

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 7 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009～2012

課題番号：21248037

 研究課題名（和文）ダイオキシン「2,3,7,8-TCDD」を標的とする持続的広域的  
環境修復技術の創出

 研究課題名（英文）Molecular biology of microbial degradation of 2,3,7,8-TCDD for effective  
remediation of polychlorinated dioxins-contaminated areas.

研究代表者

片山 義博 (KATAYAMA YOSHIHIRO)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：10214339

研究成果の概要（和文）：本研究は、多塩素置換ダイオキシン（2,3,7,8-TCDD）が、*Geobacillus* sp. UZO-3 株の生産する酵素により還元解裂される事を明らかにし、その酵素遺伝子のクローニングに成功した。2,3,7,8-TCDD 還元解裂酵素遺伝子は、351 塩基から構成され 116 アミノ酸をコードし、その還元解裂酵素は特徴的な CoA 結合部位を持ち、CoA を補因子として 2,3,7,8-TCDD の還元解裂を触媒している事を解明した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we are the first to demonstrate that *Geobacillus* sp. UZO3 cell free extract reductively cleavages the diaryl ether bonds of 2,3,7,8-TCDD in a sequential fashion. Furthermore, we succeeded in characterization of the gene, which contains an open reading frame of 351 bp encoding 116 amino acids. The enzyme has a CoA-binding site and reductively cleavages 2,3,7,8-TCDD using CoA as the hydrogen donor.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	13,700,000	4,110,000	17,810,000
2010 年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2011 年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2012 年度	7,200,000	2,160,000	9,360,000
年度			
総計	36,100,000	10,830,000	46,930,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・環境農学

キーワード：ダイオキシン，環境浄化，2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, 2,7-dichlorodibenzo-*p*-dioxin, ダイオキシン蛍光アナログ，ダイオキシン還元解裂酵素，遺伝子ライブラリー，遺伝子クローニング

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (2,3,7,8-TCDD) をはじめとする多塩素置換ダイオキシンの分解に関する研究は、世界的に勢力的に取り組みられたが、期待された成果を得るには至らなかった。日本では平成 12 年 1 月 (2000 年) に施行された「ダイオキシン類特別措置法」により、産業廃棄物処理施設などからの多塩素置換ダイオキシン類の排出量は大幅に減少した。しかし、それまでに

排出されたダイオキシン類の多くは土壌や湖沼・港湾の底質に蓄積され、蓄積量は減少していないという事が示されていた（環境省ホームページ）。

(2) 一方 2,3,7,8-TCDD の生命に及ぼす病理作用に関する医学研究は活発に進められ、生殖制御の攪乱だけでなく、ユビキチン・リガゼ複合体形成に作用して蛋白質分解に影響し、発癌や奇形を誘導する事 (Ohtake *et al*, *Nature*, 446, 562, 2007)、染色体のエ

ピジェネティクスを攪乱して、生物の基本的な制御機構に深刻な影響を及ぼす事が示された(例えば、細胞工学、26(12), 1397, 2007)。その後、今日まで 2,3,7,8-TCDD が、生殖系の細胞制御をかく乱する分子機構や IL6 の誘導かく乱を介したカン化機構の解明が続けられ(例えば、Dinatale B C *et al.* J. Biol. Chem. 24388, 285, 2010, Mol. Carcinog. 173, 50, 2011, Ohtake *et al.*, J. Steroid Biochem Mol. Biol. 102, 127, 2011)、胎児や子どもに対する影響やガン化の分子機構が明らかにされている。その事とは対照的に、2000 年頃まで国内外で多くの研究者が取り組んだダイオキシンの微生物分解に関する研究は、Wittich らの *Sphingomonas sp.* RW1 株 (Appl. Environ. Microbiol. 58, 1005, 1992) や、Habe らによる (Appl. Environ. Microbiol. 67, 3610, 2001) 研究を中心に、2 塩素置換までの低塩素置換体のダイオキシンの分解機構を明らかにした以降、2,3,7,8-TCDD を含む多塩素置換ダイオキシンの微生物分解に関する研究は急速に減少した。

