

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2016

課題番号：25660085

研究課題名(和文)希少元素回収・環境浄化を目指したイオノフォア開発研究

研究課題名(英文) Searching ionophores for collecting rare earth elements and cleaning up environmental pollution

研究代表者

植木 雅志 (UEKI, Masashi)

国立研究開発法人理化学研究所・伊藤ナノ医工学研究室・専任研究員

研究者番号：90312264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：イオノフォアは、細菌類が生産する低分子化合物で、陽イオンと特異的に複合体を形成し、生体内外で陽イオンの移動に関わっている。イオノフォアの構造と、それに結合する陽イオンのイオン半径は密接に関わっており、イオノフォアの陽イオンの特異性は極めて高い。微生物代謝産物の中からセシウム特異的に結合する化合物のスクリーニングを行った。約5000株の培養抽出液の中から、2株の候補株と思われる株を見出し、目的物質の同定を試みた。生産性が不安定であることから、培養条件等の検討を行うとともに、セシウムイオンとの親和性も検討を加えた。しかし、セシウムイオンとの結合性がないことが判明し、物質の同定には至らなかった。

研究成果の概要(英文)： Ionophores are small organic molecules produced by microorganisms, and can bind to specific metal ions to form complexes. The structures of ionophores are inextricably linked with the diameter of metal ion, so the specificity of binding to metal ion is very high. Utilizing ionophores, we can effectively collect rare earth elements from various environmental sources. This project mainly focused on searching ionophores, especially specific to Cs, to clean up environmental pollution.

I have screened about 5000 extracts of microorganisms. Two microorganisms were seemed to produce the targeted molecules which might bind to Cs ion, and I tried to identify the active principles. However, the principles could not be determined because their productivities were unstable. Moreover, it was found that the principles purified roughly did not show any affinities to Cs ions.

研究分野：天然物化学

キーワード：微生物代謝産物 セシウム イオノフォア 環境浄化

### 1. 研究開始当初の背景

日本は天然資源に乏しい。化石燃料に依存したエネルギー生産は、二酸化炭素排出を招くだけでなく、世界情勢に影響される原油価格に依存するため、経済的・環境的に負荷が掛かる。近年のエコブームや、震災以降の節電対策の強化に伴って、太陽光発電や高出力モーター、蓄電池などの需要が高まっているが、それらの製造に欠かせないレアメタル（アルカリ金属や希土類金属）の資源も日本は乏しく、世界情勢や産出国の事情で取引価格が変動するため、経済的負荷が大きい。従って、これまで利用してこなかった環境資源から、安定的に採取できれば、それら負荷を抑制することができる。例えば、海水中には0.003%程度のLi+が存在しており、世界の海洋には2000億トン以上あると推測されているが、あまりに濃度が低すぎて、回収はきわめて困難である。

また、2011年3月11日の東日本大震災の影響で起こった福島第一原発事故で飛散した放射性同位元素によって、多くの住民が苦しい生活を強いられている。主たる放射線源である<sup>134</sup>Csと<sup>137</sup>Csは、土壤中に吸着して存在し、降雨でもなかなか拡散しない。日本、特に南東北地方の復興を加速するためにも、除染が急がれるが、遅々として進まない。従って、環境中よりCsを除去し、排水等を浄化する技術の確立が急務であり、日本復興には欠かせない。環境中に極微量存在する特定の元素を回収・利用する技術は、未利用資源を有用資源として活用できる活資源だけでなく、汚染環境から汚染物質を除去する環境浄化など、応用面は非常に広く、その開発が望まれている。

### 2. 研究の目的

イオノフォア派、細菌類が生産する低分子化合物で、陽イオンと特異的に結合し、複合体を形成する。複合体を形成する陽イオンは、それ自身のイオンの大きさとイオノフォアの構造とが密接に関わっており、特定のイオンを捕捉するイオノフォアを開発することによって、様々な用途に利用可能であると考えられる。本申請研究では、特にLi+とCs+に着目し、それらと複合体を形成する新規なイオノフォアの探索を行ない、資源発掘に資するイオノフォア、さらに環境浄化に貢献するイオノフォアへの開発を目指して、その実証実験の基礎を構築することを目的とする。

### 3. 研究の方法

微生物代謝産物から、Li+もしくはCs+に親和性を有する新規なイオノフォアを見だし、それを用いた吸着カラムの開発を行う。イオノフォア探索には、ピクリン酸を用いた呈色反応や質量分析機を用いた定量法を用いて、微生物培養液中にLi+やCs+に親和性が高い低分子のスクリーニングを行なう。見出したイオノフォアを大量に精製し、これを

