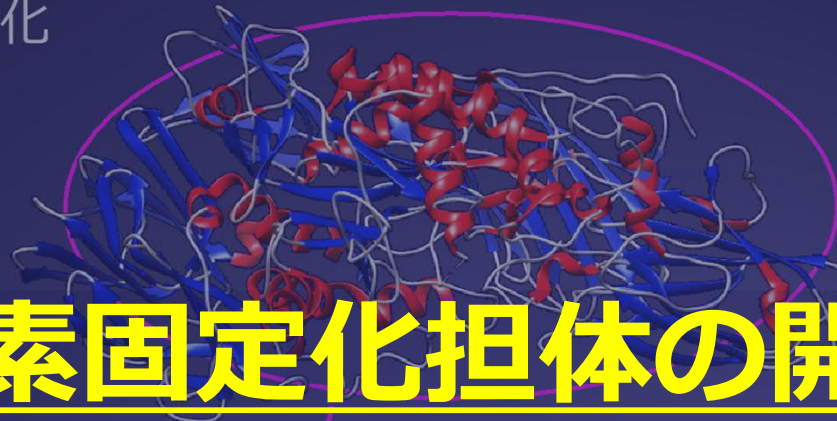


酵素（ここではLactase）固定化  
不織布の外観

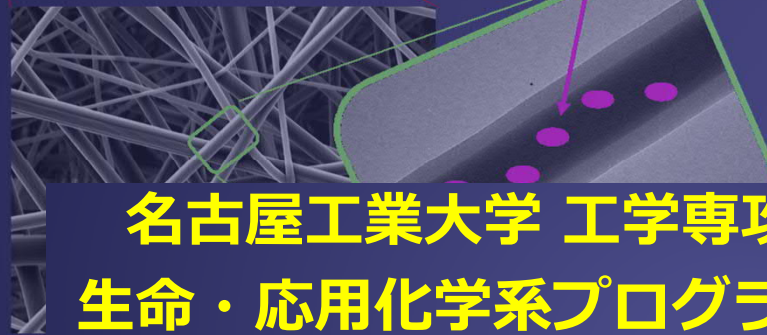


紙のような物性



Lactase from *Aspergillus oryzae*  
(Mw 120.2 kDa)

配糖体の加水分解反  
応を触媒する



は二層構造を持った  
ナノ繊維中央部分

# 不織布型の酵素固定化担体の開発

名古屋工業大学 工学専攻  
生命・応用化学系プログラム

准教授 水野 稔久

不織布を構成する繊維は、  
（各々の繊維間に十分な空隙を持ち、  
繊維内部まで基質分子が効率よく浸透可能）

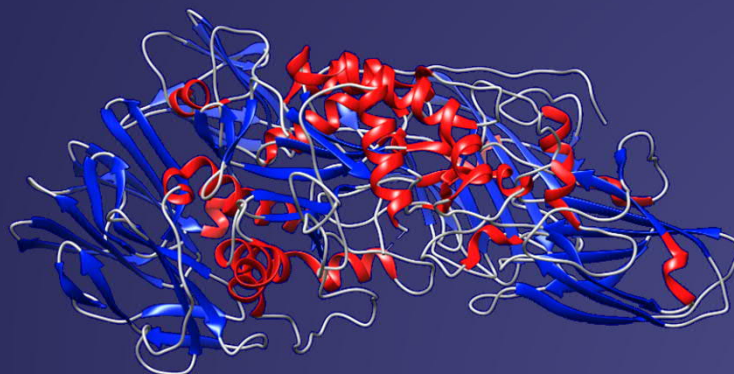
# 酵素とは

様々な化学反応を触媒可能なタンパク質  
(核酸ベースの酵素も知られているが、ここでは除外)