(3) 本研究を開始した 2009 年、環境中に蓄積され胎児や生殖系細胞をかく乱し、様々な細胞のガン化を引き起こす毒性の最も高い 2,3,7,8-TCDD は、環境中の微生物により分解されるのか? 生物進化の過程で形成された生態系の多様な微生物機能をもってしても、分解する事が出来ないのか? 多塩素置換ダイオキシ、2,3,7,8-TCDD に係る科学上の最も重要な基本問題は未解決のまま残されていた。

## 2. 研究の目的

本研究の第一の目的は、ダイオキシ、2,3,7,8-TCDD の *Geobacillus sp.* UZO-3 株 (寄託番号 NITE P-203) による分解機構解明と、それに関与する酵素遺伝子を解明する事である。この事を通して、多塩素置換ダイオキシ、2,3,7,8-TCDD に係る科学において、今なお未解決の基本問題に対し、科学的検証に耐えうる実験的事実を提示する事である。

本研究の第二の目的は、*Geobacillus sp.* (UZO-3 株) の有する多塩素置換ダイオキシ (TCDD) 分解に関与する酵素や遺伝子機能を、遺伝子工学基盤技術を用いて利用する事により、世界各地の土壌や湖沼、港湾の底質に蓄積し、生殖障害やガン化など世代を超えて深刻な影響を持つ多塩素置換ダイオキシ、2,3,7,8-TCDD の除去技術を開発する事である。

## 3. 研究の方法

(1) 好気高温菌 *Geobacillus sp.* (UZO-3 株) 無細胞抽出液による 2,3,7,8-TCDD 分解機構の解析。

*Geobacillus sp.* (UZO-3 株) の培養細胞をフレンチプレスで破碎した後、遠心分離によ

り得られた上澄画分を無細胞抽出液とした。酵素分解反応は、100mM リン酸緩衝液 (pH7.0) に懸濁した無細胞抽出液に、0.1mM 2,3,7,8-TCDD/DMSO、 $^{14}\text{C}$ -2,3,7,8-TCDD/DMSO 溶液を加え、65°C、18 時間保った。コントロールは、それらの反応液から 2,3,7,8-TCDD などの基質、あるいは無細胞抽出液を除いた。反応終了後、塩酸酸性下、酢酸エチルで抽出し、TMS 誘導体として GC-MS により分析した。また、 $^{14}\text{C}$ -2,3,7,8-TCDD の場合は、TLC およびイメージアナライザー (BAS) を用いて分析した。

(2) 塩素化ダイオキシ、2,3,7,8-TCDD 汚染土壌の摩砕画分と *Geobacillus sp.* (UZO-3 株) による浄化。

塩素化ダイオキシ、2,3,7,8-TCDD 汚染土壌を摩砕処理後、ダイオキシ、2,3,7,8-TCDD 汚染の 90% を吸着している画分 (シルト画分) を分離した。高濃度に濃縮された汚染シルト画分 (土壌体積は 10% 程度に減少) を対象に *Geobacillus sp.* UZO3 による分解浄化方法を検討した。まず、高濃度汚染シルトに吸着している塩素化ダイオキシ、2,3,7,8-TCDD を分解可能な状態に遊離 (抽出) させる方法を検討し、高濃度汚染シルトに対する *Geobacillus sp.* UZO3 の分解能を評価した。

(3) *Geobacillus sp.* (UZO-3 株) 2,3,7,8-TCDD 還元解裂酵素遺伝子のクローニング

*Geobacillus sp.* (UZO-3 株) のゲノム DNA から、30~40Kb の DNA 断片を挿入できる大腸菌 フォスミドベクター pCC1FOS (Takara) を用いてライブラリーを作製した。2,7-DCDD に対する分解活性を示す大腸菌組換え体から、組換えベクターを単離し、*Geobacillus sp.* (UZO-3 株) 由来 DNA 断片の制限酵素地図を作成し、2,3,7,8-TCDD に対する分解活性を示す DNA 領域を特定するとともに、その塩基配列を決定し、2,3,7,8-TCDD 分解機構を解明した。

