

多環芳香族化合物のバイオ変換

野村 暢彦¹・後藤 博正²

これまで石油系の多環芳香族炭化水素 (PAH) あるいは含硫多環芳香族炭化水素 (PASH) などの微生物分解に関する研究が40年以上にわたって行われてきた。その結果、多くの細菌が種々の多環芳香族化合物を分解することが明らかになってきた¹⁻⁵⁾。それは言い換えると、それらの細菌は種々多環芳香族などの疎水性基質を許容しうる宿主細胞であるとともに、それら幅広い基質に対する代謝酵素遺伝子(群)を有していることに他ならない。そこで発想を転換し、つまりその能力に着目することで、それらの分解から、多環芳香族化合物のバイオ変換による、種々多環芳香族のモノヒドロキシ体合成のハイスループット生産に成功したので紹介させていただく。さらに、そのモノヒドロキシ体による新規導電性ポリマー合成についても紹介する。

多環芳香族のモノヒドロキシ化

芳香族分解能において、基質特異性の広い分解菌に着目し、分解酵素遺伝子(群)などを分子育種することにより、種々多環芳香族のモノヒドロキシ体へのバイオコンバージョンに成功した⁶⁾。たとえば、DBTであれば休止菌体反応により2時間後には反応水溶液上清から、そのモノヒドロキシ体としてほぼ100%回収できた(図1)。ここで特徴的なことは、高い変換効率とその変換されたモノヒドロキシ体が細胞外の上清に移行しているところである。これまで、化学合成法あるいは微生物反応による芳香族類のモノヒドロキシ体の合成はいくつか報告があるが、その回収に難があることがほとんどである。本育種菌では、その細胞がモノヒドロキシ体を精製してくれている(図2)。反応後の上清から有機溶媒抽出し濃縮するのみでガスクロマトグラフィー(GC)でモノヒドロキシ体のワンピークとなった。同様に各種多環芳香族が短時間でモノヒドロキシ体に変換され、かつ細胞外への分泌が確認できた。特にBT, BNT以外の各基質においては、GCにおいても一つのピークとして検出され、変換効率の良さが示された。以上のように、バイオ変換により、非常に簡単に多環芳香族のモノヒドロキシ体を得ることが可能となり、本分子育種菌を用いることで、種々多環芳香族からのモノヒドロキシ体生産のハイスループット化が構築できた(図3)。

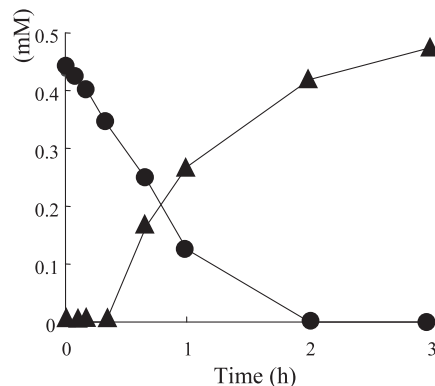


図1. バイオ変換によるDBTからモノヒドロキシ化(hydroxy) DBTの生成. ●, DBT; ▲, hydroxy DBT.

