

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	Rhodococcus 属細菌による有機フッ素化合物分解機構の解析
Title(English)	
著者(和文)	矢野憲一
Author(English)	Kenichi Yano
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9805号, 授与年月日:2015年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:和地 正明,中村 聡,福居 俊昭,廣田 順二,平沢 敬
Citation(English)	Degree; Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9805号, Conferred date:2015/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

論文要約

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生物プロセス	専攻	申請学位 (専攻分野)： 博士 (工学) Academic Degree Requested Doctor of
学生氏名： Student's Name	矢野 憲一		指導教員 (主)： 和地 正明 Academic Advisor(main)
			指導教員 (副)： Academic Advisor(sub)

要約 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は「*Rhodococcus* 属細菌による有機フッ素化合物分解機構の解析」と題し、6 章で構成されている。フッ素化合物は医薬品や農薬、高分子化合物など様々な分野で用いられている。フッ素は電気陰性度が高く、C-F 結合が強固であるという特性から、非常に安定な化合物となることが知られている。この安定性が原因となって、フッ素化合物が環境中に残留するという問題が報告されている。当研究室ではこれまでに生物機能を利用した解決を目指し、フッ素化合物を分解、脱フッ素化できる微生物のスクリーニングを進めてきた。農薬によく見受けられるトリフルオロメチル (CF_3) 基を有する、ベンゾトリフルオリド (BTF) をモデル化合物としてスクリーニングを行い、BTF を分解できる微生物 *Rhodococcus* 属細菌 065240 株を土壌より単離した。 CF_3 基の脱フッ素化を触媒する微生物はこれまで知られておらず、芳香族環に付加したフッ化アルキル基の生分解例としても初めての例であった。そこで本研究では、065240 株による BTF の脱フッ素化機構の解析を行った。

第二章「脱フッ素化関連酵素の解析」では、065240 株 (野生株) において BTF によって発現が誘導されるタンパク質の解析を行った。二次元電気泳動で分離し、タンパク質の同定を試みた結果、BTF によって発現が誘導されるタンパク質の多くはイソプロピルベンゼン (IPB) 分解系の酵素である可能性が示唆された。BTF 分解能欠失株では、これらのタンパクの発現誘導が起こっていないことから、BTF 分解能欠失株は IPB 分解酵素の発現系に変異が入り、結果として脱フッ素化能を失ったと考えられた。 CF_3 基は、その大きさが *i*-Pr 基と近いとされており、電子的反発の有無などを考慮しなければ IPB の代謝系で BTF が代謝されることは十分考えられた。

第三章「BTF 分解関連酵素の遺伝学的解析」では、*ipb* 相同遺伝子群と思われる BTF 分解関連遺伝子のシーケンス解析を行った。その結果、065240 株の BTF 分解関連遺伝子 (*btf* 遺伝子群) は *R. erythropolis* BD2 株の *ipb* 遺伝子群と高い相同性を示した。この遺伝子は *btf* 遺伝子クラスターと名付けた。続いて、BTF 分解能欠失株のシーケンス解析を行った結果、*btf* 遺伝子の転写調節因子をコードする遺伝子 *btfT* において、アミノ酸置換を引き起こす変異が一つ見つかった。さらに、野生株型 *btfT* 遺伝子を BTF 分解能欠失株に導入したところ、BTF 分解能の回復が認められた。よって、BTF 分解には少なくとも転写調節因子 BtfT が必要であることが明らかとなった。

以上の結果より、ジオキシゲナーゼ経路による分解を介した BTF の脱フッ素化の経路を推測した。

第四章「含フッ素代謝物の解析」では、BTF 分解におけるジオキシゲナーゼ経路の関与の確認と、脱フッ素化の代謝経路の解明を目指して、 ^{19}F -NMR スペクトルを利用した中間代謝物の追跡を試みた。BTF の脱フッ素化を行った培養液上清を ^{19}F -NMR スペクトルで解析した結果、含フッ素代謝物のピークが複数検出された。そのうち、{89.0 ppm} の化合物は化学シフト値よりトリフルオロ酢酸 (TFA) と断定でき、BTF の一部は少なくとも TFA となっていることが確認できた。

本研究により、BTF 分解の初期段階には *btf* 遺伝子群によるジオキシゲナーゼ経路が関与していることが明らかとなった。