

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：33501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05053

研究課題名(和文)植物バイオマス循環資源化のためのメタル化ペプチド人工酵素の創製

研究課題名(英文)Development of Artificial Enzymes for Biomass Valorization based on Metalated Peptide

研究代表者

高谷 光(Hikaru, Takaya)

帝京科学大学・生命環境学部・教授

研究者番号：50304035

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：未活用植物バイオマスの循環資源化を目的として、リグニン/セルロース認識能を有するメタル化ペプチド人工酵素等を開発し、バイオマス中のリグニン/セルロースの直截的かつ選択的分子変換による有用化成品生産法の開拓を目的とした研究を行った。その結果、1)リグニン・多糖類・蛋白質・脂質が混在する高密度な分子夾雑系において、リグニン特異結合する5-12残基程度の基質認識ペプチドを有する人工酵素の創出に成功した。さらに、2)マイクロ波・メカノケミカル条件下において、これらの触媒を用いる木粉、木質リグニン、セルロース、廃棄生花の分解・変換に成功し、有用芳香族分子・機能性セルロースが得られることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物バイオマスの循環資源化は、将来の持続可能な社会形成に必須の鍵技術であるが、これらはリグニン、多糖類、蛋白質、脂質等が混在する生体分子夾雑系であり、これら成分から人類の産業活動に必要な分子を選択的に変換・分離/抽出する高効率かつ低エネルギーな革新的手法が求められている。本研究の社会的意義は、夾雑系から上記成分を認識し、選択的に変換できるペプチド人工酵素の開発に成功したこと。マイクロ波反応・メカノケミカル反応を利用して、高効率・低エネルギーな植物バイオマスの変換と高付加価値化に成功したことである。

研究成果の概要(英文)：Aiming to recycle unused plant biomass, we developed metalated peptide artificial enzymes with lignin/cellulose recognizing ability and conducted research to develop a method to produce useful chemical products by direct and selective molecular conversion of lignin/cellulose in biomass. As a result, 1) we succeeded in creating a peptide artificial enzyme that combines a substrate recognition peptide with a metalated amino acid/peptide having catalytic function, which specifically binds to lignin in a dense molecular mixture of lignin, polysaccharides, proteins, and lipids. Furthermore, 2) we have successfully decomposed and converted wood flour, woody lignin, cellulose, and fresh flower waste using these catalysts under microwave and mechanochemical conditions, and have succeeded in developing a molecular conversion method that yields useful aromatic molecules and functional cellulose.

