
8. S. Shimizu, M. Kataoka, K. Honda: Lactonases, lipase-like enzymes, from microorganisms: Their properties and application to the synthesis of chiral compounds. 93rd AOCS Annual Meeting & Expo, 平成 14 年 5 月
9. 坂本恵司、和田浩一、北 伸二、森川忠則、片岡道彦、清水 昌: 新酵素法による D-パントラクトンの工業生産: 酵素工学会第 47 回講演会, 平成 14 年 5 月
10. S. Shimizu, M. Kataoka: Construction of a novel bioreduction system for large-scale production of chiral alcohols. 9th International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms, 平成 14 年 7 月
11. M. Wada, A. Yoshizumi, M. Kataoka, S. Shimizu, S. Nakamori: Production of optically active alcohol using levodione reductase and old yellow enzyme. 9th

International Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms, 平成 14 年 7 月

12. S. Shimizu, M. Kataoka: A novel Biocatalytic reduction system for large-scale production of chiral alcohols. Biocat 2002, 平成 14 年 7 月
13. K. Honda, M. Kataoka, S. Shimizu: Functional analysis and application of a novel lactonase, dihydrocoumarin hydrolase from *Acinetobacter calcoaceticus* F46. Biocat 2002, 平成 14 年 7 月
14. M. Kataoka, S. Shimizu: Structural analysis and application of two conjugated polyketone reductases of *Candida parapsilosis*. The Seventh Japan-China Joint Symposium on Enzyme Engineering, 平成 14 年 9 月
15. J. Hasegawa, Y. Yasohara, N. Kizaki, S. Takahashi, M. Wada, M. Kataoka, S. Shimizu: Application of an enzymatic reduction system to ethyl (*S*)-4-chloro-3-hydroxybutyrate production. The Seventh Japan-China Joint Symposium on Enzyme Engineering, 平成 14 年 9 月
16. 小高敦史、長谷川晶子、片岡道彦、和田 大、吉住あゆみ、中森 茂、清水 昌: 酵母の Old Yellow Enzyme の諸性質と不斉還元反応への利用. 日本農芸化学会 2002 年度関西支部大会, 平成 14 年 10 月
17. 小高敦史、片岡道彦、櫻谷英治、和田 大、吉住あゆみ、中森 茂、清水 昌: *Candida macedoniensis* の old yellow enzyme 遺伝子のクローニング. 平成 14 年度日本生物工学会大会, 平成 14 年 10 月
18. 片岡道彦、長谷川晶子、清水 昌: *Candida macedoniensis* AKU4588 由来の carbonyl reductase 遺伝子のクローニング. 平成 14 年度日本生物工学会大会, 平成 14 年 10 月
19. J. Hasegawa, Y. Yasohara, N. Kizaki, S. Takahashi, M. Wada, M. Kataoka, S. Shimizu: Application of an enzymatic reduction system to ethyl (*S*)-4-chloro-3-hydroxybutyrate production. The 8th Japanese-Swiss Joint Meeting on Bioprocess Development, 平成 14 年 11 月
20. 片岡道彦: 微生物の生産する β -ヒドロキシ- α -アミノ酸アルドラーゼの立体選択性改変と構造機能解析. 第 28 回日本応用酵素協会研究発表会, 平成 14 年 11 月
21. 清水 昌、片岡道彦、和田 大: 不斉還元触媒としての Old Yellow Enzyme. ビタミン B 研究委員会第 390 回会議, 平成 14 年 12 月
22. 長谷川晶子、小高敦史、片岡道彦、清水 昌: *Candida macedoniensis* 由来の 2 種の ketoisophorone reductase に関する研究. 日本農芸化学会 2003 年度大会, 平成 15 年 3 月
23. 森 考司、斎藤英樹、片岡道彦、清水 昌: L-*allo*-Threonine aldolase の立体選択性改変と変異酵素の解析. 日本農芸化学会 2003 年度大会, 平成 15 年 3 月
24. 本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: *Fusarium oxysporum* 由来ラクトナーゼ遺伝子の麹菌内での発現と組換え酵素の解析および DL-パントラクトン不斉加水分解への応用. 日本農芸化学会 2003 年度大会, 平成 15 年 3 月
25. 清水 昌、片岡道彦、和田 大: 一価カチオンで活性化される NADH-依存性 Levodione Reductase: 諸性質の解明と 4R,6R-actinol 生産への利用. ビタミン B 研究委員会第 392 回会議, 平成 15 年 5 月

