

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3731237号
(P3731237)

(45) 発行日 平成18年1月5日(2006.1.5)

(24) 登録日 平成17年10月21日(2005.10.21)

(51) Int. Cl. F I
C 1 2 P 19/40 (2006.01) C 1 2 P 19/40

請求項の数 3 (全 11 頁)

(21) 出願番号	特願平8-49619	(73) 特許権者	000246398
(22) 出願日	平成8年2月14日(1996.2.14)		有機合成薬品工業株式会社
(65) 公開番号	特開平9-215498		東京都中央区日本橋人形町三丁目10番4号
(43) 公開日	平成9年8月19日(1997.8.19)	(74) 代理人	100075498
審査請求日	平成14年5月23日(2002.5.23)		弁理士 野崎 鏝也
微生物の受託番号	FERM P-15104	(72) 発明者	三上 洋一
			東京都板橋区坂下三丁目37番1号有機合成薬品工業株式会社東京研究所内
		(72) 発明者	松本 清一郎
			東京都板橋区坂下三丁目37番1号有機合成薬品工業株式会社東京研究所内
		審査官	内藤 伸一
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】ヌクレオシド化合物の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

イノシン及びデオキシイノシンからなる群より選択されるヌクレオシドとピリミジン塩基とを、リン酸又はリン酸塩存在下の水溶液中において、耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼ及び耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼにより塩基交換させ、この塩基交換反応により生成したヒポキサンチンを電子受容体の共存下にシュードモナス・エスピー Y-510 (FERM P-15104) の産生物である耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼにより尿酸に変化させることを特徴とするヌクレオシド化合物の製造方法。

【請求項2】

イノシン及びデオキシイノシンからなる群より選択されるヌクレオシドとプリン塩基とを、リン酸又はリン酸塩存在下の水溶液中において、耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼにより塩基交換させ、この塩基交換反応により生成したヒポキサンチンを電子受容体の共存下にシュードモナス・エスピー Y-510 (FERM P-15104) の産生物である耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼにより尿酸に変化させることを特徴とするヌクレオシド化合物の製造方法。

【請求項3】

電子受容体がメチレンブルー、ニコチンアミド アデニン ジヌクレオチド、ニコチンアミド アデニン ジヌクレオチド リン酸から選ばれた1種以上の電子受容体である請求項1又は2記載のヌクレオシド化合物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

10

20

【 0 0 0 1 】

【 発明の属する技術分野 】

本発明は、耐熱性酵素による核酸塩基の交換反応を利用してヌクレオシド化合物を製造する方法に関する。

【 0 0 0 2 】

【 従来技術 】

従来、酵素による核酸塩基の交換反応を利用してヌクレオシド化合物を製造する方法が提案されているが、原料系と生成系の間には反応の平衡状態が生じ、収率が向上しない原因となっていた。これに対して、特開平 4 - 1 9 7 1 9 3 号公報に、イノシン又はデオキシイノシンであるヌクレオシドと核酸塩基とをリン酸塩の水溶液中、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ及びピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼにより塩基交換反応させ、この交換反応により生成したヒポキサンチンをキサンチンオキシダーゼにより尿酸に変化させて、ヌクレオシド化合物を得る方法が開示されている。

10

【 0 0 0 3 】

しかし、該公報に開示された方法では、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ及びピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼについては耐熱性酵素を用いているが、キサンチンオキシダーゼは 5 0 以上に至適生育温度を有する耐熱性キサンチンオキシダーゼは見いだされていなかったため、常温に至適生育温度を有するキサンチンオキシダーゼが用いられ、したがって反応温度は 4 0 に設定されており、反応全体として耐熱性のプリンヌクレオシドホスホリラーゼ及びピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼを用いる利点が活かされていなかった。

20

【 0 0 0 4 】

【 発明が解決しようとする課題 】

本発明は酵素による核酸塩基の交換反応を利用してヌクレオシド化合物を得る方法において、耐熱性酵素を使用することにより、交換反応を高濃度でかつ反応速度を向上させたヌクレオシド化合物の製造方法を提供する。

【 0 0 0 5 】

【 課題を解決するための手段 】

本発明者らは上述の問題点を解決すべく、耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼを産生する微生物を鋭意探索した結果、土壤中から、4 8 ~ 5 3 に至適生育温度を有し、5 5 ~ 6 0 に至適反応温度を持つ耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼを産生する微生物を発見したものであり、該耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼを見出したことにより、交換反応を高濃度でかつ反応速度を向上させるという本発明を完成するに至った。

