T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	新規な側鎖構造をもつ微生物ポリエステルの 生合成と熱物性
Title(English)	
著者(和文)	水野匠詞
Author(English)	Shoji Mizuno
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10508号, 授与年月日:2017年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:柘植 丈治,阿部 英喜,北本 仁孝,和田 裕之,福居 俊昭
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10508号, Conferred date:2017/3/26, 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

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

論 文 の 要 約

やむを得ない事由により論文全文を公表できないため、要約を以下のとおり提出いたします。

専攻： Department of	物質科学創造	専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	工学
学生氏名： Student's Name	水野 匠詞		指導教員（主）： Academic Advisor(main)	柘植　丈治	
			指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	阿部　英喜	

[研究論文の概要]
論文題目：新規な側鎖構造をもつ微生物ポリエステルの生合成と熱物性

現在、プラスチックの多くは石油から製造されており、石油使用に伴う地球温暖化や難分解性プラスチックの環境残留が大きな問題となっている。そこで、再生可能資源である植物バイオマスを利用して、微生物により合成でき、生分解性を示すポリヒドロキシアルカン酸（PHA）がプラスチック材料として注目されている。実用的な材料物性を示す PHA は、異なるモノマーから構成される共重合体であり、モノマー組成比を制御することで融解温度（T_m）やガラス転移温度（T_g）などの熱物性が制御されている。一方で、高分子の結晶成長は T_g と T_m の間で進行するため、T_g を室温より高くすることができれば二次結晶化による経時的な脆化を抑制することができる。これまでの PHA は全て T_g が室温以下であったため、少なからず経時的に脆化する傾向にあった。また、PHA において T_g を高くするための設計指針はこれまで示されていなかった。

そこで本論文では、PHA 側鎖の構造に着目し、熱物性との相関を調べることで、PHA 側鎖構造と熱物性に関する知見を得ることを目的とした。特に、側鎖に芳香環やかさ高い構造を導入した新規な PHA 共重合体を生合成し、これら共重合体の熱的物性を評価した。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、本研究の背景について概説し、本論文の目的および構成を示した。

第二章「芳香族 3-ヒドロキシ酸を含む 3HB 共重合体の生合成」では、これまで合成例のない、3-ヒドロキシブタン酸（3HB）と 3-ヒドロキシ-3-フェニルプロパン酸（3H3PhP）との共重合体、もしくは、3HB と 3-ヒドロキシ-4-フェニルブタン酸（3H4PhB）との共重合体の生合成を目的とした。基質特異性が幅広いことが知られている *Pseudomonas* sp. 61-3 由来の重合酵素を生産宿主である *Ralstonia eutropha* PHB$^-$4 株にて発現させ、3H3PhP もしくは 3H4PhB 前駆体を添加して共重合体の生合成を行った。その結果、3H3PhP ユニットを 15 mol% 含む共重合体が得られた。一方、3H4PhB ユニットを含む共重合体においては、1 mol%であった 3H4PhB 分率が、モノマー供給酵素である *R*-ヒドラターゼや重合酵素改変体の発現により 12 mol% まで増加させることに成功した。これにより、側鎖に芳香環を有する新規な共重合体 P(3HB-*co*-3H3PhP) および P(3HB-*co*-3H4PhB) の生合成法を確立した。

第三章「2-ヒドロキシ酸を含む 3HB 共重合体の生合成」では、3HB とかさ高い側鎖をもつ 2-ヒドロキシ酸（2HA）からなる新規な共重合体の生合成を検討した。2HA 前駆体としてアミノ酸を利用するために、生産宿

主である大腸菌に代謝経路を構築するうえで必要な酵素群を発現させた。2HA 共重合体の合成において、グルコース単一炭素源で培養した際にも少量ながら 2HA ユニットが含まれていた。このことから、細胞内で自家合成されたアミノ酸が 2HA 前駆体となることがわかった。さらに、培地に該当アミノ酸を添加することにより 2HA 分率を大幅に増加させることが可能であった。^{13}C 標識アミノ酸を使用したトレーサー実験を行い、添加したアミノ酸は炭素骨格を維持したまま 2HA ユニットとして取り込まれていることを確認した。以上のことから、アミノ酸を前駆体とした 2HA 合成経路を構築し、P(3HB-*co*-2HA) の生合成法を確立した。

第四章「2-および 3-ヒドロキシ酸を含む 3HB 共重合体の熱物性評価」では、均質で、かつ、異なる組成比からなる共重合体を取得するために、前章で生合成した共重合体サンプルを溶媒分画法に供した。この結果、共重合組成の異なる画分を得ることができ、高分率サンプルとしては 3H3PhP ユニットを 21 mol%、3H4PhB ユニットを 15 mol% 含む画分が得られた。このように異なる組成の共重合体が分取されたことから、微生物により生合成された共重合体はポリマーブレンドといえる。分画したサンプルの熱的特性を評価したところ、3H3PhP 分率の高いサンプルは非晶性ポリマーであるのに対して、3H4PhB 共重合体は測定したサンプルでは結晶性ポリマーであった。これらの共重合体の T_g は、3H3PhP および 3H4PhB 分率が増加するに伴い上昇した。従って、側鎖に芳香環が存在することで、自由体積が減少し、PHA 主鎖の分子運動性が抑制されたと考えられる。

次に、2HA 共重合体を溶媒分画に供し、共重合組成の異なる画分を得た。2HA ユニットを比較的多く含む画分が得られたが、2HA 分率の増加に伴う T_g の上昇は観察されなかった。これは、2HA ユニットの導入により主鎖の内部回転ポテンシャルが減少したのに対して、側鎖のアルキル鎖により自由体積が増大したため、T_g 上昇の効果が相殺されたと考えられる。

第五章「総括」では、本研究で得られた結果を要約した。