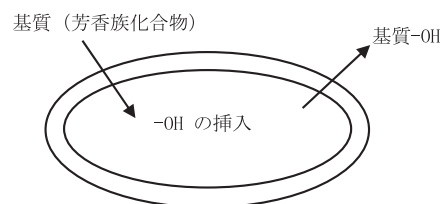


図2. 分子育種菌の細胞がモノヒドロキシ体を特異的に排出する。

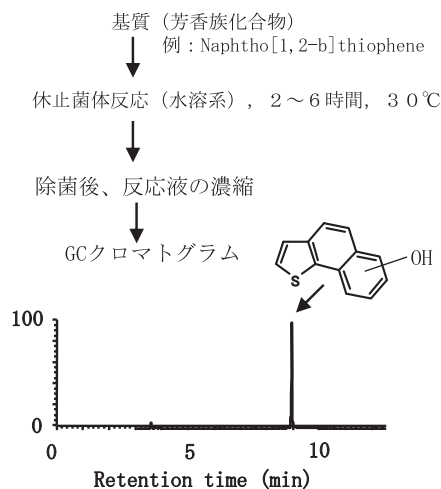


図3. 分子育種菌を利用した多環芳香族モノヒドロキシ体生産の流れ。

著者紹介 ¹筑波大学大学院生命環境科学研究科持続環境学専攻(准教授) E-mail: nomunobu@sakura.cc.tsukuba.ac.jp
²筑波大学大学院数理物質科学研究科物性・分子工学専攻(准教授)

導電性ポリマーにおける芳香族共役系高分子モノマー

導電性高分子（導電性ポリマー，conducting polymer）の発見以前まで，プラスチックは絶縁性の化合物であると認識されてきた。しかし白川英樹先生（筑波大名誉教授）によって電気を通す共役系高分子「ポリアセチレン」が合成され，高分子の絶縁性という常識が覆されることとなった⁷⁾。さらに，MacDiarmid博士・Heeger博士らは導電性を飛躍的に向上させるドーバンドによるドーピング現象を発見し，種々導電性ポリマーの産業利用へ導いた⁷⁾。以上の業績により，白川博士・MacDiarmid博士・Heeger博士の3名は2000年ノーベル化学賞を受賞された。以来，種々の共役系高分子が研究されていたが，近年，ポリチオフェン，ポリピロール，ポリフランなどの芳香族共役系高分子は安定性および耐熱性さらに加工性に優れ，実用に適したモノマー素材として期待されている⁸⁻¹¹⁾。実用的にはそれら芳香族環の特異的部位に分子修飾を施す必要性がある。しかし，その分子修飾を施すための化学合成によるモノヒドロキシル化が非常に困難なことから，そのモノマー材料開発がキーポイントとなっている。

バイオ変換によるモノヒドロキシル化芳香族共役系高分子モノマーの合成

芳香族共役系高分子の分子修飾のためには，まずそのOH基化（モノヒドロキシル化）が重要となる。そこで，先に述べた各種多環芳香族のモノヒドロキシル化能を有する分子育種菌を利用することで，種々の芳香族共役系高分子モノマーの提供を可能にした。得られた分子育種菌を酵素の袋として，種々チオフェン化合物のモノヒドロキシ体へのバイオコンバージョンを試みた。分子育種菌に基質とバッファーを加え常温で数時間反応させる休止菌体反応のみにて，種々チオフェン化合物を短時間でモノヒドロキシ体に変換し，かつそれを高効率で細胞外に分泌させることに成功した。分子育種菌と基質（各チオフェン化合物）を数時間（1～6時間）反応させるのみでモノヒドロキシ化された産物が細胞外の上清に蓄積される（図3）。つまり，ワンステップでモノヒドロキシル化合物の合成と精製がなされる。これまでの化学合成法では，各チオフェン化合物のモノヒドロキシル化には多段階の反応を要し，さらに各チオフェン化合物ごとに条件検討が必要であり時間を要することからも，産物を得ることは非常に困難なものであった。しかし，分子育種菌は多様な基質に対しても同じ反応系において産物を得ることができる。また，反応時間も短時間であり，

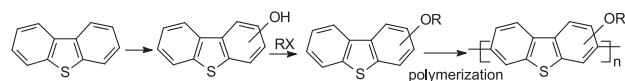


図4. 導電性ポリマーの合成. 分子育種菌により各種多環芳香族をモノヒドロキシ体に変換後，化学法によりRに置換したものを電解重合させる. R, alkyl or arylene group; X, halogen atom or OH group.

