

「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 24 年度採択研究代表者

H28 年度  
実績報告書

田口 精一

北海道大学大学院工学研究院  
教授

植物バイオマス原料を利活用した微生物工場による新規バイオポリマーの創製および  
高機能部材化

## § 1. 研究実施体制

### (1) 田口グループ

- ① 研究代表者: 田口 精一 (北海道大学大学院工学研究院、教授)
- ② 研究項目
  - ・ 酵素代謝複合改変による多元ポリ乳酸(PLA)生合成系の確立
  - ・ 培養工学によるポリマー生産性の向上
  - ・ 植物バイオマスから調製した単糖およびキシロースからのポリマー合成

### (2) 柘植グループ

- ① 主たる共同研究者: 柘植 丈治 (東京工業大学物質理工学院材料系、准教授)
- ② 研究項目
  - ・ ポリマー生産性の向上
  - ・ 誘導生産法の開発
  - ・ 混合有機酸の原料化
  - ・ 多元乳酸ポリマー合成と乳酸ポリマーの分子量向上

### (3) 岩田グループ

- ① 主たる共同研究者: 岩田 忠久 (東京大学大学院農学生命科学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・ 多元ポリ乳酸及びホモ PHA の基礎物性評価
  - ・ 多元ポリ乳酸及びホモ PHA のナノファイバー作製条件の検討と細胞増殖性の評価

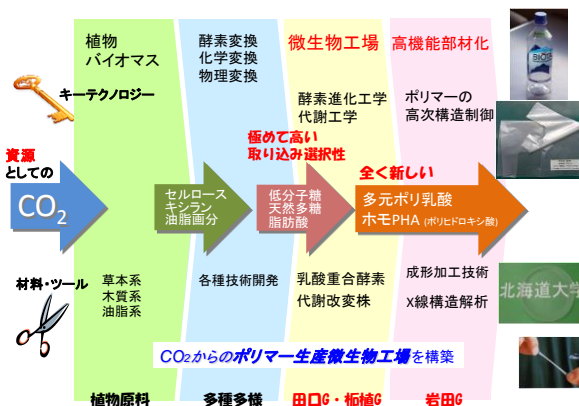
- ・大型放射光を用いたホモ PHA の結晶構造解析
- ・多元ポリ乳酸の特異な結晶化挙動および結晶構造解析
- ・多元ポリ乳酸及びホモ PHA からの生分解性マイクロビーズの作製

## § 2. 研究実施の概要

再生可能なバイオマスを原料に有用なプラスチックを合成する系の開発を目的として、多元ポリ乳酸とホモ PHA の 2 系統のポリマーについて、生産性の向上のための技術と、加工方法、応用例の探索を行った。多元ポリ乳酸は、乳酸が糖から合成されるため、糖質バイオマスを原料としたポリマー生産系に適合する。中でも、微生物発酵原料として広く用いられているグルコースだけでなく、リグノセルロースの第二主要成分であるキシロースが有効な炭素源として機能する。多元ポリ乳酸の合成系に用いる宿主としては、大腸菌が、D 乳酸の合成能力、ポリマー合成系酵素群の機能的発現、キシロースの効率的資化能など多面的に優れていることが見出されている。そこで、今年度は、宿主大腸菌を多元ポリ乳酸生産のためにさらに最適化することを目的として、大腸菌の変異体ライブラリーのスクリーニングを行った。その結果、野生株と比較してポリマー生産量の増大する優良変異株を複数取得することに成功した。加えて、ポリマー生産大腸菌を高密度培養する方法の確立にも取り組んだ。大腸菌は天然のポリマー生産菌ではないので、細胞内のポリマー蓄積により生育が遅延することが知られていた。そこで、ポリマー生産のタイミングを制御することで、菌の生育とポリマー生産を両立した合成条件を設定することができた。さらに、木質バイオマスから得られるキシロースを主体とする糖液を用いて、ポリマー生産が可能であることを示した。

ホモ PHA は、脂肪酸代謝の中間体から合成されるポリエステルであり、植物油を原料とした生産に適している。これまで、ホモ PHA は多元ポリ乳酸よりも生産性が低いのが課題であったが、脂肪酸の代謝経路およびポリマー合成系の酵素群の改良により、従来よりもポリマー生産量を飛躍的に向上させることに成功した。また、純粋な脂肪酸だけでなく、植物油から得られる天然脂肪酸を原料としたポリマー生産についても検討を加えた。

ポリマーの部材化のための検討としては、多元ポリ乳酸、ホモ PHA とともに、透明性、伸張性などの観点から良好な物性が得られる組成を決定した。また、とくに多元ポリ乳酸については、長期保存時の物性の安定性について調査した。微生物産生ポリエステルは、経時劣化する性質を示すことが知られていたが、本多元ポリ乳酸の場合、乳酸ユニットの導入により、ポリマー結晶化の進行が抑制された結果、長期にわたり物性を維持することが明らかとなった。これらの物性を示す分子機構を明らかにするため、大型放射光を用いたポリマー構造解析を行い、種々の結晶構造の解析を行った。ある組成の含乳酸ポリマーについては、高分子結晶としては非常にまれな、三角形の結晶が形成



される条件を見出し、高分子結晶の観点からも興味深い結果が得られた。加えて、生体適合性、生分解性材料としての利用を視野に入れた基礎的な性能評価を行った。

原著論文

- (1) Jian Sun, Camila Utsunomia, Shohei Sasaki, Ken'ichiro Matsumoto, Toshihiko Yamada, Toshihiko Ooi, Seiichi Taguchi: Microbial production of poly(lactate-*co*-3-hydroxybutyrate) from hybrid Miscanthus-derived sugars, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 80, pp. 818-820, 2016.
- (2) Ayaka Hiroe, Naoki Ishii, Daisuke Ishii, Taizo Kabe, Hideki Abe, Tadahisa Iwata, Takeharu Tsuge: Uniformity of Monomer Composition and Material Properties of Medium-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates Biosynthesized from Pure and Crude Fatty Acids, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, Vol. 4, No. 12, pp. 6905-6911, 2016.
- (3) Taizo Kabe, Ken'ichiro Matsumoto, Satsuki Terai, Takaaki Hikima, Masaki Takata, Masahiro Miyake, Seiichi Taguchi and Tadahisa Iwata: Co-crystallization phenomena in biosynthesized isotactic poly[(*R*)-lactate-*co*-(*R*)-2-hydroxybutyrate]s with various lactate unit ratios, *Polymer Degradation and Stability*, Vol. 132, pp. 137-144, 2016.