樹脂に固定化したイオノフォアカラムの作成を行い、浄化カラムとしての吸着性能を検証する。さらに土壤粒子に吸着したCs+の除去性能も検証する。実際の汚染土壤を用いた試験も行い、本申請研究期間内に土壤除染技術の基礎を構築する。また、生合成遺伝子群のクローニングを行い、他のアルカリ金属・アルカリ土類金属にも応用できる基礎を構築する。

### 4. 研究成果

微生物培養抽出物からCs+に特異性の高いイオノフォアの探索系の構築を開始した。多種類の微生物、特に放線菌や糸状菌を、環境サンプルより分離し、培養を行い、各株の培養抽出液を得た。これを、ピクリン酸のセシウム塩と混合し、一定時間後有機溶媒で、イオノフォアとピクリン酸セシウム塩の複合体を抽出し、有機層がピクリン酸の黄色を呈するか否かで、セシウムと結合能を有するイオノフォアの生産を検出することを試みた。しかし、(1)微生物が生産する有色物質に黄色を呈する物質が多く、色（特定の波長の吸光度）での検出が不可能であったこと、(2)質量分析機を用いたCs+を直接検出する系では、培地中のアミノ酸類が極めて近傍にシグナルを示すため、Cs+特有のイオンと断定することが不可能であったこと、などから探索系の構築が困難であった。しかし、抽出する有機溶媒に、ジクロロメタンを用いることによって、アミノ酸類の混入を排除でき、かつMSでのCs+の高感度検出が可能であることを見いだした。

Nonactinをポジティブコントロールとして、微生物培養抽出物からの探索系を構築したところ、Nonactinの含有量が0.5ug/ml程度でも検出可能であり、濃度依存的に検出できる事が分かった。また、微生物培養液中には、多くの無機・有機イオンが溶けており、その中でもCsイオンに結合する物質が見つかれば、実用化に近いと言える。したがって、微生物培養抽出液を粗精製無しに、アッセイに用いることとした。微生物約5000株（放線菌並びに糸状菌）の培養抽出液を用いて、目的物質の探索を行ったところ、2株にCsイオンをジクロロメタン層へ移動させる性質があることが分かった。逆相ODSカラムを用いて、少量をHPLC分画したところ、アセトニトリル50%付近、および80%付近で溶出される280nm付近のUVを吸収する物質が、Csイオンをジクロロメタン層へ移動させる性質があることが分かった。この物質を同定するため、培養条件の検討、精製条件の検討を行ったが、生産性が不安定で、構造を同定するに足りる量を取得することが出来なかった。また、この2種の微生物培養液から目的物質を粗精製し、土壤を使って吸着したCsイオンの遊離効果があるかどうかも検討を行ったが、有意な遊離効果は認められなかった。

また、高濃度セシウム存在下での耐性を指標として、セシウム吸収・吸着微生物の探索も同時に行った。その結果、2株の酵母を候補として見出した。しかし、これらのセシウム蓄積性は認められなかった。

研究期間内に、目的とする物質を見出すことが出来なかったが、今後も、土壌微生物、特に放線菌を中心として、セシウムイオン特異的イオノフォアの探索を進める予定である。本研究において、当該の性質を有する探索方法を確立できたため、これを基本として、探索研究を継続し、放射性セシウムの効率的な除去方法の開発を通じて、汚染地域の浄化のみならず、緊急事態が起きてしまった時の対処の一つとしての方法として確立していく予定である。

#### 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7件)

- 1) Enhancement of synergistic gene silencing by RNA interference using branched “3-in-1” trimer siRNA. B. G. Nair, Y. Zhou, K. Hagiwara, M. Ueki, T. Isoshima, H. Abe, Y. Ito. *J. Mater. Chem. B*, (2017, in press) 査読有
- 2) Characterization of Giant Modular PKs Provides Insight into Genetic Mechanism for Structural Diversification of Aminopolyol Polyketides. L. Zhang, T. Hashimoto, B. Qin, J. Hashimoto, I. Kozono, T. Kawahara, M. Okada, T. Awakawa, T. Ito, Y. Asakawa, M. Ueki, S. Takahashi, H. Osada, T. Wakimoto, H. Ikeda, K. Shin-ya, I. Abe. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 56, 1740–1745 (2017) 査読有
- 3) Serum-free culturing of human mesenchymal stem cells with immobilized growth factors. H. Mao, S. M. Kim, M. Ueki, Y. Ito. *J. Mater. Chem. B*, 5, 928-934 (2017) 査読有
- 4) Identification of novel secreted fatty acids that regulate nitrogen catabolite repression in fission yeast. X. Sun, G. Hirai, M. Ueki, H. Hirota, Q. Wang, Y. Hongo, T. Nakamura, Y. Hitora, H. Takahashi, M. Sodeoka, H. Osada, M. Hamamoto, M. Yoshida, Y. Yashiroda. *Sci Rep*, 6, 20856 (2016) 査読有
- 5) Structures and biological activities of azaphilones produced by *Penicillium* sp. KCB11A109 from a ginseng field. S. Son, S.-K. Ko, J.-W. Kim, J.-K. Lee, M. Jang, I.-J. Ryoo, G.-J. Hwang, M.-C. Kwon, K.-S. Shin, Y. Futamura, Y. S. Hong, H. Oh, B.-Y. Kim, M. Ueki, S. Takahashi, H. Osada, J. H. Jang, J. S. Ahn. *Phytochem.* 22, 154-164 (2016) 査読有