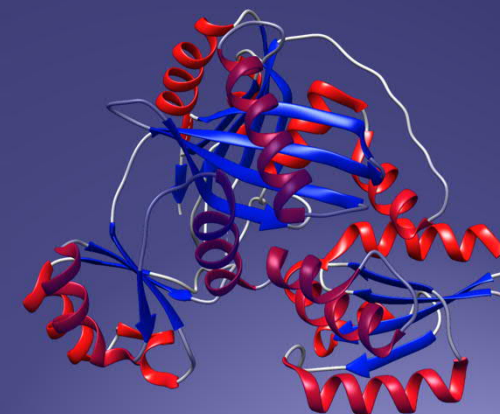
Lipase  
(PDB ID: 5XK2)

光学活性なエステル誘導体の合成、光学活性な医薬品中間体の合成



Lactase  
(PDB ID: 4IUG)

乳製品の食品改質、配糖体の分解



Riz A  
(PDB ID: 4WD3)

ジペプチドの合成に利用可能なL-アミノ酸リガーゼ

# 酵素とは

様々な化学反応を触媒可能なタンパク質  
(核酸ベースの酵素も知られているが、ここでは除外)

## <利点>

温和な反応条件で、効率よく特定の化学反応のみを触媒可能  
様々な生体由来分子の合成を得意とする

## <欠点>

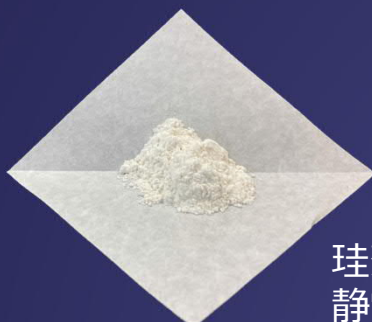
外部環境により触媒活性を失活しやすい。(大半は)高価であるため、工業的な利用を考える場合には再利用可能な技術との併用が必要