研究分野：サステイナブル有機化学，バイオマス科学，放射光計測，ペプチド科学

キーワード：未活用バイオマス リグニン セルロース 人工酵素 マイクロ波化学 メカノケミカル反応 X線吸収分光 ケミカルリサイクル

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

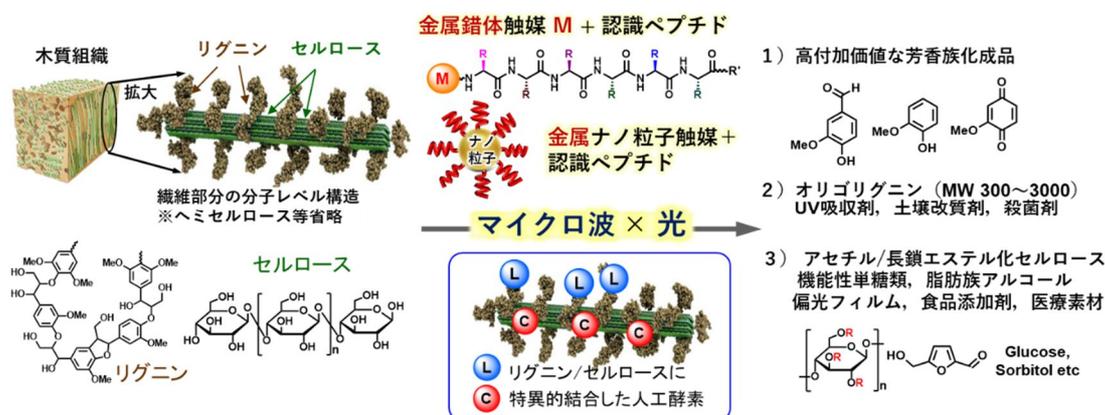
1. 研究開始当初の背景

未活用植物バイオマスの循環資源化を目的として、リグニン/セルロース認識能を有するメタル化ペプチド人工酵素を開発し、バイオマス中のリグニン/セルロースの直截的かつ選択的分子変換による有用化成品生産法を開拓する。ことを目的とした研究を行った。リグニンおよびセルロースは高分子状有機化合物であり、主に植物によって生産・蓄積され、地球上におけるその存在量は、セルロース、リグニンの順で1, 2番目となり、地球上に蓄積される有機物として最大の資源量となる。正確な総量の推定は難しいが、世界森林資源評価 FRA20201 からは2020年の森林由来炭素蓄積量は3630億t(土壌除く)であり、これらを同年の原油生産量340億tと比べるとその潜在的な化学資源としての重要性は一目瞭然である。

2. 研究の目的

本研究では、生体分子夾雑系たるバイオマスを基質として、リグニン/セルロース選択的な分解・変換を行える人工酵素・革新反応技術を開発し、廃棄物系バイオマスのアップサイクリングによる循環資源化の達成を目的とした研究を行った。そのために、以下の要素技術の開発に注力した研究を推進した。

- (1) 人工酵素：リグニン・多糖類・蛋白質・脂質が混在する高密度な分子夾雑系において、リグニン/セルロースに特異結合する5~15残基程度の基質認識ペプチドを連結した人工金属酵素を創出する。
- (2) 革新反応技術：マイクロ波・光反応の創発が可能な反応装置を開発し、マイクロ波による固形バイオマス内部の直接・高効率・選択的な加熱による基質活性化および光による基質・触媒中間種の活性化の創発的に基づくバイオマス分解・変換反応技術を確立する。
- (3) 先端X線計測技術：顕微XAFSイメージング等の先端X線計測技術を活用し、固形バイオマス中における触媒の分布・動態の可視化および“その場”観察による触媒反応機序の解明に取組み、バイオマス分解・変換の学術基盤を確立する。



3. 研究の方法

本提案では、1) 基質認識能を有する~10残基程度の基質認識ペプチドと金属錯体を結合したメタル化ペプチド人工酵素の創出、2) ペプチド人工酵素を活用した植物バイオマス分子夾雑系からの高難度分子変換法の開発を行う。

- (1) リグニン/セルロース認識ペプチド-金属錯体結合型人工酵素の開発: リグニン/セルロース結合能を有するペプチドと、触媒機能を有する遷移金属錯体を連結したメタル化ペプチド触媒を合成する。認識ペプチドの合成および金属触媒導入は、申請者らがこれまでの基盤研究において開発した反応条件を用いて行う。リグニン/セルロース認識ペプチドおよび金属錯体触媒としては、以下に示す1) - 4)を用いる。

リグニン分解触媒: リグニン中に最大60%含まれる β -O-4部分構造の酸化変換のため、申請者らが開発したピンサー型Ru錯体結合型アミノ酸 (*Chem. Asian. J.* 2016, *Org. Biomol. Chem.* 2016) およびフルオロスルホニルアミド配位子を有するFe/Mn錯体 (特願2018-195240, PCT/JP2019/042231) を用いる。

セルロース変換触媒: ダイセル社との共同研究によってセルロースのアセチル化および各種エステル化に高活性を示すことが見出されたフルオロスルホニルアミド配位子を有する各種ルイス酸触媒の中で、最も高い活性を示したHf錯体に注力した研究を行う。

