

「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

H29 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、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、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。本年度はこれまで行なってきた各研究グループの要素技術開発を連結することを強く意識して研究に取り組み、以下に挙げる研究成果を得た。

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、紙パルプを原料とする3,4-AHBA の発酵生産を昨年度に引き続いて検討した。まず、紙パルプに少量の液体と糖化酵素を加えて、混練・液化する方式を開発し、高濃度のグルコースを含む酵素糖化液を得ることに成功した。次に、この糖化液のみを炭素源とする培地を用いて、ジャーフェーマンターによる酸素制限下での発酵生産を最適化した結果、終濃度 3.3 g/L の 3,4-AHBA 発酵液を得ることができた。一方、これまでの大きな課題であった発酵液からの 3,4-AHBA の精製に関しては、3 種のカラムクロマトグラフィーと液々抽出により、化学変換・重合が可能な高純度にまで 3,4-AHBA を精製する手法を開発した。得られたバイオ 3,4-AHBA を用いて、これまでに開発してきた手法により、基幹ジアミンである 3,4-ジアミノ安息香酸(3,4-DABA)を合成し、これを用いて、PBI フィルムを作製することに成功した。この PBI は試薬ベースで作製した PBI と同様、高い耐熱性を示した。以上のように、本プロジェクトの第一目標であった、植物バイオマスから PBI を生産する一貫プロセスのプロトタイプを構築することができた。

一方、基幹ジアミン以外のジアミンカルボン酸あるいはモノアミンカルボン酸を用いて、さまざまな共重合PBIを合成するのが本プロジェクトの第二目標であるが、本年度はこれに関して、以下の成果が得られた。(1)これらの化合物のバイオ生産に関しては、組換え大腸菌を用いた4-アミノフェニルプロピオン酸の大量生産・精製に成功し、その単独重合によってポリマー(ポリアミド)生産が可能であることを示した。(2)種々の共重合PBI(PBIあるいは一部分ポリアミドを含むPBI)の合成に取り組み、3,4-DABAと3,4-ジアミノフェニルプロピオン酸(APPA)との共重合体および3,4-DABAと*p*-アミノ安息香酸(PABA)との共重合体の作製に成功した。いずれも高い耐熱性を有していたが、それ以外にも興味深い性質を示すことがわかった。(3)新たな性質を有するPBIの開発において、イオン性官能基を導入したPBI誘導体の電気化学的機能を調べ、リチウムイオンの単一イオン伝導性を示すことを見出した。(4)新規モノアミン、ジアミン化合物の探索・創製に関する研究においては、新規芳香族ジアミン、ピラジンジカルボン酸の微生物生産系を開発するとともに、昨年度取得したチロシンニトロ化酵素について、その結晶構造解析を行なった。また、芳香族ポリマー原料の微生物生産に利用できると考えられる芳香族アミンの酸化酵素(アミノ基をニトロ基に変換)について、その基質特異性の改変に取り組み、*p*-アミノ基だけでなく*m*-アミノ基にも反応できる変異酵素を取得した。

代表的な原著論文

1. Hiroya Tomita, Yohei Katsuyama, Hiromichi Minami, Yasuo Ohnishi. "Identification and characterization of a bacterial cytochrome P450 monooxygenase catalyzing the 3-nitration of tyrosine in rufomycin biosynthesis", *Journal of Biological Chemistry*, 292 (38), pp 15859-15869, 2017
2. Mohammad Asif Ali, Hiroshi Shimosegawa, Aniruddha Nag, Kenji Takada, Tatsuo Kaneko. "Synthesis of thermotropic polybenzoxazole using 3-amino-4-hydroxybenzoic acid", *Journal of Polymer Research*, 24 (12), 214, 2017
3. Yukie Kawasaki, Nag Aniruddha, Hajime Minakawa, Shunsuke Masuo, Tatsuo Kaneko, Naoki Takaya. "Novel polycondensed biopolyamide generated from biomass-derived 4-aminohydrocinnamic acid", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102 (2), pp 631-639, 2018