30

【 0 0 0 6 】

本発明に用いられる耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼ、耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼ、及び耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼは、いかなる起源のものでも構わないが、5 0 以上に至適反応温度を有する耐熱性酵素である。

【 0 0 0 7 】

核酸塩基は、一般に常温で水に対する溶解度が低く、高温になるにつれて急激に溶解度が上昇する。したがって、耐熱性酵素を用いることにより、初めて高濃度反応が可能となる。また、一般に化学反応は温度が 1 0 上昇すると、反応速度が 2 倍になるので、触媒としての酵素の能力が同一であれば、耐熱性酵素を用いることにより、反応速度の向上が図られる。更に、耐熱性酵素を用いると、低温殺菌の温度に近い温度で反応を行うことになるので、微生物汚染が少なく、酵素の寿命が長くなる。

40

【 0 0 0 8 】

本発明で用いた耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼ及び耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼは、この 2 種の酵素を同時に産生するパチルス・ステアロサーモフィルス (*Bacillus Stearothermophilus*) J T S 8 5 9 (F E R M B P - 6 8 8 5) より調製した。

【 0 0 0 9 】

50

耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼは、本発明者が土壌中から55～60℃に至適反応温度を有するキサンチンデヒドロゲナーゼを産生する微生物より調製した。本菌株は、シュードモナス・エスピー (*Pseudomonas* sp.) Y-510であり、通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されており、寄託番号はFERM P-15104である(本菌株の寄託の際の表示はシュードモナス・サーモカルボキシドボランス (*Pseudomonas thermocarboxydovrans*) YGK-0510であり、寄託番号FERM P-15104であったが、その後記載事項変更届を提出し、表示をシュードモナス・エスピー Y-510と変更した)。

【0010】

本菌株の菌学的性質を、バージェイズ・マニュアル・オブ・システムテック・バクテリオロジー第2巻に準じて検討した結果は次のようである。 10

1. 形態

桿菌：1.6～3.2 μm × 0.6～0.7 μm

2. 培養的性質

NB培地：50℃、2日間培養

平板上：黄色。光沢あり、透明、盛り上がらない。コロニーの形は円形。

スラント上：黄色。光沢あり、透明、盛り上がらない。生育は中程度。

【0011】

3. 生化学的性質

(1) グラム染色	陰性	20
(2) 嫌氣的性質	生育せず	
(3) 運動性	あり、単極毛	
(4) オキシダーゼ	陽性	
(5) カタラーゼ	陰性	
(6) ゼラチンの変化	液化能なし	
(7) OFテスト	陰性	

【0012】

(8) グルコースからの酸の産生	産生せず	
(9) ラクトースからの酸の産生	産生せず	
(10) キシロースからの酸の産生	産生せず	30
(11) ガラクトースからの酸の産生	産生せず	
(12) 硝酸塩の還元	陽性	
(13) 硝酸カリウムの脱窒能	陰性	
(14) 無機窒素源の利用		
NO ₃ を唯一の窒素源として	生育しない	
NH ₄ を唯一の窒素源として	生育した	

【0013】

(15) 独立栄養の基質		
COを唯一の炭素源として	生育しない	
(16) 生育温度	40～55℃	40
至適	48～53℃	
(17) 尿素の加水分解	分解能なし	
(18) クエン酸の利用	陰性	
(19) インドールの産生	陰性	
(20) GC含量	67.7%	

【0014】

以上の菌学的性質に基づき、本菌株はシュードモナス属 (*Pseudomonas* sp.) に属することが判明した。本菌株に最も近い種としてはシュードモナス・サーモカルボキシドボランス (*Pseudomonas thermocarboxydovrans*) を挙げるができる。しかしながら、比較検討の結果、本菌株は一酸化炭素を資 50

化できない点が該菌と異なっていた。

【0015】

本菌株から調製した耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼは以下の性質を有する。

1. 作用：ヒポキサンチンからキサンチンを経て尿酸にする。
2. 基質特異性：ヒポキサンチン又はキサンチンに対して作用する。
3. 至適pH：8.2～9.5
4. 至適反応温度：55～60
5. 安定性：pH7.0において40～50、60分処理で安定
6. 活性化：メチレンブルー、NAD（ニコチンアミド アデニン ジヌクレオチド）、NADP（ニコチンアミド アデニン ジヌクレオチド リン酸）などの電子受容体を必要とする。