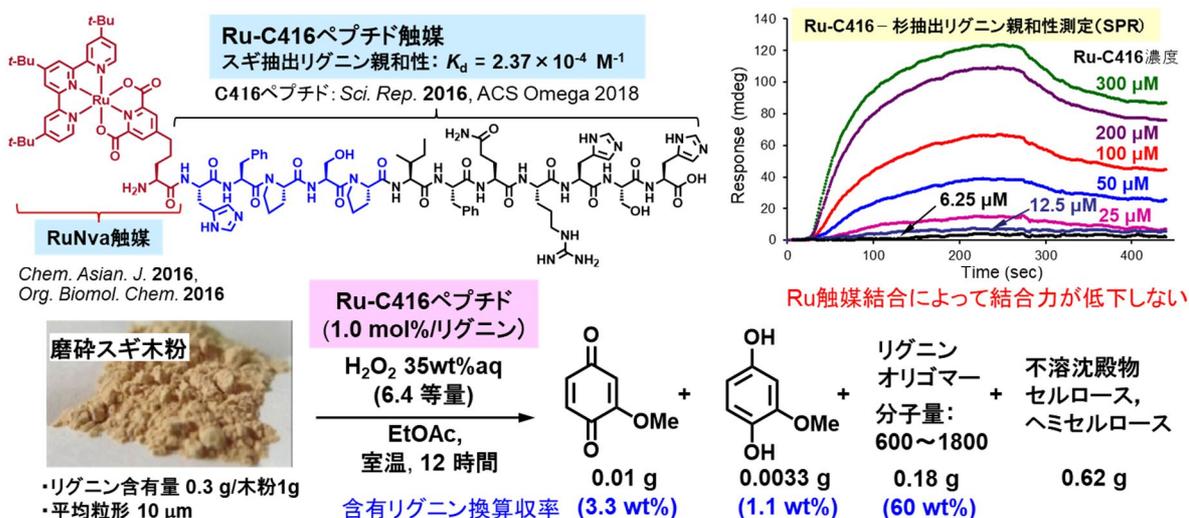
リグニン認識ペプチド: ファージディスプレイを用いて、申請者らが探索・発見に成功した12残基のC416ペプチド (*Sci. Rep.* 2016, *ACS Omega* 2018) を用いる。また、本研究においてリグニン認識能に必須の最小配列として見出された5残基配列 (図中青色 C416-ES5mer) を、認識機構研究のモチーフとして用いる。

セルロース認識ペプチド：Senderowitz らによって、セルラーゼのセルロース認識部位（36 残基 CBM: Cellulose-Binding Module）のアミノ酸配列を元に分子動力学計算（MD）によって見出された 18 残基の pepC ペプチド（*J. Phys. Chem. B* 2016, 120, 309）を用いる。

- (2) リグニン/セルロース分解・変換反応：上記触媒等を用いて、リグニンおよびセルロース単独の分解・変換反応を検討し、続いて木質夾雑系モデルとしてリグニン-セルロースを任意の割合で混合した基質を用いて分解・変換反応検討と SPR/蛍光異方性測定などによる触媒-基質相互作用機序の基礎研究を行うとともに、所望の生成物を与える反応条件の検討を行う。目的生成物として、リグニンについてはバニリンやリグノケトン、セルロースについては位置選択的エステル化ナノセルロースとフルフラール類に注力する。最後に、これら基礎検討で決定した触媒・反応条件を用いて、未活用バイオマスとして重要な、リグニン廃液、木粉（廃棄木材）、パルプ、コットンリッター、稲藁(廃棄農産物)等の分解・変換反応について検討を行う。

4. 研究成果

上記の研究計画に従い、触媒機能を有する金属錯体が結合したアミノ酸・ペプチドを基盤とする人工酵素系の開拓を行い、リグニン分解能について詳細な検討を行った。その結果、これまでの研究において応募者らが開発した天然の金属酵素を凌駕し得る選択性、反応性を示す人工酵素研究（有合化, 2018 等）で見出したリグニンのモデル基質に対して高い酸化活性や加水分解特性を示す Ru, Pd 結合型アミノ酸とリグニン認識能を示す 12 残基ペプチドを結合した人工酵素 RuNva-C416 が木質リグニン分解に高い活性を示すことを明らかにした。本触媒の存在下に、木粉の H₂O₂ 酸化を行うと、木粉中リグニンの選択的分解が進行して、対応するリグニン分解物である芳香族分子と未反応のセルロース・ヘミセルロースが得られる。尚、RuNva-C416 人工酵素では、リグニン認識ペプチドに Ru 触媒を結合してもリグニン認識能が低下しないこと、スギ木質切片を RuNva-C416 溶液に含浸した後に顕微観察を行うと、リグニン豊富な木質組織が特異的に染色されること、ファージディスプレイ探索において繰り返し現れる 5 残基(図中青色部分) がリグニン認識に必須であることを明らかにしている。