(4) 大腸菌による 2,3,7,8-TCDD 分解酵素の大量生産と遺伝子組換え植物の育成

2,3,7,8-TCDD 分解酵素遺伝子を、大腸菌の高発現ベクター pET の T7 プロモーター下流に連結し、2,3,7,8-TCDD 還元分解酵素の高生産と精製法を検討した。2,3,7,8-TCDD 分解酵素遺伝子を Ti プラスミドに連結し遺伝子組換えタバコを育成し、その 2,3,7,8-TCDD に対する分解活性を評価した。

## 4. 研究成果

(1) *Geobacillus sp.* (UZO-3 株) 無細胞抽出液による 2,3,7,8-TCDD 分解反応機構の解析

*Geobacillus sp.* (UZO-3 株) の無細胞抽出液の、2,7-DCDD、2,3,7,8-TCDD、放射性  $^{14}\text{C}$ -2,3,7,8-TCDD に対する酵素反応生成物の GC-MS, TLC, BAS 分析の結果を図 1-6 に示した。本研究で使用した 2,7-DCDD は、Accu Standard (New Haven, Conn.) から 2,3,7,8-TCDD は、Cerilliant (Texas, USA) から、放射性  $^{14}\text{C}$ -2,3,7,8-TCDD は、Chemsyn Chemical

Corp. (Lenexa, Kansas, USA)から購入した。2,7-DCDDの酵素反応生成物分として、4,5-dichloro 2-hydroxydiphenyl ether (DCDE)と、DCDEの還元解裂で生成する4-chlorophenol(4CP)を検出した(図1,2)。4CPの同定は市販標品との比較により、DCDEの同定はEvans *et al.* (Tetrahedron letters 39, 2937-2940, 1998)の方法で4-chlorophenyl boronic acidから化学合成したDCDEを標品として行った(図2)。

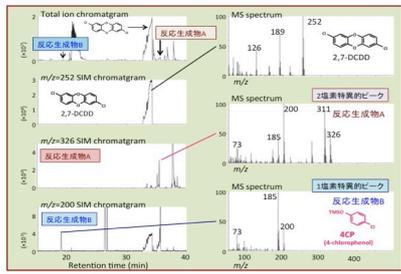


図1 *Geobacillus* sp (UZ0-3株)の無細胞抽出液(粗酵素)による2,7-dichloro dibenzo-*p*-dioxin (2,7-DCDD)の分解生成物のGC-MS分析

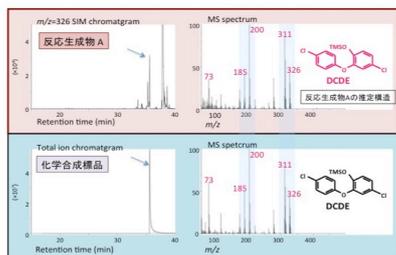


図2 *Geobacillus* sp (UZ0-3株)の無細胞抽出液による分解反応で2,7-DCDDから生成する反応生成物4,5-dichloro 2-hydroxydiphenyl ether (DCDE)の同定 (DCDEの化学合成標品と反応生成物のGC-MS分析)

以上の結果から、*Geobacillus* sp (UZ0-3株)による2,7-DCDD還元解裂機構を提案した(図3)。

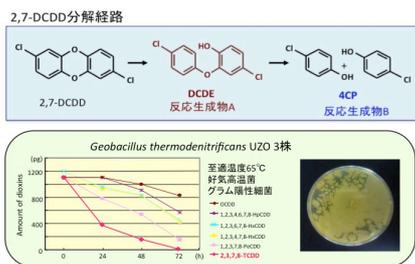


図3 *Geobacillus* sp (UZ0-3株)の無細胞抽出液を用いて明らかにされた、2,7-DCDDの還元解裂反応機構と、培養細胞を用いてこれまでに示されている*Geobacillus* sp (UZ0-3株)の様々な塩素化ダイオキシンに対する分解能

2,3,7,8-TCDDの酵素反応生成物分として、2,7-DCDDと同様に、2,3,7,8-TCDDが還元解裂して生成する3,4,3',4'-tetrachloro 6-hydroxydiphenylether (TCDE)と、その還元解裂で生成する3,4-dichlorophenol (3,4-DCP)を検出した(図4,5)。3,4-DCPの同定は市販標品との比較により、またTCDEはEvans *et al.* (Tetrahedron letters 39, 2937-2940, 1998)の方法で3,4-dichlorophenylboronic acidから化学合成したTCDEを標品として行った。

