

未来社会創造事業（探索加速型）  
「地球規模課題である低炭素社会の実現」領域  
終了報告書（探索研究）

令和元年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名:松本 謙一郎]

[所属:北海道大学 大学院工学研究院・教授]

[研究開発課題名:配列制御技術に基づく生分解性エラストマーの生合成]

実施期間:令和元年 11 月 1 日～令和 6 年 3 月 31 日

## §1. 研究実施体制

(1)「松本」グループ(北海道大学)

① 研究開発代表者:松本 謙一郎 (北海道大学工学研究院、教授)

② 研究項目

・ポリマー生合成と解析

## §2. 研究開発成果の概要

ポリヒドロキシアルカン酸(PHA)は、CO<sub>2</sub>由来再生可能バイオマスを原料として微生物により合成されるプラスチックであり、持続性のある循環型高分子材料として注目されている。微生物合成によるポリマー生産系は、水を溶媒として高分子量のポリエステルを得られる利点がある。一方、酵素の精密な分子認識能ゆえに、合成可能なポリマーの構造が限られ、高分子化学の知見を活かした自在なポリマー分子デザインができない制限があった。本プロジェクトでは、これまで合成困難だったブロック共重合体を合成可能な独自の重合酵素をコア技術として、より幅広い構造のポリマー合成を達成し、これを活用して優れた材料物性を示す新規 PHA を合成することを目的とした。ブロック共重合体の合成能力を持つ重合酵素 PhaC<sub>AR</sub> の機能を分子進化工学の手法で拡張し、重合可能なモノマー範囲を拡大した。その結果、ポリマーの柔軟性を向上させる効果を持つ 3-ヒドロキシヘキサン酸(3HHx)ユニットの取り込み能力が大幅に向上した変異体を取得した。本酵素を用いて、2-ヒドロキシ酪酸(2HB)とのブロック共重合体、P(3HHx)-b-P(2HB)の合成に初めて成功した(文献1)。さらに、本優良変異体を用いて、これまで微生物合成が不可能だった、高分子量 PLA セグメントを含むブロック共重合体 P(3HHx)-b-PLA の合成に初めて成功した(文献2)。これらの結果より、多様な新規 PHA ブロック共重合体の微生物合成を実現した。また、ブロック共重合体が合成される分子機構を明らかにするため、NMR を駆使した酵素アッセイ法を開発した(文献3)。天然型の PHA は優れた生分解性を持つことが知られる。上記の新規ポリマーは非天然構造を含むため、その生分解性は未知である。そこで、非天然 PHA の生分解性についても調査した。土壌からポリマー分解菌を選抜した結果、非天然型 PHA も生分解性を有する可能性が示唆され、これまで知られていなかった PHA 分解菌の単離に成功した。

### 【代表的な原著論文情報】

1. H. T. Phan, Y. Hosoe, M. Guex, M. Tomoi, H. Tomita, M. Zinn, K. Matsumoto, Directed Evolution of Sequence-Regulating Polyhydroxyalkanoate Synthase to Synthesize a Medium-Chain-Length-Short-Chain-Length (MCL-SCL) Block Copolymer, *Biomacromolecules* 2022, 23(3) 1221-1231 (10.1021/acs.biomac.1c01480).
2. H. T. Phan, S. Furukawa, K. Imai, H. Tomita, T. Isono, T. Satoh, K. Matsumoto, Biosynthesis of High-Molecular-Weight Poly(D-lactate)-Containing Block Copolyesters Using Evolved Sequence-Regulating Polyhydroxyalkanoate Synthase PhaC<sub>AR</sub>, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 2023, 11(30) 11123-11129 (10.1021/acssuschemeng.3c01696).
3. K. Yanagawa, A. Kajikawa, S. Sakakibara, H. Kumeta, H. Tomita, K. Matsumoto, Real-time NMR analysis of polyhydroxyalkanoate synthase reaction that synthesizes block copolymer comprising glycolate and 3-hydroxybutyrate, *Biophysical Chemistry*, 2023 107001 (10.1016/j.bpc.2023.107001)