26. 片岡道彦、小高敦史、長谷川晶子、清水 昌: 酵母由来旧黄色酵素遺伝子の大量発現および組換え菌によるエノン化合物の不斉還元. 日本ビタミン学会第55回大会, 平成15年5月
27. K. Honda, E. Sakuradani, M. Kataoka, S. Shimizu: Expression of *Fusarium oxysporum* lactonase gene in *Aspergillus oryzae*. The 6th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations, 平成15年7月
28. M. Kataoka, A. Kotaka, M. Wada, S. Nakamori, S. Shimizu: Two novel reductases catalyzing the stereospecific reduction of C=C and C=O bonds. The 6th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations, 平成15年7月
29. 本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: *Fusarium oxysporum* 由来ラクトナーゼの *Acremonium chrysogenum* による分泌生産. 平成15年度日本生物工学会大会, 平成15年9月
30. M. Kataoka, R. Thiwthong, A. Iwasaki, H. Watanabe, J. Hasegawa, K. Isobe, S. Shimizu: Purification and characterization of a novel aldehyde oxidase from *Pseudomonas* sp. MX-058. 日本農芸化学会2003年度関西・中部支部合同大会, 平成15年10月
31. 片岡道彦: 工業用触媒として期待される「ラクトナーゼ」の新機能開発. 第29回日本応用酵素協会研究発表会, 平成15年11月
32. 本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: *Acinetobacter calcoaceticus* の生産する芳香族ラクトン加水分解酵素. 第2回脂質工学研究部会講演会, 平成15年12月
33. S. Shimizu, M. Kataoka: Two novel reductases catalyzing the stereospecific reduction of C=C and C=O bonds, and their application. Italy-Japan Symposium -New Trends in Enzyme Science and Technology-, 平成15年12月
34. M. Kataoka: Lactonases and carbonyl reductases useful for large-scale production of chiral alcohols. BioCat 2003, 平成15年12月
35. 片岡道彦: 2つのキラル中心を持つ化合物の酵素的合成. 21世紀COE第1回産学官ミニシンポジウム, 平成16年2月
36. 片岡道彦: キラル化合物生産のための微生物酵素の探索と機能開発. 21世紀COE国際シンポジウム「京大農学研究科における微生物機能の開発研究」, 平成16年3月
37. 松永亜希子、本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: *Pseudomonas* sp. 3-1株由来(R)- δ -decanolactone 加水分解酵素の精製とその諸性質の解明. 日本農芸化学会2004年度大会, 平成16年3月
38. 本田孝祐、野崎晋也、片岡道彦、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* 由来のFMN依存性L-パントラクトンデヒドロゲナーゼ遺伝子のクローニングと大腸菌における発現系の構築. 日本農芸化学会2004年度大会, 平成16年3月
39. 片岡道彦、岡 哲大、浦野信行、M. A. Akond、清水 昌: *Mucror ambiguus* 由来のNADPH依存性共役ポリケトン還元酵素の構造解析と遺伝子クローニング. 日本農芸化学会2004年度大会, 平成16年3月
40. 石毛たける、浦野信行、福井聡子、北 伸二、津崎和也、坂本恵司、森川忠則、片岡道彦、清水 昌: 補酵素再生系導入によるd- ψ -ephedrine高効率生産株の構築. 日本農芸化学会2004年度大会, 平成16年3月
41. 石毛たける、福井聡子、浦野信行、北 伸二、津崎和也、坂本恵司、森川忠