2,3,7,8-TCDDへの分解活性をさらに検証

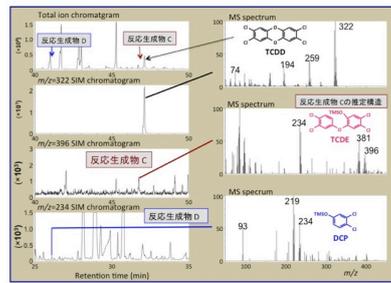


図4 *Geobacillus* sp (UZ0-3株)の無細胞抽出液による2,3,7,8-tetrachloro dibenzo-*p*-dioxin (2,3,7,8-TCDD)の分解生成物のGC-MS分析

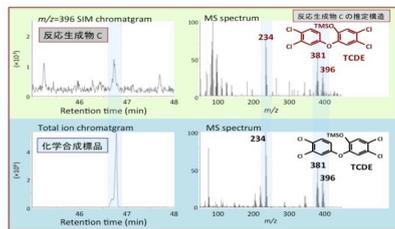


図5 *Geobacillus* sp (UZ0-3株)の無細胞抽出液による分解反応で2,3,7,8-TCDDから生成する反応生成物3,4,3',4'-tetrachloro 6-hydroxydiphenyl ether (TCDE)の同定 (TCDEの化学合成標品と反応生成物のGC-MS分析)

する目的で、放射性 $^{14}\text{C}$ ラベル2,3,7,8-TCDDを用いて酵素反応を行い、TLCおよびBASを用いて、TCDEおよび3,4-DCPと一致する放射性物質を検出する事に成功した(図6)。以上、これまで世界のダイオキシン研究が明らかにしてこなかった2,3,7,8-TCDD分解が、*Geobacillus* sp (UZ0-3株)の無細胞抽出液により進行する事、その反応が還元解裂である事を世界で始めて明らかにする事に成功した(図6)。

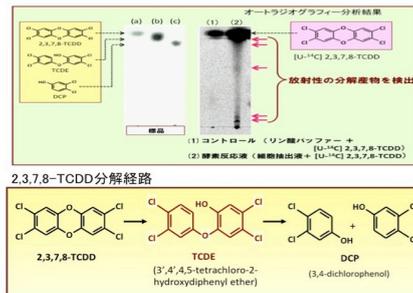


図6 放射性 $^{14}\text{C}$ ラベル2,3,7,8-TCDDを用いた*Geobacillus* sp (UZ0-3株)無細胞抽出液の分解活性評価と、無細胞抽出液による2,3,7,8-TCDDの還元解裂反応機構

(2) 塩素化ダイオキシン汚染土壌の摩砕分画と*Geobacillus* sp (UZ0-3株)による浄化

本研究の重要な課題の一つに、世界各地に存在する2,3,7,8-TCDDの汚染土壌を確実に浄化できる実用技術の確立がある。そのためには、土壌鉱物に強く吸着している塩素化ダイオキシンを、*Geobacillus* sp (UZ0-3株)の酵素により分解可能な状態に遊離させる必要がある。本研究ではダイオキシン汚染地から採取してきた土壌を土壌摩砕装置で処理し、微細粒体であるシルト画分(0.02-0.002mmの鉱物)に、塩素化ダイオキシンの90%が吸着している事を明らかにした(図7)。汚染ダイオキシンの90%を含むシルト画分を分離する事で土壌処理量は10%に低減できる。高濃度でシルト画分に含まれる塩素化ダイ

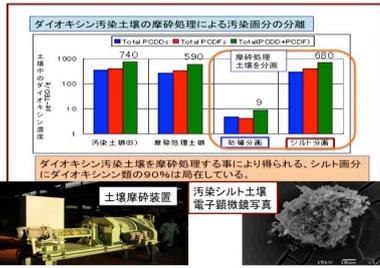


図7 塩素化ダイオキシン汚染土壌の摩砕処理と土壌面分による、塩素化ダイオキシン汚染のシルト面分への濃縮と分離 (塩素化ダイオキシン汚染土壌の処理量を大きく低減させる事が出来る)