産物が細胞外へ分泌されるため上清を回収するのみで精製が可能である。

実際にDBTを基質として上記のようにして上清から得られたモノヒドロキシ体から導電性ポリマーを合成した¹²⁾。導電性ポリマーの合成は，化学反応法と電解重合法で得られる¹²⁾。まず，DBT-OHの-OH基へのアルキル基（R=C₁₀H₂₁）の付与を化学反応法により行った（図4）。そして，得られた新規導電性ポリマーの評価をサイクリックボルタンメトリー法などを用いて評価した。その結果，酸化還元のパンドギャップが狭い特徴的な性質を示すものが得られた。酸化還元のパンドギャップが狭い高分子型導電性ポリマーは，有機EL素子の発光層あるいはバッファー層への使用が期待される。高分子型の発光素子は，その加工性の容易さと柔軟性から電子ペーパーの表示素子として研究開発が進められている。また，太陽電池素材やさらに外部電場により発色を変えるエレクトロクロミック素子として，電子ペーパー分野への応用も可能である。そこで，その新規導電性ポリマーについて，エレクトロクロミック素子としての性能を調べたところ，光シャッター能を有していることも示された。

おわりに

種々多環芳香族のモノヒドロキシ体は，OH部位において分子修飾を簡便に行うことが可能であるため医薬・化学さらにIT産業の原料として期待できる。特に種々の含硫多環芳香族のモノヒドロキシ体は，高分子型導電性ポリマー合成のためのモノマーとして有用である。近年，高分子型導電性ポリマーは，次世代液晶と期待されている高分子型有機電界発光素子（EL素子）や，太陽電池の材料としても期待されている。特にチオフェン化合物類の導電性ポリマーは，EL素子の発光層あるいはバッファー層として用いることが期待され，さらにその高分子型の発光素子は，その加工性の容易さと柔軟性から電子ペーパーの表示素子として研究開発が進められている。また，外部電場により発色を変えるエレクトロクロミック素子としても応用可能である。このような背景から，米国（Heeger博士らなど）を中心に，次世代EL素子の材料として，高分子型導電性ポリマーの合成は盛

んに研究がなされている。ここで今回紹介したように、種々の多環芳香族のモノヒドロキシル化が可能なバイオ変換法をこの合成過程に利用すれば、各種多環芳香族のモノヒドロキシル化モノマーの供給が可能となりゴールへの近道となるはずである(スクリーニングのスピード化)。以上のように、性能評価程度に必要なモノヒドロキシル化体の生産は本育種菌の性能で十分であるが、一方でその大量生産にはまだ大きな改良が必要とされる。

また、これらのバイオ(分子育種菌)を介してつくられる各種チオフェン化合物類のモノヒドロキシ体は、そのヒドロキシル基のつく位置は、化学合成法では非常に困難なものもある。よって、そのヒドロキシル基に分子修飾したものを材料として合成された導電性ポリマーは、新規かつオリジナルなものとなる。今後ますます、微生物の特性を利用するバイオテクノロジーと化学合成法をうまく融合させることが重要となるであろう。

文 献

- 1) Bressler, D. C. and Fedorak, P. M.: *Can. J. Microbiol.*, **46**, 397 (2000).
- 2) Nojiri, H. *et al.*: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **47**, 279 (2001).
- 3) Ohshiro, T. and Izumi, Y.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 1 (1999).
- 4) Lu, J. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **88**, 293 (1999).
- 5) Nekodzuka, S. *et al.*: *Biocatal. Biotrans.*, **15**, 17 (1997).
- 6) 特願 138465 (2005)
- 7) Shirakawa, H. *et al.*: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, p.578 (1977).
- 8) Goto, H. *et al.*: *J. Appl. Polym. Sci.*, **107**, 438 (2008).
- 9) Murase, I. *et al.*: *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **118**, 333 (1985).
- 10) Louwet, F. *et al.*: *Synth. Met.*, **52**, 125 (1992).
- 11) McCullough, R. D. and Lowe, R. D.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, p.70 (1992).
- 12) Goto, H. *et al.*: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. Ed.*, **43**, 4248 (2005).