- 則、片岡道彦、清水 昌: Amino-alcohol dehydrogenase および補酵素再生系酵素を共発現させた組み換え大腸菌を利用する *d*- ψ -ephedrine の生産株. 日本農芸化学会 2004 年度大会, 平成 16 年 3 月
42. R. Thiwthong, M. Kataoka, A. Kotaka, M. Wada, S. Nakamori, S. Shimizu: Production of doubly chiral compound by two-step enzymatic asymmetric reduction using *Escherichia coli* transformants. 日本農芸化学会 2004 年度大会, 平成 16 年 3 月
43. 和田 大、片岡道彦、清水 昌、横田 篤: Levodione reductase の *Corynebacterium glutamicum* 中での発現と立体選択性. 日本農芸化学会 2004 年度大会, 平成 16 年 3 月
44. 本田孝祐、片岡道彦、篠原 信、小林達彦、清水 昌: *Agrobacterium tumefaciens* 由来 L-パントラクトン加水分解酵素遺伝子の発現系の構築とその応用. 日本農芸化学会 2004 年度大会, 平成 16 年 3 月
45. M. Kataoka, R. Thiwthong, M. Wada, S. Nakamori, S. Shimizu: Production of doubly chiral compound by microbial two-step asymmetric reduction. biocat 2004, 平成 16 年 8 月
46. T. Ishige, N. Urano, S. Fukui, M. Kataoka, S. Kita, K. Sakamoto, S. Shimizu: Microbial production of optically active alcohols. biocat 2004, 平成 16 年 8 月
47. S. Shimizu, M. Kataoka, K. Honda: Microbial Lactonases: Screening and application to the large-scale production of chiral alcohols. biocat 2004, 平成 16 年 8 月
48. R. Thiwthong, M. Kataoka, M. Wada, S. Nakamori, S. Shimizu: Unique property of levodione reductase overexpressed in *Escherichia coli* cells: Inversion of stereospecificity in asymmetric reduction reaction. 平成 16 年度日本生物工学会大会, 平成 16 年 9 月
49. 石毛たける、福井聡子、浦野信行、北 伸二、津崎和也、坂本恵司、森川忠則、片岡道彦、清水 昌: *Rhodococcus* 由来カルボニル還元酵素を用いた *d*-pseudoephedrine の生産. 平成 16 年度日本生物工学会大会, 平成 16 年 9 月
50. 石毛たける、福井聡子、浦野信行、北 伸二、津崎和也、坂本恵司、森川忠則、片岡道彦、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* 由来のアミノアルコール脱水素酵素の機能解析と不斉還元反応への利用. 日本農芸化学会 2004 年度関西支部大会, 平成 16 年 10 月
51. M. Kataoka, R. Thiwthong, M. Wada, S. Nakamori, S. Shimizu: Production of doubly chiral compound by microbial two-step asymmetric reduction. The Eighth China-Japan-Korea Joint Symposium on Enzyme Engineering, 平成 16 年 10 月
52. 松永亜希子、本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: *Pseudomonas* sp. 3-1 株由来 (*R*)- δ -decanolactone 加水分解酵素の精製、諸性質の解明および遺伝子クローニング. 酵素工学会第 52 回講演会, 平成 16 年 11 月
53. 浦野信行、石毛たける、福井聡子、片岡道彦、北 伸二、坂本恵司、清水 昌: 組み換え大腸菌を利用した *d*-pseudoephedrine 高効率生産法の開発. 酵素工学会第 52 回講演会, 平成 16 年 11 月
54. R. Thiwthong, M. Kataoka, S. Shimizu: Microbial production of doubly chiral compound by two-step asymmetric reduction. The 4th JSPS-NRCT Joint Seminar on

Development of Thermotolerant Microbial Resources and Their Applications, 平成 16 年 11 月

55. 片岡道彦: 古くて新しい酵素「旧黄色酵素」-新規触媒機能の開発と応用-. 第 30 回日本応用酵素協会研究発表会, 平成 16 年 11 月
56. 松永亜希子、本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: δ 属細菌由来(R)- δ -デカノラク トン加水分解酵素の構造・機能解析. 第 3 回脂質工学研究部会講演会, 平成 16 年 12 月
57. 浦野信行、石毛猛、福井聡子、片岡道彦、北 伸二、坂本恵司、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* MAK154 株における *aadh* 遺伝子周辺領域の解析. 日 本農芸化学会 2005 年度大会, 平成 17 年 3 月
58. R. Thiwthong, 星野晶子、樋口七生、石毛たける、片岡道彦、清水 昌: *Candida macedoniensis* 由来のカルボニル還元酵素遺伝子の大量発現とキラルアルコ ール生産プロセスへの利用. 日本農芸化学会 2005 年度大会, 平成 17 年 3 月
59. 本田孝祐、松永亜希子、片岡道彦、清水 昌: *Pseudomonas* sp. 3-1 由来 (R)- δ -decanolactone hydrolase の遺伝子解析と応用 1. 日本農芸化学会 2005 年 度大会, 平成 17 年 3 月
60. 松永亜希子、本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: *Pseudomonas* sp. 3-1 由来 (R)- δ -decanolactone hydrolase の遺伝子解析と応用 2. 日本農芸化学会 2005 年 度大会, 平成 17 年 3 月
61. 磯部公安、佐々木康孝、若尾紀夫、岩崎 晃、長谷川淳三、小川 順、片岡 道彦、清水 昌: *Pseudomonas* 属細菌が産生する新規アルデヒドオキシダーゼ の精製と諸性質. 日本農芸化学会 2005 年度大会, 平成 17 年 3 月
62. 野崎晋也、本田孝祐、橋本義輝、小林達彦、片岡道彦、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* における L-パントラクトンデヒドロゲナーゼの発現とその解析. 日本農芸化学会 2005 年度大会, 平成 17 年 3 月
63. 坂本恵司、和田浩一、北 伸二、津崎和也、能勢英恵、峰時俊貴、坪井宏和、 本田孝祐、片岡道彦、清水 昌: ラクトナーゼによる D-パントラクトンの工 業生産. 日本農芸化学会 2005 年度大会, 平成 17 年 3 月
64. 清水 昌、小川 順、櫻谷英治、片岡道彦: 炭素間 2 重結合の変換に関わる微 生物反応の探索と開発. 日本農芸化学会 2005 年度大会, 平成 17 年 3 月
65. 片岡道彦: 微生物酵素の機能開発とキラルインダストリーへの利用. 酵素工 学研究会第 53 回講演会, 平成 17 年 4 月
66. S. Shimizu, M. Kataoka, J. Ogawa: Screening and development of unique microbial reactions useful for large-scale production of chiral compounds. BIOTRANS 2005, 平成 17 年 7 月
67. M. Kataoka, T. Ishige, N. Urano, S. Fukui, S. Kita, K. Sakamoto, S. Shimizu: Biocatalytic production of double chiral compounds. BIOTRANS 2005, 平成 17 年 7 月
68. 浦野信行、石毛たける、福井聡子、片岡道彦、北 伸二、坂本恵司、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* MAK154 株由来アミノアルコール脱水素酵素遺伝子 の解析と有用物質生産への応用. 日本農芸化学会 2005 年度関西・中四国・西 日本支部合同大会, 平成 17 年 10 月
69. S. Shimizu, M. Kataoka, J. Ogawa: Screening and applications of unique microbial

