

「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と  
生産物活用のための基盤技術の創出」  
平成 25 年度採択研究代表者

H26 年度 実績報告書
-----------------

大西 康夫

東京大学 大学院農学生命科学研究科  
教授

高性能イミダゾール系バイオプラスチックの一貫生産プロセスの開発

## § 1. 研究実施体制

### (1) 大西グループ

- ① 研究代表者: 大西 康夫 (東京大学大学院農学生命科学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・ポリマー原料となる芳香族化合物を生産する微生物の創製

### (2) 金子グループ

- ① 主たる共同研究者: 金子 達雄 (北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科、准教授)
- ② 研究項目
  - ・新規バイオベースポリベンズイミダゾールの開発

### (3) 荻野グループ

- ① 主たる共同研究者: 荻野 千秋 (神戸大学大学院工学研究科、准教授)
- ② 研究項目
  - ・植物バイオマスを原料とした芳香族ポリマー原料の発酵生産

### (4) 高谷グループ

- ① 主たる共同研究者: 高谷 直樹 (筑波大学生命環境系、教授)
- ② 研究項目
  - ・ポリマー原料となる芳香族化合物を生産する微生物の創製

## § 2. 研究実施の概要

本研究の達成目標は、セルロースを原料とした芳香族化合物の微生物発酵生産システムを確立し、発酵生産される芳香族化合物を原料としたポリベンズイミダゾール (PBI) 系新規ポリマーを開発することにより、実バイオマスからPBI系ポリマーを生産する一貫プロセスを構築することである。本年度は昨年度に引き続き、各研究グループが今後の連携ポイントを意識しつつ、それぞれの要素技術開発を進めた。その結果、以下のような研究成果が得られた。

3-アミノ-4-ヒドロキシ安息香酸 (3,4-AHBA) のセルロースバイオマスからの発酵生産 (課題 1-1) に関しては、3,4-AHBA 合成酵素遺伝子を導入した組換えコリネ菌を用いて、紙パルプから 3,4-AHBA を高収量に発酵生産するためのプロセス開発を進めた。一方、培養液からの 3,4-AHBA の精製が今後の大きな課題になることが明確になったため、膜分離技術を利用した生産・精製プロセスの開発に着手した。

PBI 合成における基幹ジアミン 3,4-ジアミノ安息香酸 (3,4-DABA) を 3,4-AHBA からの化学合成で生産すること (課題 1-2) に関しては、アミノ基を還元してニトロ基に置き換えることで、隣接するヒドロキシル基のスマイルズ転移を誘導するルートを確認し、100 mg スケールの合成を行うことができた (収率 60%程度)。また、3,4-DABA の重合による PBI の合成と評価 (課題 1-3) を前倒しで行い、溶液中で 3,4-DABA を重合しポリアミドアミンを得る条件を確認した。

共重合用アミンの原料となるカフェ酸を生産する大腸菌の構築 (課題 2-1) に関しては、昨年度に構築した組換え大腸菌株を用いて培養条件の検討を行った結果、カフェ酸の生産量を 80 mg/L に増大できた。さらにバイオマスからのカフェ酸の生産 (課題 2-4) を前倒しで進め、紙パルプを炭素源とした同時糖化発酵によって、270 mg/L の生産量でカフェ酸を生産することができた。

共重合用アミンの原料化合物としてのモノアミンの生産 (課題 2-2) に関しては、放線菌由来のアミノキシム酸経路遺伝子および酵母由来遺伝子を導入した 4-アミノフェニルアラニン生産大腸菌を用い、グルコースを原料として 4-アミノフェニル酢酸を発酵生産することに成功した。

カフェ酸 (3,4-ジヒドロキシ桂皮酸) からのジアミン合成 (課題 2-3) に関しては、種々の検討の結果、カフェ酸の2つの水酸基をスマイルズ転位によりアミノ化することは困難であると結論し、パラクマル酸から 3,4-ジアミノ桂皮酸の合成を行うルートを新たに確立することに着手した。

新規モノアミン、ジアミン化合物の探索 (課題 4-1) に関しては、ジアミン系芳香族モノマーの呈色反応に着目したスクリーニング系の開発を目指し、ナフトレンジカルボン酸とジメチルスルホキシドによるジイミン形成が目的化合物のスクリーニングに適している可能性を見出し、1,158 種の糸状菌培養抽出物から 23 種の候補化合物を得た。

新たなジアミン化合物生産のための戦略として、芳香環にニトロ基を導入する酵素および芳香族アミノ基をニトロ基に変換する酵素の利用を新規課題 (課題 4-3) として設定し研究に着手した。

【発表論文】Masuo, S., Osada, L., Zhou, S., Fujita, T., and Takaya, N.: *Aspergillus oryzae* pathways for converting phenylalanine into flavor volatile 2-phenylethanol.

Fungal Genet. Biol. 77, 22-30 (2015)