【0016】

本発明における核酸塩基の交換反応を用いるヌクレオシド化合物の製造方法について、まず、核酸塩基としてピリミジン塩基を用いた場合で反応を説明する。

(1) 耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼにより、イノシン又はデオキシイノシンとリン酸又はリン酸塩から、ヒポキサンチンとリボース-1-リン酸又はデオキシリボース-1-リン酸が生成する。

【0017】

(2) 次に、生成したリボース-1-リン酸又はデオキシリボース-1-リン酸が、耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼにより、ピリミジン塩基と置換反応を行う。これにより、リボース-1-リン酸とピリミジン塩基との反応からピリミジンヌクレオシドが生成し、デオキシリボース-1-リン酸とピリミジン塩基との反応からはピリミジンデオキシヌクレオシドが生成する。

(1)と(2)の反応を整理すると、イノシン又はデオキシイノシンとピリミジン塩基を用いて耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼ及び耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼにより、塩基交換反応を行い、ピリミジンヌクレオシド又はピリミジンデオキシヌクレオシドとヒポキサンチンが生成する。

【0018】

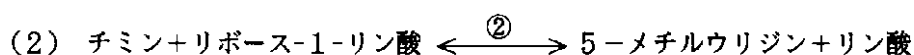
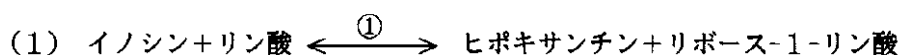
(3) 反応系に耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼと、メチレンブルー、NAD、NADPなどの電子受容体とを共存させることにより、イノシン又はデオキシイノシンの分解で生成したヒポキサンチンは不可逆的にキサンチンを経て尿酸となる。生成した尿酸は、耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼ及び耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼの基質にはなり得ないので、基質の交換反応には関与せず反応系から除外される。これにより、反応の平衡を目的物のヌクレオシド化合物が生成する側へ移動させ、目的物が定量的に得られる。

【0019】

例えば、出発原料のヌクレオシドとしてイノシンを、ピリミジン塩基としてチミンを用いて目的物のヌクレオシド化合物として5-メチルウリジンを得る場合は、

【0020】

【化1】



(式中、1 は耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼ、2 は耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼを示す)

(1)と(2)から

【0021】

10

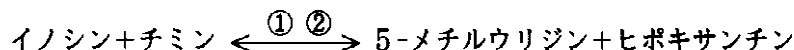
20

30

40

50

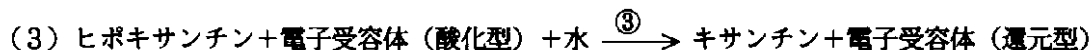
【化2】



(式中、 1 と 2 は前記と同一)

【0022】

【化3】



10



(式中、 3 は耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼを示す)

【0023】

一方、交換反応を行う核酸塩基としてプリン塩基を用いた場合は次のようである。(1)と(3)の反応は上述と同じであるが、(2)では、イノシン又はデオキシイノシンから生じたリボース-1-リン酸又はデオキシリボース-1-リン酸が、耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼにより、プリン塩基と置換反応を行う。これにより、リボース-1-リン酸とプリン塩基との反応からプリンヌクレオシドが生成し、デオキシリボース-1-リン酸とプリン塩基との反応からはプリンデオキシヌクレオシドが生成する。

20

すなわち、イノシン又はデオキシイノシンとプリン塩基を用いて耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼにより、塩基交換反応を行い、プリンヌクレオシド又はプリンデオキシヌクレオシドとヒポキサンチンが生成する。

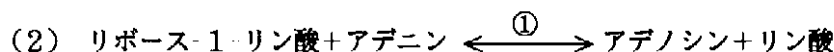
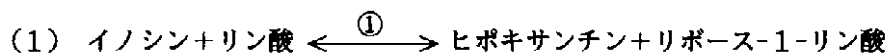
【0024】

例えば、出発原料のヌクレオシドとしてイノシンを、プリン塩基としてアデニンを用いて目的物のヌクレオシド化合物としてアデノシンを得る場合は、

【0025】

【化4】

30



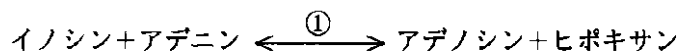
(式中、 1 は前記と同一)