オキシンはシルトのケイ酸塩に吸着している。ケイ酸塩に吸着したダイオキシンはフミン酸の添加により25%が遊離し、その繰り返しにより効果的にシルトから遊離できる事を明らかにした(図8)。

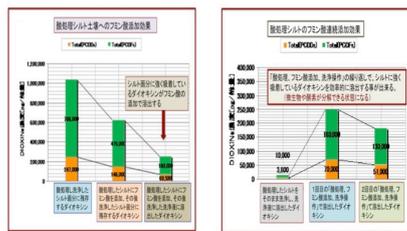


図8 塩素化ダイオキシン汚染土壌のシルト面分へ吸着しているダイオキシンの溶出分離に及ぼすフミン酸処理効果

フミン物質と *Geobacillus sp.* UZ0-3 を添加する事により、シルト中の塩素化ダイオキシンを7日後には50%減少させる事に成功した(図9)。この成果に基づいてダイオキシン汚染土壌の浄化を行う実用技術としてのLCAを実施し、経済性を評価した。

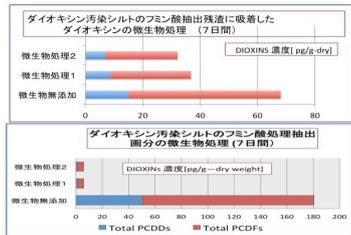


図9 *Geobacillus sp.* (UZ0-3株)細胞による塩素化ダイオキシン汚染土壌の分解処理。(シルト面分に吸着した塩素化ダイオキシンのフミン酸添加による分解性向上)

### (3) 好気高温菌 *Geobacillus sp.*(UZ0-3株)の2,3,7,8-TCDD還元解裂酵素をコードする遺伝子のクローニングと反応機構の解明

本研究は、*Geobacillus sp.* (UZ0-3株)の有する2,3,7,8-TCDDの還元解裂酵素遺伝子を同定し、その遺伝子配列やアミノ酸配列から酵素反応機構を解明する。まず *Geobacillus sp.* (UZ0-3株)の遺伝子ライブラリーから、2,7-DCDDに分解活性を示す大腸菌の組換え体2種類を単離した(図10)。得られた大腸菌組換え体には、図10に示す重複部分を有する2種類のプラスミドDNA (pCDE9, pCDE1)が保持されていた。重複部分のDNA領域を解析し、8.4Kbp領域に2,7-DCDDに対する還元解裂酵

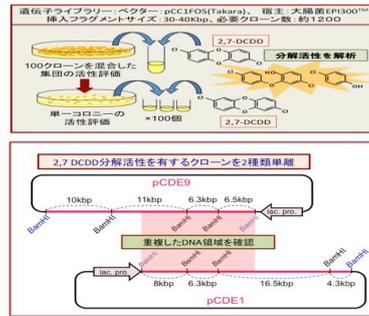


図10 *Geobacillus sp.* (UZ0-3株)ゲノムライブラリーからの2,7-DCDD還元解裂酵素遺伝子を含む候補クローンの単離と制限酵素地図

素活性(2,7-DCDDからDCDEへの分解、DCDEから4CPへの分解活性)がコードされている事を見いだした(図11)。

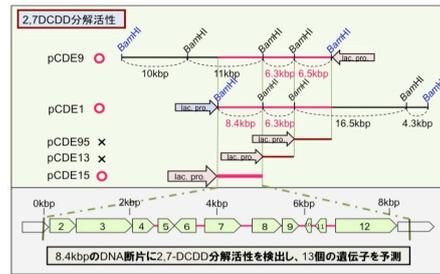


図11 2,7-DCDDの還元解裂酵素遺伝子を含む8.4kbp領域(pCDE15)の特定とそこに含まれる13種の遺伝子配列(ORF)の同定

8.4kbpのDNA配列の解析から、13個の遺伝子(orf)の存在が予測された(図11)。さらに詳細な断片解析から、orf5を含む約400bpの *Nde11-Nhe1* 領域に2,7-DCDDに対する2段階の還元解裂酵素活性が認められた。この *Nde11-Nhe1* 断片を、T7プロモーター下流に連結した大腸菌プラスミド(pETE)を作成し、それを導入した大腸菌の無細胞抽出液を用いて2,3,7,8-TCDDに対する2段階の還元解裂活性(2,3,7,8-TCDDからTCDEの生成、TCDEから3,4-DCPの生成)を確認した(図12)。