さらに応募者らは、水および有機溶媒に対して基本的に不溶性固体であるリグニンに対して、透過性が高く基質内部を直接加熱できるマイクロ波やボールミル等の機械的刺激に基づくメカノケミカル反応を用いる脱重合・変換反応について詳しい検討を行った。これらの反応手法は、古くから行われてきたが、前者では選択性やエネルギー効率に劣るマグネトロン利用が主体であり、後者ではセルロースの分離や酸化的手法が一般的であり、その選択性は概して低く、分解物同士の望まない副反応等が多く、有効な手段として確立していなかった。そこで応募者らは、GaN 半導体発振型のマイクロ波反応装置の開発・利用と還元メカノケミカル反応によるリグニン類の脱重合・変換反応の検討を行った。その結果、前者では 100℃, 30 分という低温・短時間で木質リグニンからの Hibert ケトン類の製造・変換が可能であり、木質を原料とする発光性原料が直接得られること。後者では、アルカリ金属類と木粉の直接固相反応により、還元的な分解が進行し、化成品として有用なバニリンやグアイアコール類が得られることを見出した。

今後は、これらの革新反応技術と人工酵素を組み合わせることによって、未活用バイオマスである木質リグニン/セルロース等の低エネルギー・高効率な分解・変換反応を基盤とする植物バイオマスの循環資源化研究に取組みたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Kobayashi Hiroshi, Masuda Yusuke, Takaya Hikaru, Kubo Takuya, Otsuka Koji | 4. 巻 94 |
| 2. 論文標題 Separation of Glycoproteins Based on Sugar Chains Using Novel Stationary Phases Modified with Poly(ethylene glycol)-Conjugated Boronic-Acid Derivatives | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Chemistry | 6. 最初と最後の頁 6882 ~ 6892 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.2c01002 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Muranaka Atsuya, Ban Hayato, Naito Masaya, Miyagawa Shinobu, Ueda Masahiro, Yamamoto Shin, Harada Mei, Takaya Hikaru, Kimura Masaki, Kobayashi Nagao, Uchiyama Masanobu, Tokunaga Yuji | 4. 巻 95 |
| 2. 論文標題 Naked-Eye-Detectable Supramolecular Sensing System for Glutaric Acid and Isophthalic Acid | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan | 6. 最初と最後の頁 1428 ~ 1437 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20220195 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Ueda Masahiro, Kimura Masaki, Miyagawa Shinobu, Naito Masaya, Takaya Hikaru, Tokunaga Yuji | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Four- and two-armed hetero porphyrin dimers: their specific recognition and self-sorting behaviours | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry | 6. 最初と最後の頁 387 ~ 395 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D10B01694F | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Takahashi Rina, Hu Anqi, Gao Pan, Gao Yunpeng, Pang Yadong, Seo Tamae, Jiang Julong, Maeda Satoshi, Takaya Hikaru, Kubota Koji, Ito Hajime | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Mechanochemical synthesis of magnesium-based carbon nucleophiles in air and their use in organic synthesis | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Nature Communications | 6. 最初と最後の頁 6691-6701 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-26962-w | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Tajima Shinya, Muranaka Atsuya, Naito Masaya, Taniguchi Noriho, Harada Mei, Miyagawa Shinobu, Ueda Masahiro, Takaya Hikaru, Kobayashi Nagao, Uchiyama Masanobu, Tokunaga Yuji | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Synthesis of a Mechanically Planar Chiral and Axially Chiral [2]Rotaxane | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Organic Letters | 6. 最初と最後の頁 8678 ~ 8682 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.1c02983 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Matsukawa Yuta, Muranaka Atsuya, Murayama Tomotaka, Uchiyama Masanobu, Takaya Hikaru, Yamada Yoichi M. A. | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Microwave-assisted photooxidation of sulfoxides | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 20505-20515 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-99322-9 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名 Isozaki Katsuhiko, Ueno Ryo, Ishibashi Kosuke, Nakano Genta, Yin Haozhi, Iseri Kenta, Sakamoto Masanori, Takaya Hikaru, Teranishi Toshiharu, Nakamura Masaharu | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Gold Nanocluster Functionalized with Peptide Dendron Thiolates: Acceleration of the Photocatalytic Oxidation of an Amino Alcohol in a Supramolecular Reaction Field | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 ACS Catalysis | 6. 最初と最後の頁 13180 ~ 13187 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscatal.1c03394 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Iwasaki Takanori, Hirooka Yuko, Takaya Hikaru, Honma Tetsuo, Nozaki Kyoko | 4. 巻 40 |