(1)と(2)から

【0026】

【化5】

40



(式中、 1 は前記と同一)

【0027】

【化6】

(3) ヒポキサンチン+電子受容体(酸化型)+水 $\xrightarrow{\textcircled{3}}$ キサンチン+電子受容体(還元型)

キサンチン+電子受容体(酸化型)+水 $\xrightarrow{\textcircled{3}}$ 尿酸+電子受容体(還元型)

(式中、 3 は前記と同一)

【0028】

本発明で核酸塩基としてピリミジン塩基を用いる場合は、(2)の反応において、耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼ及び耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼが必要である。一方、プリン塩基の場合は、耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼのみが必要であるが耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼを含んでいても反応には差し支えない。

10

【0029】

本発明は、工業的に生産が可能であり、安価に容易に入手可能であるイノシンを原料とし、核酸塩基の反応を行うことにより、医薬用原料やDNA合成試薬原料として有用な化合物であるヌクレオシド化合物を容易にかつ収率よく製造するものである。

【0030】

【発明の実施の形態】

本発明で用いられる耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼ、耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼ及び耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼは、50以上に至適反応温度を有する耐熱性酵素であり、その使用形態は、該酵素を産生する菌体、その破砕物又は抽出物として用いられる。

20

【0031】

本発明の原料として用いられるヌクレオシドは、市場に容易に入手可能なイノシン及びイノシンから容易に化学的に変換可能である2'-デオキシイノシン、3'-デオキシイノシンが挙げられる。

【0032】

用いられるピリミジン塩基は特に制限されない。例えば、ウラシル、チミンなどの天然型ピリミジン塩基、5-フルオロウラシル、5-クロロウラシル、5-プロモウラシル、5-ヨードウラシル、5-エチルウラシル、5-トリフルオロメチルウラシル、5-カルボキシウラシルなどの非天然型ピリミジン塩基が挙げられる。

30

【0033】

また、キサンチンデヒドロゲナーゼはヒポキサンチンに作用してキサンチンを経て尿酸とするので、用いられるプリン塩基としては、ヒポキサンチン及びキサンチン以外のプリン塩基であれば特に制限されない。例えば、アデニン、グアニンなどの天然型プリン塩基、2-クロロプリン、6-クロロプリン、2,6-ジクロロプリン、2-アミノ-6-クロロプリン、2,6-ジアミノプリン、6-メルカプトプリン、6-メチルチオプリン、2-アミノプリンなどの非天然型プリン塩基が挙げられる。

【0034】

本発明において、用いられるヌクレオシドの初期濃度は5~100mMであり、好ましくは10~50mMである。また、核酸塩基の初期濃度は5~100mMであり、好ましくは10~50mMである。リン酸又はリン酸塩の初期濃度は1~20mMであれば十分である。また、ヌクレオシドと核酸塩基は同一の初期濃度で用いる。ヌクレオシドとリン酸又はリン酸塩との濃度比は大きい方が目的物のヌクレオシド化合物の収率は増加する。

40

【0035】

反応液のpHは、7.0~9.5であり、好ましくは8.2~9.5である。核酸塩基の中には5-トリフルオロメチルウラシルのようにアルカリ側で不安定なものもあるので、用いる原料の性質に応じて好ましい反応液のpHを設定すればよい。反応温度は50~60であり、好ましくは50~55である。

50

なお、反応液からの生成物の採取は、クロマトグラフィーなどにより行うことができる。

【0036】

【実施例】

以下、製造例及び実施例にて本発明を更に説明するが、本発明はこれら製造例及び実施例に限定されるものではない。

【0037】

製造例1

耐熱性プリンヌクレオシドホスホリラーゼと耐熱性ピリミジンヌクレオシドホスホリラーゼの酵素液の調製

バチルス・ステアロサーモフィルス JTS859 (FERM BP-6885) を以下の手順で培養した。菌の培養には、バクトトリプトン10g、イーストエキス5g、グルコース3g、食塩3g、イノシン1g及び水1LよりなるpH6.2の培地を用いた。この培地1.5Lにバチルス・ステアロサーモフィルス JTS859 (FERM BP-6885) の孢子 3×10^7 個を添加し、攪拌翼(直径70mm、上下部各2枚)を有するジャーフェーマンターを用い、攪拌翼を780rpmで回転させつつ、通気量1vvm、培養温度65、pH6.0~6.4で5時間培養した。

