①　②

カネカ生分解性ポリマー Green Planet® 生産微生物の開発と事業化

（株）カネカ　CO_2 Innovation Laboratory　佐　藤　俊　輔　①
（株）カネカ　CO_2 Innovation Laboratory　有　川　尚　志　②

はじめに

1950年代に実用化が始まったプラスチックは，高分子化学の発展に伴い加工性，物性の改善が進み，今では人々の生活に必要不可欠な素材となった．特に食品の個包装，ストローなどの食品接触用途は衛生管理面でも重要な役割を担っており，賞味期限の延長や感染症の拡大防止による循環型社会の構築に重要な役割を担っている．

一方で，大量生産，大量消費に伴う弊害も顕在化してきた．化石資源の利用による資源の浪費や焼却時の二酸化炭素排出が気候変動の一員となっている．更には，誤って自然界に流出したプラスチックが海洋中に蓄積し，海洋汚染を引き起こしていることが分かりつつある．株式会社カネカは1990年代より石油由来のプラスチックの代替として，再生可能資源から生分解性ポリマーを開発することで，持続的なプラスチック産業を創造することを志し，研究開発を進めてきた．基礎研究開始から30年以上，生分解性ポリマーの工業生産技術開発，社会実装を進めて来た．2011年に1,000トン/年の生産能力にて生産を開始し，2024年には20,000トン/年に能力増強を実施，徐々に社会実装を実現させている．社会実装に至る研究成果を紹介したい．

1.　プラスチック代替素材としての位置付け

1-1.　Poly（3HB-*co*-3HHx）：PHBH

我々がGreen Planet® の名称で商品化を進めている生分解性ポリマーは微生物が生産するポリエステル，ポリヒロドキシアルカノエート（PHA）に分類され，特に3-hydroxubytyrate（3HB）と3-hydroxyhexanoate（3HHx）の2成分から成る共重合ポリエステル（PHBH：図1）である．

1991年に当社高砂工業所（兵庫県高砂市）の敷地内からPHBHを生合成する微生物を世界で初めて発見したことから，本研究が始まった．今も変わらないが，一般的に微生物が生産するPHAは3HBのみからなるホモポリエステル（PHB）がほとんどであり，第2モノマーを有する共重合ポリエステルが天然から発見された例は無かった．高分子の視点から見るとPHBは結晶性が高く，硬い物性であることから，プラスチックとしての使用には向いていない素材である．一方でPHBHは第2モノマーである3HHxが結晶化しない性質を有していることから，PHBと比較して結晶性が低く，柔軟な物性であり，プラスチック材料を代替しうる可能性を持っていた．

1-2.　海洋生分解性ポリマー

生分解性という言葉が独り歩きした結果，ユーザーが誤解を生じやすい状況を招いており，材料開発を困難にしている．生分解性は置かれた環境に依存し，例えば，土壌，コンポスト，海洋などが代表的な環境として設定されている．さらにコンポストは高温環境である工業コンポスト，常温環境であるホームコンポストに分けられる．

環境によって，温度，微生物濃度が異なるため，生分解性も当然異なる点がユーザーを混乱させる要因の一つである．

PHBHは，上記すべての環境において良好に生分解性を示す材料である．日本においても，生分解性プラ，並びに海洋生分解性プラ認証を取得している．1-1にて記載したように，PHBHは土壌に生息する微生物が天然に蓄積している天然型ポリマーであり，地球の炭素循環に長年組み込まれている炭素源であるため，微生物が存在しうる環境において良好に生分解する材料である．

2.　PHBH生産微生物の分子育種

2-1.　ポリマー物性

PHBは結晶性が高く引張伸びが5%程度と硬く脆い物性のため実用には適さなかった．PHBHは，その共重合比率に応じて結晶化度が大きく変化し，硬質から軟質まで幅広い物性が得られることが示された（表1）．我々は遺伝子工学によって微生物の代謝を改変することで，共重合比率制御技術を開発した．更にポリマー物性に影響を与える分子量に関しても，代謝工学による制御技術を確立した．

2-2.　微生物育種

我々は独自開発技術による代謝工学研究を用い，細胞内の3HHxモノマー濃度を制御する研究開発を進め，3HHxモノマー供給の鍵酵素がEnoyl-CoA hydoratase（PhaJ）やβ-ketothiolase

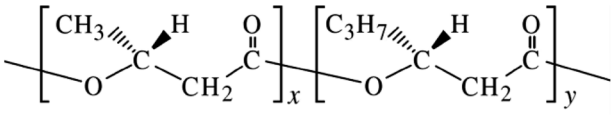

図1　PHBHの化学構造

表1　共重合比率の違いによるPHBHの物性変化

Polymer	Melting point (°C)	Tensile strength (MPa)	Elongation to break (%)
PHB	177	43	5
PHBH			
5 mol% 3HHx	151	-	-
10 mol% 3HHx	127	21	400
15 mol% 3HHx	115	23	760
17 mol% 3HHx	120	20	850
Polypropylene	170	34	400

The data are cited from Doi et al. (1995).