# 固定化酵素とは

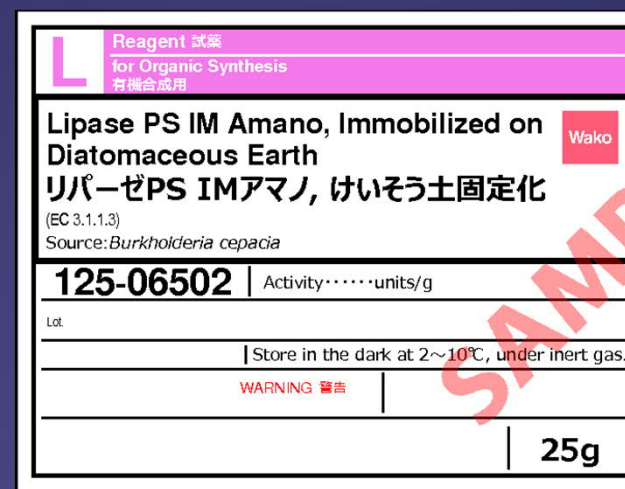
何某かの溶媒に不溶な担体に固定化した酵素製品



アマノエンザイム社 Lipase PS IM amano



珪藻土の粉末表面に  
静電的に酵素は吸着  
固定化されている



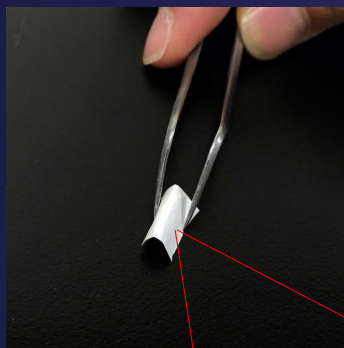
## <要求される要件>

固定化担体材料への固定化によって、酵素活性を落とさないこと、  
酵素活性を保ったまま高い再利用性を発揮できること

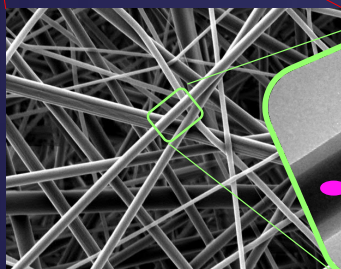


# 本技術シーズにより作製可能な 不織布型の固定化酵素とは

酵素（ここではLactase）固定化  
不織布の外観



紙のような物性

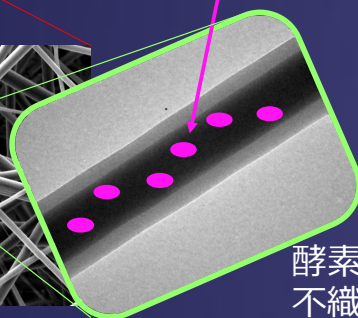


不織布を構成する繊維のナノ構造  
(各々の繊維間に十分な空隙を持ち、  
繊維内部まで基質分子が効率よく浸透可能)



Lactase from *Aspergillus oryzae*  
(Mw 120.2 kDa)

配糖体の加水分解反  
応を触媒する



酵素分子は二層構造持った  
不織布のナノ繊維中央部分  
に固定化

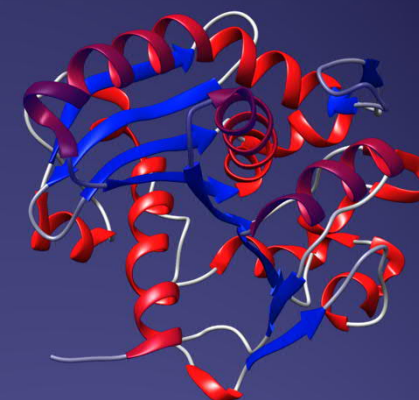
水系溶媒中で、酵素の**高い活性**、**高い再利用性**を発揮可能な、**固定化酵素**の**作製**を可能とする新たな技術。

- ・ 不織布を構成するナノ繊維のコア部分に酵素は固定化
- ・ 外部環境による酵素の変性失活からの保護
- ・ 反応溶液に不織布型の固定化酵素を浸漬することで、繊維内部に浸透可能な低分子基質に対して効率的な触媒活性を示す

# 従来技術との比較

## リパーゼ固定化酵素としての性能の比較

比較項目 (例)	本技術で作製された 固定化酵素	競合技術 A 社 製品 1	競合技術 N 社 製品 2	競合技術 N 社 製品 3
①固定化された酵素の 安定性 (固定化方法)	◎ (不織布繊維内部に 内包固定化)	○ (珪藻土への 静電吸着)	○ (アクリル酸エステル樹 脂への疎水結合)	○ (シリカゲルへの 静電吸着)
② 固定化酵素の酵素活 性 (リパーゼ固定化酵 素を有機溶媒中で利用 した場合で比較)	△ 2.6 Unit/g	◎ 500 Unit/g カタログ値	○ 167 Unit/g カタログ値	△ 4.2 Unit/g カタログ値
② 固定化酵素の酵素活 性 (リパーゼ固定化酵 素を水溶媒中で利用し た場合で比較)	◎ 15.4 Unit/g	×	×	×
③再利用可能回数 (リ パーゼ固定化酵素で比 較) 酵素活性が50% 以下になる回数	◎ 有機溶媒中での反応におい て10回以上利用可能  ◎ 水系溶媒中でも10回以上 再利用可能	△ 有機溶媒中での反応における 再利用回数は未公表  × 水系溶媒中での再利用は不可 (天野エンザイム社より 情報提供)	△ 有機溶媒中での反応における 再利用回数は3-5回 Catal. Sci. Technol., 2019, 9, 2380  × 未公表だが、水系溶媒中での 再利用はおそらく不可	△ 有機溶媒中での反応におけ る再利用回数は未公表  × 未公表だが、水系溶媒中で の再利用はおそらく不可
④生成物の光学純度 (リパーゼ固定化酵素 を有機溶媒中で利用し た場合で比較)	◎	◎	◎	◎



Lipase  
(PDB ID: 5XK2)