培養終了後、菌体を遠心分離(10,000g、4、15分)により集菌した。次いで、酵素液を以下のようにして調製した。

【0038】

得られた湿菌20gを10mMリン酸カリウム溶液(pH7.0、[緩衝液(pH7)と略す])に懸濁し、超音波破碎装置で菌体を破碎した。続いて、緩衝液(pH7)を添加して全体を50mlとした後、超遠心分離(30,000g、4、20分)を行い、上清30mlを得た。この上清を熱処理した後、-10に冷却したアセトン24mlを添加し、15分間攪拌後、遠心分離(10,000g、4、10分)を行って上清を得た。この上清に更にアセトン18mlを添加し、15分間攪拌の後、遠心分離(10,000g、4、10分)を行い、沈殿物を得た。この沈殿物を3mlの緩衝液(pH7)に懸濁させ、アセトン処理済み酵素液(酵素液[1]と略す)として3.5mlを得た。

【0039】

製造例2

耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼの酵素液の調製

シュードモナス・エスピー Y-510 (FERM P-15104) を以下の手順で調製した。菌の培養には、ニュートリエントプロス(ディフコ社製)8g、ヒポキサンチン1g及び水1LよりなるpH7.0の培地を用いた。この培地500mlにシュードモナス・エスピー Y-510 (FERM P-15104) の菌体 3×10^7 個を添加し、2L容の三角フラスコを用い、200rpmで回転させつつ、培養温度50で15時間培養した。

培養終了後、菌体を遠心分離(10,000g、4、15分)により集菌した。次いで、酵素液を以下のようにして調製した。

【0040】

得られた湿菌13gを緩衝液(pH7)に懸濁し、超音波破碎装置で菌体を破碎した。続いて、緩衝液(pH7)を添加して全体を40mlとした後、超遠心分離(30,000g、4、20分)を行い、上清30mlを得た。この上清に対して25重量%になるように硫酸アンモニウムを添加し、20分間攪拌した後、遠心分離(10,000g、4、10分)により沈殿を除去し、上清を得た。この上清に対して更に45重量%になるように硫酸アンモニウムを添加し、20分間攪拌の後、遠心分離(10,000g、4、10分)により沈殿物を得た。

【0041】

この沈殿物を10mlの緩衝液(pH7)に懸濁させ、緩衝液1L中で、20時間透析を行い、硫酸プロタミンを0.25重量%になるように添加し、5分間攪拌した後、遠心分離(10,000g、4、10分)により沈殿を除き、粗酵素液15mlを得た。得ら

10

20

30

40

50

れた粗酵素液をDEAE Sepharose fast flow (ファルマシア社製) 80 ml を充填したカラム (18 mm × 32 mm) に添加した。次いで、10 mM から600 mM のリン酸カリウム (pH 7.0) 直線濃度勾配で溶出を行い、キサンチンデヒドロゲナーゼ活性の認められた分画45 ml を分取し、酵素液 (酵素液 [2] と略す) とした。

【0042】

実施例 1

10 mM のイノシン (東京化成製・特級)、10 mM のチミン (淀川製薬製)、1.25 mM のリン酸カリウム、0.05 mM のメチレンブルー (和光純薬製・生体染色用)、酵素液 [1] 0.03 ml 及び酵素液 [2] 0.05 ml を含む1 ml の100 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 8.5) 中で50、5時間反応させ、反応液中に含まれる各成分の濃度を測定した。その結果を図1に示す。

原料のチミンは微かに残存が認められたが、イノシンは完全に消失した。目的物の5-メチルウリジンは8.4 mM (収率84%) 生成した。目的物の5-メチルウリジンの生成量が非常に高く、定量的に生成していることを示している。

【0043】

比較例 1

また、耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼを添加しないこと以外はすべて実施例1と同一の手順と条件で反応を行い、反応液中に含まれる各成分の濃度を測定した。その結果を図2に示す。

目的物である5-メチルウリジンの生成は2.8 mM (収率28%) で反応は平衡状態に達したことを示している。

【0044】

実施例 2 ~ 3

チミンに代えて表1に示す核酸塩基を用いた以外は、実施例1と同様の条件で50、5.5時間反応させた。なお、比較のため耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼを添加しないこと以外はすべて実施例2~3と同様の条件で反応させた。その結果を表1に示す。