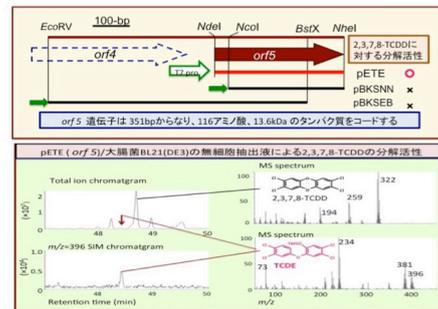


図12 *Geobacillus sp.* (UZ0-3株)の2,3,7,8-TCDDおよび2,7-DCDD還元解裂酵素遺伝子の同定と、大腸菌での2,3,7,8-TCDDの分解活性

酵素活性を示す含約400bpの *Nde11-Nhe1* 領域の詳細な解析は、2,3,7,8-TCDDの還元分解酵素遺伝子が、全長351bpのDNA配列を有し116アミノ酸配列の酵素タンパク質をコードしている事を明らかにした(図13)。

さらに酵素タンパク質のアミノ酸の相同

性検索は、*Bacillus* や *Staphylococcus* などグラム陽性菌でその例が知られている CoA を補因子とする還元酵素の、CoA 結合部位と予測されたアミノ酸配列 (I-S-V、G-K、delCardayre *et al.* *J. Biol. Chem.* 237, 5744-5751, 1998) が、2, 3, 7, 8-TCDD 還元分解酵素にも保存されている事を明らかにした(図 13)。2, 3, 7, 8-TCDD 還元分解酵素の CoA

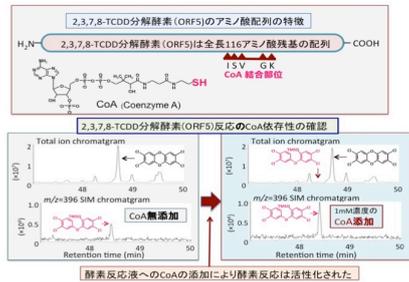


図13 2,3,7,8-TCDD 還元分解酵素に存在する CoA結合部位と、2,3,7,8-TCDD 還元分解反応の CoAによる活性化 (CoA依存性)

依存性を調べる目的で、酵素反応液に 1mM 濃度の CoA を添加し、酵素反応の CoA 添加効果を評価した。2, 3, 7, 8-TCDD の還元分解反応は CoA の添加により促進され、TCDE 生成量の増加 (約 5 倍) が認められた (図 13)。

以上本研究は、これまでに解明されていない塩素化ダイオキシン、2, 3, 7, 8-TCDD の分解酵素遺伝子を *Geobacillus* sp (UZ0-3 株) のゲノム上で同定し、*NdeI*-*NheI* 領域に存在する全長 351bp を持つ *orf5* 遺伝子がコードする、116 個のアミノ酸から成る酵素タンパク質が、CoA を補因子として 2, 3, 7, 8-TCDD や 2, 7-DCDD などの塩素化ダイオキシンの 2 つのビフェニルエーテル結合を順次還元的に解裂する事を世界で初めて明らかにする事に成功した (図 14)。

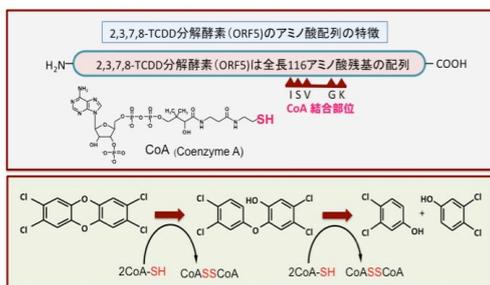


図14 *Geobacillus* sp (UZ0-3株) の 2,3,7,8-TCDD 還元分解酵素遺伝子がコードする酵素タンパク質のアミノ酸配列の特徴と酵素反応機構

