

機関番号：12608

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2008～2011 年度

課題番号：20245032

研究課題名 (和文) 異分野融合によるフッ素資源循環型システムの構築

研究課題名 (英文) The construction for recycle of fluorine resource with the complex method

研究代表者 北 爪 智 哉 (KITAZUME TOMOYA)

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授

研究者番号：30092547

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・環境関連化学

キーワード：酵素反応、5'-FDA、5-FDR、連続反応、資源循環、フッ素系物質、循環システム

### 1. 研究計画の概要

フッ素科学の分野に異種技術を取り入れ、微生物や生体触媒の有する機能を活用し人工的に作り出されたフッ素系物質を分解し、生成するフルオリドイオンを再度利用して有用なフッ素系物質を生産する。本計画では、「フッ素資源の循環型」システムを構築し、フッ素科学での「持続可能な発展」をめざす。研究計画としては、最初に実用的に利用されたフッ素系物質を分解可能である各種の菌体を探索する。菌体による分解により生成するフルオリドイオンをフッ素化酵素により分子内へ組み込み、いくつかの酵素反応を経て有用なフッ素系物質を創製する。酵素反応により創製した有用なフッ素系中間体を化学的方法により各種のフッ素系物質へと変換する。バイオの技術と化学の方法を融合し、新しいフッ素科学を切り開く。

### 2. 研究の進捗状況

#### (1) 分解菌の探索

フッ素系物質の分解可能な菌体を探索するために、各種の放線菌を用いて各種のフッ素系物質の分解を行った。その結果、いくつかの分解可能な菌体を見いだした。放線菌の一種である *Rhodococcus* sp. は、フルオロベンゼン (FB) やベンゾトリフルオリド (BTF) を分解し、フルオリドイオンを生成することを明らかにし、論文 (雑誌論文:4) として報告している。*Rhodococcus* sp. によりフルオロベンゼン (FB) やベンゾトリフルオリド (BTF) を分解し、生成したフルオリドイオン活用し、フッ素化酵素を用いることにより基質 SAM にフッ素原子を導入し、5'-FDA を創製することに成功し、論文 (雑誌論文:2) として報告している。

#### (2) フッ素資源循環システムの構築

基質 SAM は、不安定であり高価な物質であるため、*S*-adenosyl-L-methionine synthase (MetK) という酵素を利用して基質 SAM を、ATP と L-メチオニンを出発物質として系中で合成することを検討した。さらに、5'-FDA を合成するための 2 段階酵素反応を連続して行うための条件検討を行った。酵素 MetK と酵素フルオリナーゼ、フルオリドイオンの存在下 ATP と L-メチオニンから one-pot 反応 5'-FDA を創製する条件を検討した。その結果、フルオリドイオンの濃度が ATP と L-メチオニンから MetK 存在下、SAM 合成に大きな影響を与えることを明らかにし、さらに、L-メチオニンの濃度も 5'-FDA を合成するためには重要な要素であることを明らかにしている。

上記の系に酵素 methylthioadenosine nucleosidase (MtnN) を添加して、3 連続酵素反応を one-pot で行い 5-FDR を創製するための最適化条件の検討を行った。連続する 3 つの酵素反応を one-pot 下で行うための条件を見だし、5-FDR を ATP から 20% 以上の転換率で創製することが出来た。

#### C. 継続可能なフッ素源を利用するフッ素資源循環型システムへの試み

実的に使用されたフッ素系物質をフッ素源として使い、フッ素資源循環型システムとしての 5-FDR の創製法としては、各種の BF<sub>4</sub><sup>-</sup> イオン液体をフッ素源として利用することにより、10% 程度の転換率で行うことが出来た。さらに、BTF を菌体 *Rhodococcus* sp. により分解した分解液をフッ素源として利用し、5-FDR を創製する one-pot 反応系の構築にも成功し、フッ素資源循環型システムの構築の詳細を検討している。

### 3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

(理由)

