

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	微生物分泌オリゴエステルの生産と材料化に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	櫻井徹生
Author(English)	Tetsuo Sakurai
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12452号, 授与年月日:2023年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:柘植 丈治,北本 仁孝,曾根 正人,林 智広,福居 俊昭
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12452号, Conferred date:2023/3/26, 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 OUTLINE

報告番号： 甲第
Report Number

号

学生氏名：
Student's Name

櫻井 徹生

論文題目：微生物分泌オリゴエステルの生産と材料化に関する研究

プラスチック材料は、フィルムやゴム、樹脂材料等様々な用途に利用され、私たちの豊かな生活に大きく貢献している。しかしながら、プラスチック材料の大量生産は同時に大量の廃棄物を生み出し、環境汚染や地球温暖化、生態系への影響など多くの問題が懸念されている。このような諸問題への対応策の1つとして、再生可能なバイオマスを原料として生産され、かつ微生物により生分解可能なバイオプラスチックの利用が注目されている。なかでも、ポリヒドロキシアルカン酸（PHA）は汎用プラスチックと代替可能なバイオプラスチックとして関心を集めている。

PHA は、糖や植物油など再生可能な資源から、微生物がエネルギー貯蔵物質として菌体内に蓄積する熱可塑性ポリエステルである。代表的な PHA 材料の1つであるポリ（3-ヒドロキシブチレート）（P(3HB)）は、高い融点や強度を有するが、時間経過で硬く脆い材料となる欠点がある。またバイオマス原料から微生物により生合成される PHA は、生体適合性や生分解性といった魅力的な特性を有するものの、汎用プラスチックと比べ生産コストが高いという問題がある。これは生産に際して不連続系となることや、培養物から目的物となるポリマー成分の抽出・精製に高いエネルギーが必要となるためである。そのため、PHA 生合成に関して効率的かつ省エネルギーな精製工程を含む新たな PHA 生産システムの開発が求められている。

近年、培養環境下にポリエチレングリコールなどのアルコールが存在することで、アルコールが微生物に取り込まれた後に連鎖移動剤として働き、PHA の末端をアルコールで修飾しながら分子量を低下させる作用が報告されている。またある種の微生物では、菌体内 PHA がオリゴマーレベルにまで低分子量化し、菌体外にオリゴマーとして分泌されることが示された。

本研究では、*Bacillus cereus* YB-4 由来の PHA 重合酵素を利用した PHA 由来オリゴエステルの分泌生産に着目した。目的とするオリゴエステルを培養液中に排出することができれば、液液抽出による精製が可能になり、PHA 精製工程の省エネ化が期待できる。また得られたオリゴマーをマクロモノマーとして利用できれば、PHA の生分解性を維持しながら、PHA とは異なる物性を有する材料が得られる可能性がある。本研究の目的は、生分解性を保持した新規 PHA ベース材料を開発することであり、そのために微生物分泌オリゴエステルの生産とその効率化、そしてオリゴエステルをマクロモノマーとして利用したウレタン材料の開発と海水環境下における生分解性評価に関して研究を行った。

以下、全五章からなる本論文の概要について述べる。

第一章「序論」では、本研究の背景および研究意義について概説し、本論文の目的および構成を述べた。

第二章「種々ジオール化合物を用いた微生物分泌オリゴエステルの生合成と生産能強化」では、ジエチレングリコールはじめとする様々な構造を有するジオール化合物を連鎖移動剤として用いて培養を行い、P(3HB)末端が種々ジオール化合物で修飾された3HBオリゴマーの分泌生産を行った。大腸菌変異株を宿主として、*B. cereus* YB-4由来のPHA重合酵素を有するプラスミドを導入し培養を行った。また、小型ジャーファンメンターを用いて培養温度や培地pHなど各種培養パラメータを変更して培養を行い、オリゴマーの効率的な生産条件を探索した。さらには、流加培養を行いオリゴマー生産能の強化を試みた。液液抽出により回収した3HBオリゴマーについて構造解析を行ったところ、3HBオリゴマーのカルボキシ末端に添加したジオール種が修飾されていることを確認した。またこの時の末端修飾率は積分値の比較からほぼ100%であった。小型ジャーファーマンターによる培養条件検討の後、大型ジャーファーマンターを用いた流加培養の結果、オリゴマー生産量が約30g/Lを超えるまで強化された。これにより大腸菌を用いた効率的な3HBオリゴマー生産法を確立した。

第三章「微生物分泌オリゴエステルを用いたウレタン材料の合成と特性評価」では、第二章で生合成した3HBオリゴマー、および各種ジイソシアネートを用いて重付加を行い、PHAをベースとするウレタン材料の合成を試みた。脂肪族および芳香族系のジイソシアネート化合物を反応試薬として得られた重合物について構造解析を行った結果、3HBオリゴマー成分およびイソシアネート成分に加え、ウレタン結合に由来するシグナルをそれぞれ観察した。重合物はP(3HB)ホモポリマーよりも高いガラス転移点を示し、透明性の高いしなやかなフィルムが得られた。これらの結果から、本手法により得られる微生物分泌オリゴエステルが、PHAベース材料合成のためのマクロモノマーとして利用可能であることを示した。

第四章「重合ウレタン材料の海洋生分解性評価」では、静岡県駿河湾から取水した海水を用いて生分解性試験を行い、PHA材料および第四章で得られたウレタン材料が海水環境で生分解性を示すか試験した。生分解性試験では、静岡県駿河湾の表層域と深層域の2種類の海水を用いて検討した。試験の結果、PHA材料および重合ウレタン材料は海水への浸漬によりサンプル重量の減少が観察され、生分解されている可能性が示唆された。また走査型電子顕微鏡を用いた試験片の表面観察から、微生物による生分解作用により形成した凹凸が観察され、試料の崩壊ではなく生分解による重量減少であることが示された。また回収した各海水泥について菌叢解析を行い、環境中に含まれる微生物種について比較した。これらの結果より、3HBオリゴマーをマクロモノマーとして利用し合成した新規PHAベース材料が、自然環境中でPHA同様に生分解特性を有することを示した。本手法により得られる微生物分泌オリゴエステルは、生産工程の省エネ化に寄与できる可能性があるほか、PHAの有する生分解性を維持しながら、PHAの欠点を克服した新規PHA材料合成に利用できると考えられる。

第五章「結論」では、本研究で得られた成果を要約した。