

酵素を用いた二酸化炭素の有効利用

原 良太郎

二酸化炭素の過剰な排出による地球温暖化問題が叫ばれて久しい中、排出規制はもちろんのこと、二酸化炭素を積極的に有効利用する研究が広く展開されている。化学反応において、二酸化炭素を固定する代表的な手法としてコルベ・シュミット反応があるが、高温高压条件を必要とし、二酸化炭素をカルボキシ基として導入する位置の選択性が低いことから、異性体の副生が問題となるため代替プロセスが求められている。こうした問題の解決策として、非酸化的脱炭酸酵素が注目されている。当該酵素の中には、二酸化炭素源として高濃度の重炭酸水素イオンを加えると、反応平衡が移動し有機化合物に対して位置選択的な炭酸固定が可能となるものがある。

独立栄養生物などの一次代謝を担う炭酸固定酵素は、一般的にその基質特異性がきわめて厳密である。一方、主に分解に関与する脱炭酸酵素は比較的柔軟な基質特異性を示すため、多様な有機化合物合成のための有用酵素となりうる。

可逆性を示す脱炭酸酵素には3つのタイプがあり、(1) 補酵素非依存型、(2) 2価金属依存型、(3) プレニルFMN (フラビンモノヌクレオチド) 依存型が知られている。

(1) 補酵素依存型酵素は*p*-ヒドロキシシチレン類を基質とし、側鎖のβ-位を選択的にカルボキシ化する。(2) 2価金属依存型酵素はフェノール類を基質とし、*ortho*-位を選択的にカルボキシ化する。(3) プレニルFMN依存型酵素の基質は多岐にわたっている。これらのうち、(1) (2) については物質生産へ応用した実績が多数ある。一方、(3) については、安定性が低いことや酸素感受性があるなどの理由から、物質生産への利用は限られていた。

ところが最近、(3) に属するUbiDファミリーの酵素は活性発現に補酵素FMNのプレニル化が必要であり、当該反応を担う酵素はUbiXであることが明らかにされた¹⁾。UbiDファミリーの中には、生分解性プラスチック原料となり、ポリエチレンテレフタレート (PET) の代替として注目されるポリエチレンフランエート (PEF) のモノマーとなる2,5-フランジカルボン酸 (FDCA) を脱炭酸する酵素がある。FDCAの脱炭酸物である2-フロ酸は木材バイオマスに代表されるリグノセルロースを原料とした化学プロセスによって生産可能であるため、2-フロ酸への酵素的炭酸固定が可能となればFDCAの生産に向けた画期的なバイオプロセスが実現できる。

Cupriavidus basilensis における5-ヒドロキシメチルフ

ルフラールの分解経路上に見いだされたFDCA脱炭酸酵素 (HmfF/HmfG) は、代謝中間体であるFDCAを脱炭酸することで2-フロ酸を生成する²⁾。HmfFとHmfGはそれぞれUbiDとUbiXタイプの酵素と予想されていた。つまり、HmfGによりプレニル化されたFMNがHmfFの活性型補酵素として機能する。HmfFホモログの機能解析において、*Pelotomaculum thermopropionicum* 由来脱炭酸酵素が検討され、光および酸素に感受性を示すことが明らかになった³⁾。注目すべきことに、重炭酸イオンを過剰に反応系へ加えることで脱炭酸の逆反応が進行し、2-フロ酸をカルボキシ化し、微量のFDCAを生成した。しかしながら、脱炭酸酵素は分解酵素なので、脱炭酸反応を優先するという本質的な課題を有していた。

最近、非酸化的脱炭酸酵素による炭酸固定反応において、反応平衡を正反応の脱炭酸反応から逆反応のカルボキシ化(炭酸固定)にシフトする試みがなされている。Renらは2,6-ジヒドロキシ安息香酸脱炭酸酵素を用いたレゾルシノールへの炭酸固定反応系において、4級アンモニウム塩を添加することにより、反応平衡を炭酸固定側へ傾けることを報告している⁴⁾。すなわち、酵素反応によって生成した2,6-ジヒドロキシ安息香酸と4級アンモニウム塩がイオンペアを形成し、沈殿を生じる。生成物が反応系外に出ることで得られる平衡移動の効果である。さまざまな4級アンモニウム塩が検討され、テトラブチルアンモニウムブロマイドを用いたときにもっとも効果が高く、収率が40%から97%にまで向上している。このようなプロセスエンジニアリングによって、非酸化的脱炭酸酵素を用いた炭酸固定反応の課題であった反応平衡を合成方向へ大幅にシフトさせることが自在に可能となれば、炭酸固定活性の低いHmfFを用いた2-フロ酸からのFDCA合成などに適用することで、生産性向上が期待される。

二酸化炭素の有効活用に向け、新たな手法を駆使することによって、PETの代替となるPEFの生産など、有用芳香族カルボン酸生産のバイオプロセス開発が進展すると予想される。

- 1) White, M. D. *et al.*: *Nature*, **522**, 502 (2015).
- 2) Koopman, F. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 4919 (2010).
- 3) Payne, K. A. P. *et al.*: *ACS Catal.*, **9**, 2854 (2019).
- 4) Ren, J. *et al.*: *ACS Catal.*, **6**, 564 (2016).