目的としている異分野融合によるフッ素資源循環型システムの構築に関しては、バイオテクノロジーの技術によるフッ素系分解菌の探索を行い、いくつかの分解菌を見だし一部の結果については論文(4)に報告している。さらに、この結果を利用することにより精製したフッ化物イオンを酵素(フルオリナーゼ)により基質 SAM に導入することにも成功しており、フッ素資源循環システムの構築の初期段階には成功し、論文(2)に報告している。また、酵素(フルオリナーゼ)の認識部位近傍のアミノ酸を部位特異的変換法により種々のアミノ酸を入れ替え、進化型フッ素化酵素の創製を試み、創製した進化型フッ素化酵素がフッ素化能を発現することを見だし、基礎的な知見を得ている。

さらに、連続する3つの酵素反応をone-pot下で行うための条件を見だし、フッ素系物質の合成中間体である5-FDRをATPとL-メチオニンを出発原料とする創製経路を開発し、ATP から20%以上の転換率で5-FDRを創製する方法についても見だししており、論文として投稿するための準備をしている。学会発表(2)で報告したように、多フッ素化合物を分解可能な菌体についての探索も進行しており、研究は順調に進行している。

4. 今後の研究の推進方策

3段階の連続する酵素反応によって創製している合成中間体5-FDRにさらなる酵素反応を考慮してバイオテクノロジーの方法で有用物質へと変換する方法を検討する。現時点では、ATPから5-FDRへの変換率が20%余であり、変換効率をできるだけ向上させるための酵素反応系として、固定化酵素法などを検討する。

さらに、フッ素系物質の分解を促進する菌体、特に多フッ素系フッ素化合物を分解する菌体を探索する。また、フッ素系物質の分解に関与している遺伝子を解明するために、様々な方法を検討し、フッ素系物質の資源循環システムの構築を試みる。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

1. N. Iwai, K. Nakayama, T. Kitazume  
Antibacterial activities of imidazolium, pyrrolidinium and piperidinium salts  
*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, *21*, 1728-1730.  
査読 有
2. N. Iwai, Y. Tsuboki, M. Kitazume,

T. Kitazume

Enzymatic fluorination using fluoride ion generated from degradation of fluorinated materials

*J. Fluorine Chem.* 2010, *131*, 369-372.

査読 有

3. N. Iwai, T. Tanaka, T. Kitazume,  
Utility of ionic liquid for improvement of fluorination reaction with immobilized fluorinase

*J. Mol. Catal. B: Enzymatic* 2009, *59* (1-3),

131-133.

査読 有

4. N. Iwai, R. Sakai, S. Tsuchida, M. Kitazume,

T. Kitazume

Screening of fluorinated materials degrading

Microbes

*J. Fluorine Chem.* 2009, *130*, 434-437.

査読 有

[学会発表] (計5件)

1. 渡辺洋介、岩井伯隆、北爪智哉  
生物機能を利用したフッ素資源回収プロセスの構築  
第34回フッ素化学討論会、札幌、  
10月18日、2010
2. 矢野憲一、岩井伯隆、北爪智哉  
*Rhodococcus* 属細菌によるフッ素化合物の生分解  
日本分子生物学会、神戸、  
12月7-10日、2010
3. 田中孝昌、北爪智哉、岩井伯隆  
固定化フルオリナーゼの活性向上とイオン液体の効果  
第32回フッ素化学討論会、名古屋、  
11月18日、2008
4. 北爪智哉、岩井伯隆、北爪麻己、王田紗規子、坪木悠斗、明石哲樹  
異分野技術の融合によるフッ素資源循環型システムへの挑戦  
第32回フッ素化学討論会、名古屋、  
11月17日、2008
5. 太田 敬、岩井伯隆、北爪智哉  
組換え体 *Candida rugosa* Lipase 1 によるフッ素の認識  
第33回フッ素化学討論会、東京、  
10月20日、2009

[その他]

ホームページ

<http://www.kitazume.bio.titech.ac.jp/>