6) Boseongazepines A-C, pyrrolo-benzodiazepine derivatives from a *Streptomyces* sp. 11A057. M. Oh, J.H. Jang, S.J. Choo, S.O. Kim, J.W. Kim, S.K. Ko, N.K. Soung, J.S. Lee, C.J. Kim, H. Oh, Y.S. Hong, M. Ueki, H. Hirota, H. Osada, B.Y. Kim, J.S. Ahn. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 24, 1802-1804 (2014) 査読有

7) Isolation of new polyketide metabolites, linearolide A and B, from *Streptomyces* sp. RK95-74. M. Ueki, N. Koshiro, H. Aono, M. Kawatani, M. Uramoto, H. Kawasaki, H. Osada. *J. Antibiotics* 66, 333-337 (2013) 査読有

##### [学会発表](計8件)

- 1) Characterization and modification of biosynthetic enzymes involved in secondary metabolism of *Streptomyces*. Masashi Ueki (2016年9月10日、JSPS-CAS joint symposium, 中国長春市中国科学院)
- 2) 分裂酵母の窒素源カタボライト抑制を解除する分泌性活性物質の同定. 孫曉穎、八代田陽子、平井剛、植木雅志、廣田洋、王倩倩、本郷やよい、中村健道、人羅勇気、高橋秀和、袖岡幹子、長田裕之、浜本牧子、吉田 稔 (2016年3月29日、日本農芸化学会大会、札幌市札幌コンベンションセンター)
- 3) 真菌の形態変化を指標とした抗真菌物質の探索研究. 山本甲斐、二村友史、植木雅志、鈴木龍一郎、白瀧義明、長田 裕之 (2016年3月28日、日本農芸化学会大会、札幌市札幌コンベンションセンター)
- 4) Pyridoquinolinedione derivative as a indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitor produced by *Streptomyces* sp. 11A057. Masashi Ueki, Mijin Oh, Sung-Kyun Ko, Jae-Hyuk Jang, Hiroshi Hirota, Inkyu Hwang, Jong Seog Ahn, Hiroyuki Osada. (2015年5月21日、8th Japan-Korea Chemical Biology Symposium、埼玉県和光市 理化学研究所)
- 5) 分裂酵母のアミノ酸取り込みにおける適応現象を制御する内因性物質の同定. 孫曉穎、八代田陽子、植木雅志、廣田洋、高橋秀和、長田裕之、浜本牧子、吉田稔 (2015年3月29日、日本農芸化学会大会、岡山市 岡山大学津島キャンパス)
- 6) 上下動攪拌によるCHO-S細胞の培養. 丹生徳行、植木雅志、荻原正章、佐藤誠、金森久幸、加藤好一 (2014年9月10日 日本生物工学会大会、札幌市 札幌コンベンションセンター)
- 7) 土壌分離放線菌 *Streptomyces* sp. 11A057 が

生産する Indoleamine 2,3-dioxygenase 阻害物質の同定. 植木雅志, Mijin Oh, Jae-Hyuk Jang, Dinh-Chuong Pham, 廣田洋, Inkyu Hwang, Jong Seog Ahn, 長田裕之 (2014年3月28日 日本農芸化学会大会, 神奈川県川崎市 明治大学生田キャンパス)

8) Isolation of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors from *Streptomyces* sp. 11A057. Masashi Ueki, Mijin Oh, Jae-Hyuk Jang, Dinh-Chuong Pham, Hirota Hiroshi, Inkyu Hwang, Jong Seog Ahn, Hiroyuki Osada. (2014年2月10日, 7th Korea-Japan Chemical Biology Symposium, 韓国済州島)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

(なし)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

植木 雅志 (UEKI, MASASHI)

国立研究開発法人理化学研究所・伊藤ナノ医

工学研究室・専任研究員

研究者番号: 90312264

### (2)研究分担者

(なし)

### (3)連携研究者

(なし)

### (4)研究協力者

(なし)