

酵素触媒重合による生分解性ポリマーの合成とバイオテクノロジーを用いた解析

鈴木 陽一

論文の内容の要旨

環境や生体にやさしい製品と製造プロセスへの需要の高まりから、生分解性プラスチックや、その合成法の一つである酵素触媒重合法が注目されている。この重合法による、酵素の特性を生かした立体選択的、位置特異的重合にも期待が持たれ、生分解性プラスチックの合成研究も盛んである。本研究では、より厳密に制御された酵素触媒重合法を確立することを目的とし、バイオテクノロジーを用いて、酵素と基質の重合反応における作用機構の解明を行い、得られたポリマーの解析を行った。

第1章では、代表的な生分解性プラスチックであるポリ[(R)-3-ヒドロキシブタン酸][P(3HB)]の微生物合成、生分解、PHBデポリメラーゼの性質ならびに酵素触媒重合法による高分子合成に関するこれまでの研究を概観し、課題を抽出し、本研究の概要を記した。

第2章では、本来はP(3HB)の加水分解を触媒するPHBデポリメラーゼを用いて、 β -ブチロラクトン(BL)の開環重合よりP(3HB)の合成を初めて行った。PHBデポリメラーゼはP(3HB)分解菌の培養上清から精製したものに加え、組換え大腸菌から精製した基質結合ドメイン欠損型の変異酵素を重合反応に用い比べ、酵素の改変による効果を検証した。

第3章では、酵素触媒重合反応における酵素の活性中心残基の関与の検証を行った。一般に酵素反応は、常温水溶液中で行われるが、酵素触媒重合では、粉末酵素を高温・有機溶媒中、不均一系で用いる例が大半である。そこで、PHBデポリメラーゼの活性部位変異酵素を組換え大腸菌から精製し、重合反応に用い、野生型のPHBデポリメラーゼとの反応性の違いから酵素触媒重合反応における酵素の活性中心残基の関与を初めて直接的に証明した。

第4章では、PHBデポリメラーゼを用いて、生分解性が確認されている、あるいは期待される脂肪族ポリエステルを合成するべく、相当するラクトン類の開環重合を試みた。また、ラクトン類の重合反応性の違いを酵素の高次構造モデルを用いて考察した。

第5章では、リパーゼを用いたBLの開環重合によって、P(3HB)の合成を行った。その中で、モノマーの光学純度の違いによる反応性の違いを明白にし、生成ポリマーの環鎖構造に関する新しい知見を得た。

本研究では、酵素触媒重合法により、代表的な生分解性プラスチックであるP(3HB)を含む脂肪族ポリエステルを合成した。また、遺伝子工学的な手法を用いて、これまで不明瞭であった酵素触媒重合における酵素の活性中心残基の重要性を直接的に証明した。さらに、基質結合ドメイン欠損型のPHBデポリメラーゼが重合反応性の向上をもたらすことを見いだした。加えて、酵素と基質とな

るラクトン類との作用機構を論じた。これらの結果、酵素触媒重合法へのバイオテクノロジーを用いたアプローチが、反応機構の詳細な解明、ひいては重合反応に適した酵素への改変などに有効であることを明らかにした。

以上