- enzymes useful for the production of chiral compounds. Enzyme Engineering XVIII, 平成 17 年 10 月
70. M. Kataoka, A. Hoshino, R. Thiwthong, N. Higuchi, T. Ishige, S. Shimizu: Carbonyl reductase from *Candida macedoniensis*: Gene cloning, and application to the bioreduction system. Enzyme Engineering XVIII, 平成 17 年 10 月
 71. 浦野信行、福井聡子、片岡道彦、北 伸二、坂本恵司、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* MAK154 株由来アミノアルコール脱水素酵素遺伝子の解析. 酵素工学研究会第 54 回講演会, 平成 17 年 10 月
 72. 野崎晋也、本田孝祐、橋本義輝、小林達彦、片岡道彦、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* における L-パントラクトンデヒドロゲナーゼ遺伝子の発現と解析. 酵素工学研究会第 54 回講演会, 平成 17 年 10 月
 73. M. Kataoka: Biocatalytic resolution of racemic pantoyl lactone for industrial production of D-pantothenate. Pacific Rim Summit on Industrial Biotechnology and Bioenergy, 平成 18 年 1 月
 74. 片岡道彦、杉山典子、松永亜希子、本田孝祐、清水 昌: 微生物によるラクトン化合物の生成および分解反応の探索. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 平成 18 年 3 月
 75. 野崎晋也、本田孝祐、橋本義輝、小林達彦、片岡道彦、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* による L-パントイルラクトンの立体反転. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 平成 18 年 3 月
 76. 浦野信行、石毛たける、福井聡子、片岡道彦、北 伸二、坂本恵司、橋本義輝、小林達彦、清水 昌: *Rhodococcus erythropolis* MAK154 株におけるアミノアルコール脱水素酵素の発現と *d*-pseudoephedrine の生産. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 平成 18 年 3 月
 77. 福井聡子、浦野信行、石毛たける、北 伸二、坂本恵司、片岡道彦、清水 昌. ランダム変異導入による高安定型 amino-alcohol dehydrogenase の取得. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 平成 18 年 3 月
 78. 片岡道彦、桑原ふみ、R. Thiwthong, 清水 昌: *Torulopsis* sp.由来の Old yellow enzyme の機能解析. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 平成 18 年 3 月
 79. 磯部公安、加藤彩子、若尾紀夫、岩崎 晃、長谷川淳三、小川 順、片岡道彦、清水 昌: *Aspergillus ochraceus* AIU031 が産生するアルコール酸化酵素の精製と諸性質. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 平成 18 年 3 月
 80. 磯部公安、加藤彩子、鈴木脩也、若尾紀夫、岩崎 晃、長谷川淳三、小川 順、片岡道彦、清水 昌: *Paenibacillus* 属細菌が産生する新規アルコール酸化酵素の精製と諸性質. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 平成 18 年 3 月
 81. 磯部公安、佐々木康孝、三坂裕一、若尾紀夫、岩崎 晃、長谷川淳三、小川 順、片岡道彦、清水 昌: *Burkholderia* 属細菌が産生するアルデヒドオキシダーゼの精製と諸性質. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 平成 18 年 3 月

研究成果 別添の通り