ヘム酵素存在下でのカーボンナノチューブ分解へのフェントン反応の寄与

○高橋慧良[1]・田口富美子[1]・堀克敏[1]（[1]名大院工）

Contribution of the Fenton reaction to the degradation of carbon nanotubes by heme-enzymes (Graduate School of Engineering, Nagoya University[1]) TAKAHASHI, Seira[1]; TAGUCHI, Fumiko[1]; HORI Katsutoshi[1]

カーボンナノチューブ（CNT）はその類い稀な優れた特性から様々な分野で応用されている。一方でCNT の普及に伴い、環境中に放出された CNT が人間の健康や生態系に与える影響が懸念されており、CNT の生分解性や環境運命を探ることは喫緊の課題である。バイオレメディエーションや廃棄物処理において細菌は重要な役割を担っており、その酵素は汚染物質の分解に大きく関与する。しかし、CNT の細菌による分解については未だ知見が少なく、細菌酵素の CNT 分解への関与およびそのメカニズムについては明らかになっていない。本研究では、細菌酵素により CNT が分解されるかどうかを明らかにすることを目的として、一般的な土壌細菌である *Pseudomonas putida* mt-2 の色素脱色型ペルオキシダーゼ（mt2DyP）による CNT の分解を調べた。CNT を mt2DyP 組換えタンパク質およびその基質である H_2O_2 の存在下で 30 日間インキュベートしたところ、吸光度，ラマンスペクトルおよび XPS スペクトルの変化から CNT が分解されたことが明らかとなった。しかしながら、酵素が培養開始から 60 分以内に失活していたことから、CNT の分解は酵素反応によるものではないことが示唆された。ヘムを活性中心に有するペルオキシダーゼ等のヘム酵素は H_2O_2 との反応によりヘム崩壊により失活することが知られている [1)]。mt2DyP の失活は鉄イオンの放出を伴っており、H_2O_2 の非存在下では失活および鉄の放出が確認されなかったことから、H_2O_2 との反応による失活であることが示唆された。キレート剤であるジエチレントリアミン五酢酸の存在下で CNT の分解が著しく抑制されたことから, mt2DyP から放出された鉄イオンと H_2O_2 とのフェントン反応によって CNT が分解されることが明らかとなった。また、同じくヘム酵素の一つであるシトクロム P450 を用いて実験を行ったところ、同様の現象が確認された。さらに、CNT を迅速に酵素分解するヘム酵素として代表される西洋わさびペルオキシダーゼ（HRP）を用いて、フェントン反応の CNT 分解への寄与を調べた [2)]。その結果、HRP 存在下で生じた CNT 分解も主にフェントン反応によるものであり、酵素反応の寄与は無視できる程度であることが明らかとなった。この結果は HRP の酵素反応による CNT 分解を主張した先行研究とは異なっており、CNT の酵素分解における定説を覆すこととなった。本研究成果は、CNT の酵素分解の正確な評価には、先行研究ではほとんど注目されてこなかったフェントン反応を考慮することの重要性を示し、同時にヘム酵素と H_2O_2 によるフェントン反応を利用した CNT の新たな処理方法の開発に貢献するものである [3)]。

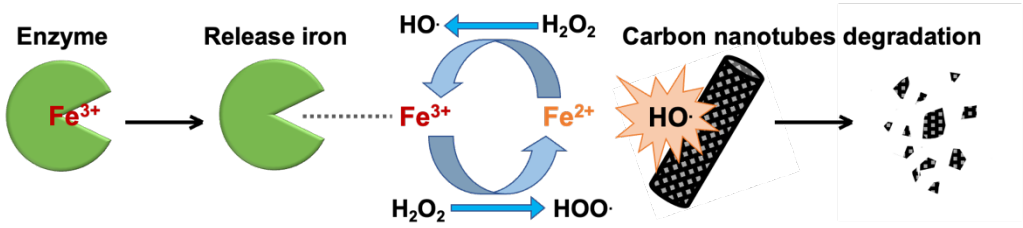

Fig 1. Schematic illustration of the degradation of CNTs by the Fenton reaction caused by iron released from the inactivated enzyme.

1) B. Valderrama, M. Ayala, R. Vazquez-Duhalt, *Chem. Biol.*, **9**, 555-565 (2002)
2) B.L. Allen, G.P. Kotchey, Y.N. Chen, N.V.K. Yanamala, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 17194-17205 (2009)
3) S. Takahashi, F. Taguchi, K. Hori, *Front. Environ. Sci.*, **13**, 1184257 (2023)