(4) 大腸菌による 2, 3, 7, 8-TCDD 還元分解酵素の大量生産と遺伝子組換え植物の育成  
2, 3, 7, 8-TCDD の分解酵素をコードする *orf5* の遺伝子断片を、大腸菌の高発現ベクター-pET の T7 プロモーター下流に連結した多コピープラスミドを大腸菌に導入し、2, 3, 7, 8-TCDD 分解酵素の高生産と酵素精製を試みた。細胞破砕液を 80°C の熱処理する事により、*Geobacillus* sp (UZ0-3 株) 由来の高

熱耐性酵素、2, 3, 7, 8-TCDD 還元分解酵素の酵素活性を保持したまま、それ以外の大腸菌由来のタンパク質を熱変性させる事が可能である。大腸菌由来の変性タンパク質は、遠心分離により効果的に取り除く事が可能で (図 15)、2, 3, 7, 8-TCDD 還元分解酵素は、熱安定性の高い分解酵素として高純度で大量に生産する事が可能と成った。2, 3, 7, 8-TCDD 還元分解酵素は、熱安定性を持ち、その酵素反応活性は 28°C でも十分発揮される事から、容易に環境中に放出できない遺伝子組換え微生物ではなく、安定性の高い酵素試薬として幅広く汚染土壌の塩素化ダイオキシンの分解除去に活用する可能性が示された。

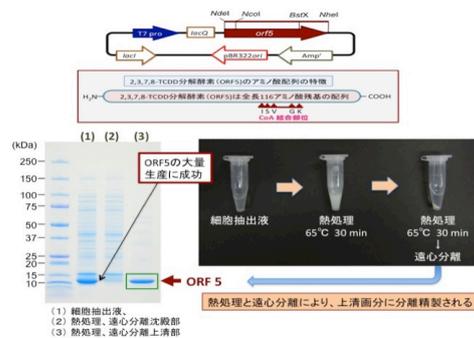


図15 大腸菌による 2,3,7,8-TCDD 還元分解酵素の大量生産と、酵素の耐熱性を利用した活性型酵素の大量精製

本研究は、広域的な塩素化ダイオキシン汚染土壌を持続的に修復する事を目的に、2, 3, 7, 8-TCDD 分解酵素遺伝子を植物に導入し、植物の根の表層での塩素化ダイオキシンの分解を目指した。そのために、Ti プラスミド、pRI121 の CaMV35S-pro. 下流の GUS 遺伝子を 2, 3, 7, 8-TCDD 分解酵素遺伝子に置換した pRI121:*orf5* を作成した (図 16)。作成した T-DNA ベクターをアグロバクテリウム感染法でタバコに導入し、分解酵素遺伝子を保持した植物の育成に成功した (図 16)。しかし根の表層で 2, 3, 7, 8-TCDD 分解酵素活性を検出する事には現時点では成功していない。

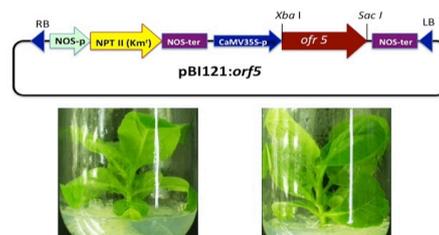


図16 2,3,7,8-TCDD 還元分解酵素遺伝子(*orf5*)を保持する植物用遺伝子発現ベクター (pBI121:*orf5*) の構築と遺伝子組換えタバコの育成

(5) 得られた成果のまとめと今後の展望  
本研究で得られた主要な成果は以下の様にまとめる事が出来る。  
①2, 3, 7, 8-TCDD は、*Geobacillus* sp. UZ0-3 株の無細胞抽出液により還元的に解裂し、中

間物質として TCDE を経由して 3,4-DCP を生成する事を実証した。

② *Geobacillus* sp. UZO-3 株の 2,3,7,8-TCDD 還元解裂酵素遺伝子の単離同定に成功し、351bp から構成され、116 アミノ酸をコードしている事を明らかにした。

③ 2,3,7,8-TCDD 還元解裂酵素は、CoA 結合領域を持ち、CoA 依存的に酵素反応が進行している事を実証し、2,3,7,8-TCDD 分解に関する酵素反応の分子機構を明らかにした。

