

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:笠井 大輔]

[所属:長岡技術科学大学 技学研究院 物質生物系・准教授]

[研究開発課題名:ゴム廃棄物を原料とした生分解性プラスチック生産]

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) 研究統括グループ(長岡技術科学大学)

① 研究開発代表者: 笠井 大輔 (長岡技術科学大学 技学研究院 物質生物系・准教授)

② 研究項目

【項目1】ポリイソプレン分解菌の低分子イソプレン化合物の生産性向上

【項目2】天然ゴム分解菌への PHA 生産能の付与

【項目3】PHA 生産性天然ゴム分解菌での PHA 生産能の向上

【項目4】他のゴム種など配合剤含有ゴム材料への応用

§2. 研究開発成果の概要

本研究では、ポリイソプレンからの効率的な 3-ヒドロキシアルカン酸ポリエステル (PHA) 生産系の確立を目指した。初めに、ポリイソプレン分解産物生産性を向上するために天然ゴム資化性菌 *Nocardia farcinica* NBRC15532 株の低分子イソプレン化合物分解に関わる遺伝子を特定し、それらの遺伝子破壊株を作製した。それにより、NBRC15532 株においてポリイソプレンからの低分子イソプレン化合物生産性が向上した。

また、高度に架橋されたイソプレンゴムを生分解できる細菌を探索し、カーボンブラックを含む加硫イソプレンゴムを分解・資化できる *Rhodococcus* sp. RDE2 株を取得した。本株を用いた PHA 生産系を構築するために、PHA 合成遺伝子群を導入した組換え株を作出した。その結果、栄養培地では PHA の生産が観察されたものの、ポリイソプレンからの生産は達成できなかった。

一方で、ポリイソプレン分解菌 *Rhizobacter gummiphilus* NS21^T 株において、ポリイソプレンから Poly(3HB-co-3HV) (PHBV) への変換能が明らかになり、NS21^T 株の *phaCAB* 遺伝子が PHBV 合成に関与していることが示唆された。本株の PHBV 生産能を向上させるために、推定の PHA 分解遺伝子を欠損した結果、PHBV 蓄積率が増加したことから、これらが PHA 生産の向上に寄与していることが示唆された。今後、培養条件を検討することにより生産率の更なる向上を目指す必要がある。

【代表的な原著論文情報】

1. Characterization of latex-clearing protein and aldehyde dehydrogenases involved in the utilization of poly(*cis*-1,4-isoprene) by *Nocardia farcinica* NBRC 15532. Suzuki, N., Suda, D., Ngan, N.T.T., Gibu, N., Nguyen, L.H., To, A.K., **Kasai, D.*** *Microorganisms* 2022 Nov 24;10(12):2324. doi: 10.3390/microorganisms10122324.PMID: 36557577
2. Identification and transcriptional analysis of poly(*cis*-1,4-isoprene) degradation gene in *Rhodococcus* sp. strain RDE2. Gibu, N., Dao, V.L., Suzuki, N., Ngan, N.T.T., Fukuda, M., To, A.K., Nguyen, L.H., **Kasai, D.*** *J. Biosci. Bioeng.* 2022 May;133(5):452-458. doi: 10.1016/j.jbiosc.2022.01.013
3. Characterization of the genes responsible for rubber degradation in *Actinoplanes* sp. strain OR16. Gibu, N., Arata, T., Kuboki, S., Linh, D.V., Fukuda, M., Steinbüchel, A., **Kasai, D.*** *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020 Sep 104(17):7367-7376. doi: 10.1007/s00253-020-10700-1.