| 2. 論文標題 Lithium Hexaphenylrhodate(III) and -Iridate(III): Structure in the Solid State and in Solution | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Organometallics | 6. 最初と最後の頁 2489 ~ 2495 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.organomet.1c00248 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Matsuyama Tomoki, Kikkawa Soichi, Fujiki Yu, Tsukada Mio, Takaya Hikaru, Yasuda Nobuhiro, Nitta Kiyofumi, Nakatani Naoki, Negishi Yuichi, Yamazoe Seiji | 4. 巻 155 |
| 2. 論文標題 Thermal stability of crown-motif [Au ₉ (PPh ₃) ₈] ³⁺ and [MAu ₈ (PPh ₃) ₈] ²⁺ (M = Pd, Pt) clusters: Effects of gas composition, single-atom doping, and counter anions | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics | 6. 最初と最後の頁 044307 ~ 044307 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0059690 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Adak Laksmikanta, Jin Masayoshi, Saito Shota, Kawabata Tatsuya, Itoh Takuma, Ito Shingo, Sharma Akhilesh K., Gower Nicholas J., Cogswell Paul, Geldsetzer Jan, Takaya Hikaru, Isozaki Katsuhiko, Nakamura Masaharu | 4. 巻 57 |
| 2. 論文標題 Iron-catalysed enantioselective carbometalation of azabicycloalkenes | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Chemical Communications | 6. 最初と最後の頁 6975 ~ 6978 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1CC02387J | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Watanabe Bunta, Makino Katsunori, Mizutani Masaharu, Takaya Hikaru | 4. 巻 91 |
| 2. 論文標題 Synthesis and structural confirmation of calibagenin and saxosterol | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Tetrahedron | 6. 最初と最後の頁 132194 ~ 132194 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2021.132194 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 相田 冬樹, 田川 一生, 本間 徹生, 北山 雄貴, 高谷 光 |
| 2. 発表標題 潤滑油合成を志向したマルチ金属触媒によるエチレン/プロピレンの連鎖移動オリゴマー化 |
| 3. 学会等名 第71回高分子討論会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 マインテイ, 佐々木 善浩, 高谷 光, 澤田 晋一, 秋吉 一成 |
| 2. 発表標題 パルス制御マイクロ波によるタンパク質の熱変性挙動とナノゲル複合化の制御 |
| 3. 学会等名 第71回高分子討論会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hikaru TAKAYA |
| 2. 発表標題 Microwave-Assisted Ni-Catalyzed Coupling Reactions |
| 3. 学会等名 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2021 (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 高谷 光 |
| 2. 発表標題 マイクロ波による有機合成反応制御 |
| 3. 学会等名 第52回中部化学関係学協会支部連合秋季大会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 高谷 光 |
| 2. 発表標題 X線吸収分光による均一系触媒反応機構の解明 |
| 3. 学会等名 日本化学会第11回CSJ化学フェスタ 「大型研究施設を用いた化学研究・材料開発」 (招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|----------------------------------|
| 1. 発表者名 高谷 光 |
| 2. 発表標題 X線吸収分光による均一系触媒反応機構の解明 |
| 3. 学会等名 第128回触媒討論会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 高谷 光 |
| 2. 発表標題 マイクロ波による有機反応制御 |
| 3. 学会等名 日本化学会第101春季年会 特別企画「故きを温ね新しきを知るマイクロ波化学」（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|-------------------|-----------------|
| 1. 著者名 触媒学会（編） | 4. 発行年 2023年 |
| 2. 出版社 朝倉書店 | 5. 総ページ数 548 |
| 3. 書名 触媒総合事典 | |

〔出願〕 計1件

| | | |
|---|--------------|---------------|
| 産業財産権の名称 液体クロマトグラフィー用分離剤、液体クロマトグラフィー用分離カラム及び生体高分子の分離方法 | 発明者 久保拓也 | 権利者 京都大学 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-072250 | 出願年 2023年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

帝京科学大学 教員詳細 高谷光
<https://www.ntu.ac.jp/research/kyoin/seimei/seimei/takaya.html>
 Metals in Synthesis in SYNFACT
<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0041-1737790>
 高谷光 個人ページ
<https://hikaru-chemistry.jp/>
 帝京科学大学 教員詳細 高谷光
<https://www.ntu.ac.jp/research/kyoin/seimei/seimei/takaya.html>
 2021Top25Chemistry&MaterialsSciencesArticles
<https://www.nature.com/collections/gagdjjcgj>

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|