エステル化合物の  
生成・分解反応を  
触媒

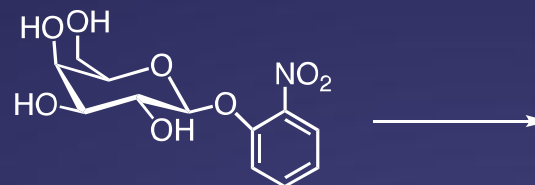
酵素活性を定義する 1  
Unit/gとは、固定酵素1  
gが1分間に1 μmolの生  
成物を生成する活性値と  
定義

# 高い酵素活性の発揮

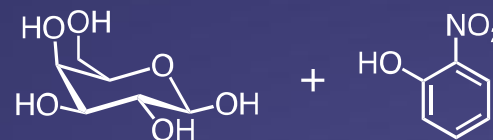
## 酵素活性の比較

	酵素活性 (nmol min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> )	比活性 (フリーの酵素活性を 100%として比較)
Control (フリーのラクターゼ)	3580 ± 160	---
材料Aを用いて作製したラ クターゼ固定化不織布	3610 ± 90	101
材料Bを用いて作製したラ クターゼ固定化不織布	4080 ± 90	114

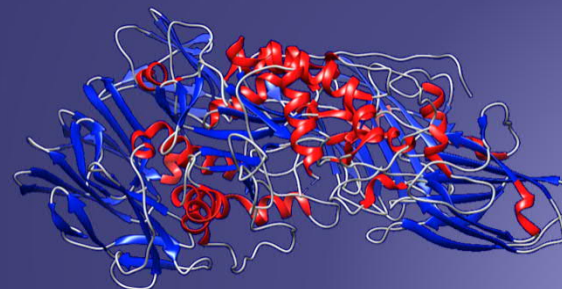
固定化担体の材料内部に酵素分子が固定化されているにもかかわらず、**同量の酵素がそのままバッ  
ファー溶液中に溶かされた場合と同等、あるいはそれ以上の酵素活性の発揮**が可能



ラクターゼの  
擬似基質



固定化した酵素 (ラクターゼ)



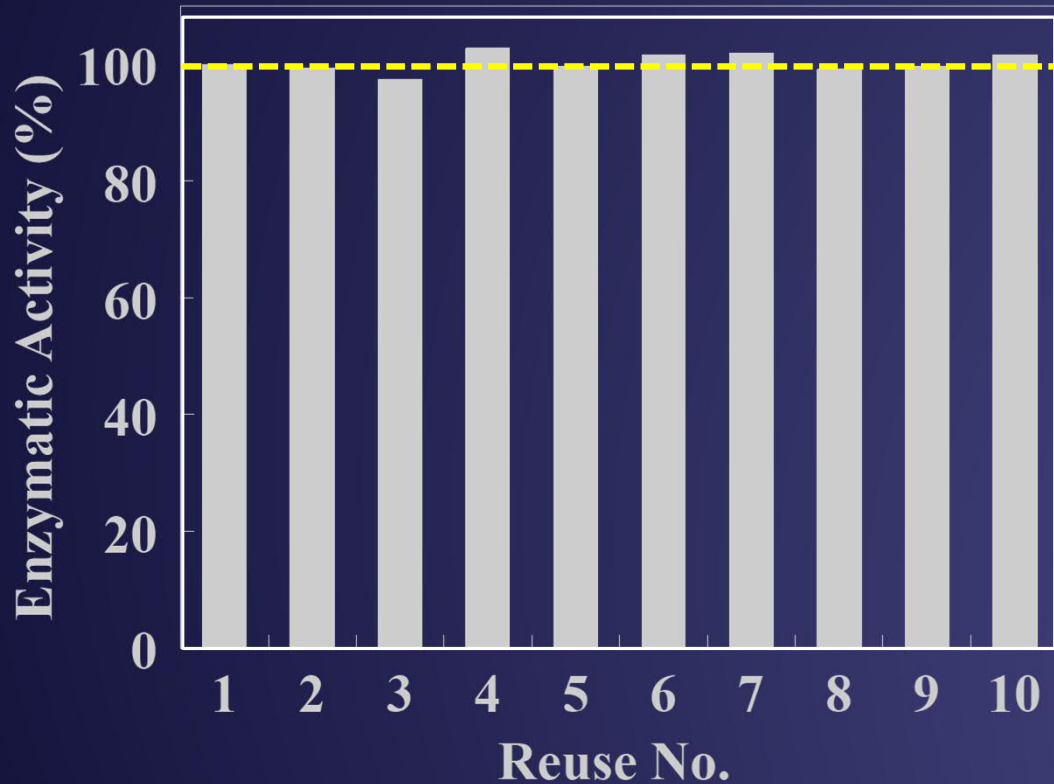
Lactase from *Aspergillus oryzae*  
(Mw 120.2 kDa, PDB ID: 4IUG)