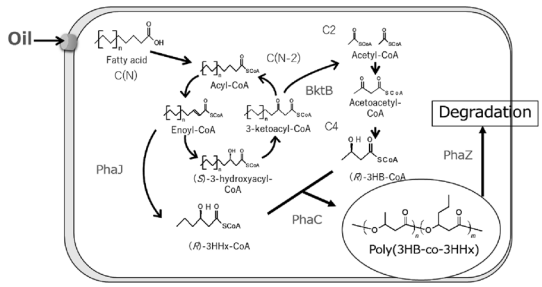

図2 PHBH生合成経路

(BktB) であることを突き止めた[1), 2), 3)]．続いて *phaJ* 遺伝子の転写，翻訳の精密制御技術，並びに *bktB* 遺伝子ノックアウトにより細胞内の3HHxモノマー濃度を精密に制御する技術開発に成功した[4)]．

さらに，3HB，3HHxの両モノマーを重合する酵素であるPHBH synthase (PhaC) の機能制御によって，モノマー生産とポリマー重合の両面から3HHx分率の精密制御技術を完成させた．PhaCの改良では，モノマーの活性中心への結合を酵素の立体構造を基にシミュレーションすることで，3HHxモノマーの活性中心への取込みを効率化するために有効なアミノ酸残基変異導入候補を見出し，効率的に酵素改良研究を進めた．その結果，制御可能な3HHx組成幅をこれまでによりも大きく拡張することに成功している[5)]．これら技術の統合により，硬質から軟質まで物性の異なるPHBHを生産する微生物育種の基盤技術開発を成功させた．

分子量に関しては，PHBH培養生産時間における分子量推移の精密データを取得し，細胞内でPHBHの合成と分解が同時に起こっていることを発見した．その結果を基にPHBH生産後期にはPHBH鎖を内部から切断し分子量を低下させる分解酵素 (PhaZ6) を見出した．*phaZ6* 遺伝子のノックアウトによってPHBH培養生産プロセスにおいて，分子量を高く保つことに成功した[6)] (図2)．

おわりに

PHBH生産微生物の育種に続き，効率的な培養方法の開発，更にスケールアップ技術開発を進め，安定，且つ高効率なPHBH培養生産方法の開発に成功した．

しかしながら，PHBHをプラスチック代替素材として社会実装するためには，培養液からPHBHを取り出し，精製パウダーを生産するダウンストリームプロセス，パウダーからアプリケーション (成形体) を生産する成形加工技術の開発が鍵となる．カネカでは，微生物育種，培養技術，ダウンストリーム技術，成形加工技術の全ての研究開発を実施した．現在はカトラリー等の硬質用途から，シート，フィルム等の軟質用途，更には，ストローや発泡体成形などにも成形加工可能な技術開発に成功した．

バイオものづくりによる環境循環型材料の開発が待ち望まれているが，製造においては，原料からアプリケーション生産まですべてを統合したプロセス設計が必要である．バイオ技術のみならず，化学プロセスや高分子化学とのハイブリッド技術開発が重要であることを心から実感したことは，本研究開発において大きな学びであった．

今後もGreen Planet® の事業スケールを拡大し，プラスチック産業を環境循環型産業へと変革する一翼を担っていく所存である．

(引用文献)

1) Sato S, Fujiki T, Matsumoto K., Construction of a stable plasmid vector for industrial production of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) by a recombinant *Cupriavidus necator* H16 strain, 116(6): 677–81, J. Biosci. Bioeng., 2013
2) Sato S, Maruyama H, Fujiki T, Matsumoto K., Regulation of 3-hydroxyhexanoate composition in PHBH synthesized by recombinant *Cupriavidus necator* H16 from plant oil by using butyrate as a co-substrate, 120(3), 246–51, J. Biosci. Bioeng., 2015
3) Arikawa H, Matsumoto K., Evaluation of gene expression cassettes and production of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) with a fine modulated monomer composition by using it in *Cupriavidus necator*, 15(1), 184, Microb. Cell. Fact., 2016
4) Arikawa H, Sato S., Impact of various β-ketothiolase genes on PHBHHx production in Cupriavidus necator H16 derivatives, 106(8), 3021–3032, Appl. Microbiol. Biotech nol., 2022
5) Harada K, Kobayashi S, Oshima K, Yoshida S, Tsuge T, Sato S., Engineering of *Aeromonas caviae* Polyhydroxyalkanoate Synthase Trough Site-Directed Mutagenesis for Enhanced Polymerization of the 3-Hydroxyhexanoate Unit, 3; 9: 627082, Front. Bioeng. Biotechnol., 2021
6) Arikawa H, Sato S, Matsumoto K., A study on the relation between poly (3-hydroxybutyrate) depolymerases or oligomer hydrolases and molecular weight of polyhydroxyalkanoates accumulating in *Cupriavidus necato*r H16, 10: 227, 94–201, J Biotechnol., 2016

謝　辞　本文にも述べさせて頂きましたように，Green Planet® の社会実装は微生物開発だけでは成し遂げられませんでした．ダウンプロセスや成形加工技術，また市場開発においても，多くの困難を乗り越え，現在に至ります．社会実装の実現に共に立ち向かった全てのカネカ関係者に深く感謝いたします．更に本技術は多くのアカデミアの先生方，卒業研究にてご研究された学生の皆様の基礎研究を発展させたものです．PHBH生産微生物の開発に関わって頂きました全研究者の方々に深く感謝いたします．