【0045】

【表1】

表 1

	核 酸 塩 基	生成ヌクレオシド	生 成 量 (mM)	
			キサンチンデヒドロゲナーゼ	
			存在時	不在時
実施例2	ウラシル *1	ウリジン	8.2	2.7
実施例3	5-フルオロウラシル *2	5-フルオロウリジン	7.1	2.4

(注) *1 ヤマサ醤油製 *2 光純薬製・特級

【0046】

実施例 4 ~ 9

イノシンに代えて2'-デオキシイノシン (ヤマサ醤油製) を用い、また、チミンに代えて表2に示す核酸塩基を用いた以外は、実施例1と同様の条件で50、5.5時間反応させた。なお、比較のため耐熱性キサンチンデヒドロゲナーゼを添加しないこと以外はすべて実施例4~9と同様の条件で反応させた。その結果を表2に示す。

【0047】

【表2】

表 2

	核 酸 塩 基	生成ヌクレオシド	生 成 量 (mM)	
			キサンチンデヒドロゲナーゼ	
			存在時	不在時
実 施 例	4 チミン *3	チミジン	8.4	2.7
	5 ウラシル *1	2'-デオキシウリジン	8.0	2.6
	6 アデニン *1	2'-デオキシアデノシン	7.6	3.4
	7 グアニン *1	2'-デオキシグアノシン	7.4	1.2
	8 5-フルオロウラシル *2	5-フルオロウリジン-2'- デオキシリボース	8.1	2.4
	9 5-プロモウラシル *4	5-プロモウリジン-2'- デオキシリボース	8.1	2.3

(注) *1 ヤマサ醤油製
*3 淀川製薬製

*2 和光純薬製・特級
*4 和光純薬製

【0048】

実施例10

イノシン（東京化成製・特級）とチミン（淀川製薬製）を各10mM使用して、表3に示す各種温度で実施例1と同様の操作を行い、30分反応後に生成した5-メチルウリジンを測定した。その結果を表3に示す。反応速度（mM/分）は5-メチルウリジン生成量（mM）を30分で除した数値である。反応温度40 のとき反応速度が0.02mM/分であるが、反応温度が50 以上になると反応速度が約0.1mM/分と立ち上がっている。

【0049】

【表3】

表 3

反応温度 (°C)	5-メチルウリジン生成量 (mM)	反応速度 (mM/分)
40	0.7	0.02
50	2.6	0.09
55	3.2	0.11
60	3.7	0.12

【0050】

【発明の効果】

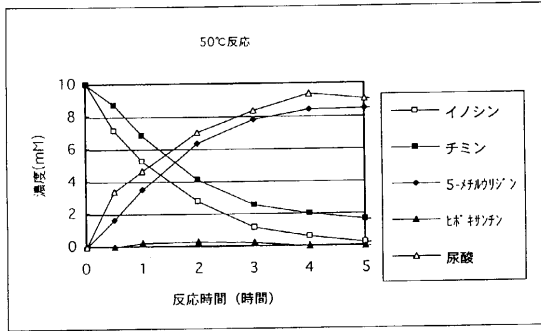
核酸塩基の交換反応を利用したヌクレオシド化合物の製造方法において耐熱性酵素を用いることにより、交換反応が高濃度で可能となり、また、反応速度の向上が図られる。更に、低温殺菌の温度に近い温度で反応を行うことになるので、微生物汚染が少なく、酵素の寿命が長くなるという効果が期待できる。

【図面の簡単な説明】

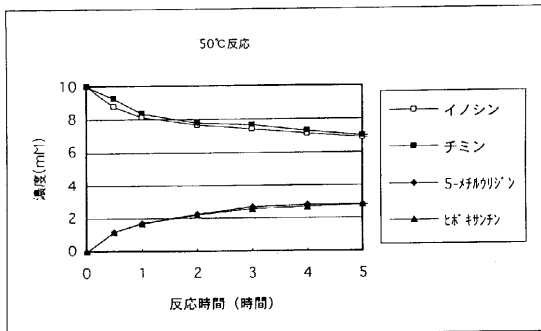
【図1】実施例1における反応液中の各成分の濃度の経時変化を示すグラフである。

【図2】比較例1における反応液中の各成分の濃度の経時変化を示すグラフである。

【 図 1 】



【 図 2 】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開平04 - 197193 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12P 19/40

CA(STN)

BIOSIS(DIALOG)

WPIDS(STN)