今後の展望として、世界各地の土壌や湖沼に蓄積したダイオキシンを、本研究で大量生産に成功した安定性の高いダイオキシン分解酵素を用いる事で、遺伝子組換え微生物を直接用いない環境修復技術として、貢献する事が期待される。

#### 5. 主な発表論文等

(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 12 件)

① Y. Suzuki, M. Nakamura, Y. Otsuka, N. Suzuki, K. Ohyama, T. Kawakami, K. Sato, S. Kajita, S. Hishiyama, T. Fujii, A. Takahashi, Y. Katayama “Development of Highly Sensitive Assay for Enzyme-Mediated Reductive Degradation of Polychlorinated Dibenzop-dioxin” *Environmental Toxicology and Chemistry*. (査読あり) **31**, 2012, 1072-1075, DOI:10.1002/etc.1775

② Y. Suzuki, M. Nakamura, Y. Otsuka, T. Kawakami, K. Sato, S. Kajita, S. Hishiyama, Y. Okamura, A. Takahashi, Y. Katayama, “Enzymatic activity of cell free extract from *Geobacillus* sp. UZO 3 catalyzes reductive cleavage of diaryl ether bonds 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin” *Organohalogen Compounds*. (査読あり) **73**, 2011, 1400-1403.

③ Y. Suzuki, M. Nakamura, Y. Otsuka, N. Suzuki, K. Ohyama, T. Kawakami, K. Sato, S. Kajita, S. Hishiyama, T. Fujii, A. Takahashi, Y. Katayama “Novel enzymatic activity of cell free extract from thermophilic *Geobacillus* sp. UZO 3 catalyzes reductive cleavage of diaryl ether bonds of 2,7-dichlorodibenzo-*p*-dioxin” *Chemosphere*. (査読あり) **83**, 2011, 868-872. DOI:10.1016/j.chemosphere.2011.02.068. Epub 2011 Mar 23.

[学会発表] (計 17 件)

① Y. Otsuka, Y. Suzuki, M. Nakamura,

T. Kawakami, K. Sato, S. Kajita, S. Hishiyama, A. Takahashi, Y. Katayama “Microbial Degradation of 2,7-dichlorodibenzo-*p*-dioxin by Reductive Cleavage of Diaryl Ether Bonds” 32nd International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2012), 2012 年 8 月 26 日～31 日, Cairns, Australia

② M. Nakamura, Y. Suzuki, Y. Otsuka, T. Kawakami, K. Sato, S. Kajita, S. Hishiyama, A. Takahashi, Y. Katayama “Novel Enzymatic Activity of Cell-Free Extract from Thermophilic *Geobacillus* sp UZO 3 Catalyzes Reductive Cleavage of Diaryl Ether Bonds of 2,7-Dichlorodibenzo-*p*-Dioxin” International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010), 2010 年 12 月 15 日～20 日, Honolulu, USA

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: ダイオキシン類分解剤およびダイオキシン類の分解方法

発明者: 片山義博, 中村雅哉, 大塚裕一郎, 鈴木悠造, 高橋惇

権利者: 日本大学、(独) 森林総合研究所、高砂熱学工業株式会社、環テック株式会社

種類: 特許

番号: 特願2012-53305

取得年月日: 平成24年3月9日

国内外の別: 国内

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

片山 義博 (KATAYAMA YOSHIHIRO)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号: 10214339

(2) 研究分担者

中村 雅哉 (NAKAMURA MASAYA)

(独) 森林総合研究所・きのこ微生物研究領域・微生物機能解析チーム長

研究者番号: 50353793

大塚 祐一郎 (OHTSUKA YUICHIRO)

(独) 森林総合研究所・バイオマス化学研究領域・主任研究員

研究者番号: 80455261

高橋 惇 (TAKAHASHI ATSUSHI)

高砂熱学工業株式会社・常務執行役員

研究者番号: 60501369

佐藤 かな (SATO KANNA)

東京農工大学・農学研究院・助教

研究者番号: 40456603

梶田 真也 (KAJITA SHINYA)

東京農工大学・農学研究院・准教授

研究者番号: 40323753