基質分子の溶けた  
バッファー溶液中に  
酵素固定化不織布を  
浸漬・攪拌すること  
で利用可能

# 高い再利用性

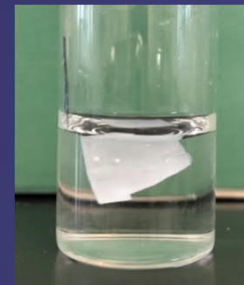
## ラクターゼ固定化不織布の再利用性の評価



1回目利用したときの活性を100%として比較

不織布を溶液から引き上げる→洗浄・乾燥→次の反応に再利用

10回繰り返し



1回目の酵素反応



2回目の酵素反応

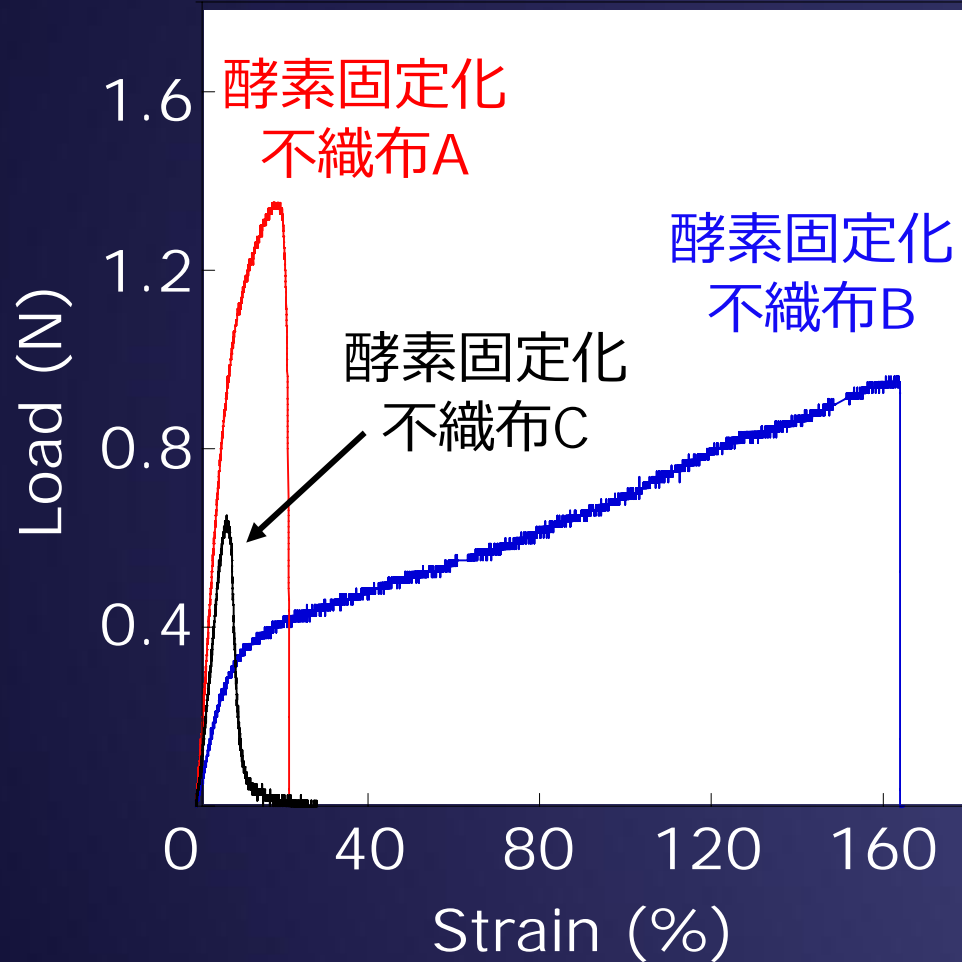


10回目の酵素反応

10回の再利用後も、  
100%の酵素活性が維持される

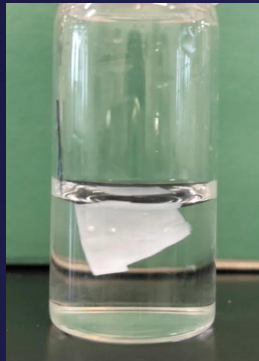


# 実用性を満たす十分な機械的強度



引っ張り歪みを与えたときに、ほとんど伸びずに高い引っ張り強度を持つ不織布、ある程度伸びつつも十分な引っ張り強度を持つ不織布など、利用用途に応じて性質の異なる酵素固定化担体の提供が可能

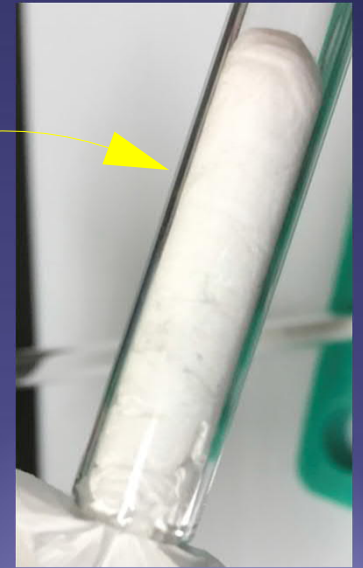
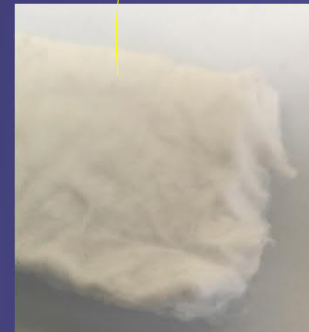
# 不織布から綿状の酵素固定化繊維への解繊



水中で酵素固定化  
不織布を攪拌



フィルム状の形態から、繊維が解けることで  
綿状の形状に簡便に成型可能



カラム管などへの  
充填も容易

## 求める連携先・メッセージ

ここで紹介されている技術シーズは、天野エンザイム株式会社との共同研究成果の一部です。

様々な酵素の開発と提供をしていただける企業（天野エンザイム株式会社様）と、固定化担体を開発できる我々のグループが組める体制はすでにできておりますので、ここにさらに具体的な製品として利用してもらえる連携企業様のご参加を希望します。

具体的には、食品系企業、医薬品中間体合成などを扱われている企業、臨床検査キット開発を行っている企業、化粧品・環境・サニタリー製品を扱われている企業などにニーズが想定されます。

# 本技術に関する情報

## 試作品の状況

提示可 / 提供可

※提供の際は諸手続が必要となるため、下記問合せ先までご連絡願います。

## 研究フェーズ



## 文献・特許の情報

特許番号（特願2021-079517、特願2022-076892）

『タンパク質を固定化したコアシェル構造を有する繊維』

# 【お問合せ】

名古屋工業大学 産学官金連携機構

〒466-8555 名古屋市昭和区御器所町字木市29番

TEL:052-735-5627

E-mail: [nitfair@adm.nitech.ac.jp](mailto:nitfair@adm.nitech.ac.jp)

URL: <https://technofair.web.nitech.ac.jp/>