

総合論文

平成19年度 生物工学奨励賞(斎藤賞) 受賞



バイオキラルナイロンの生産に関する 微生物化学的基礎研究

芦内 誠



Microbial and Enzymatic Production of Chiral Nylon Biopolymer

Makoto Ashiuchi (Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Kochi University, 200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-8502) *Seibutsu-kogaku* **86**: 73-79, 2008.

はじめに

二十世紀は石油化学繊維の時代ともいわれ、さまざまな分野に高付加価値材料を提供し、先端的な産業技術の創出にも寄与してきた。一方、資源枯渇や環境問題への懸念が地球規模で広がってくると、多様な産業領域で「脱石油化」の方向性が強く意識されるようになった。材料開発分野でも再び天然のバイオ繊維(図1)が脚光を浴びる状況になりつつある^{1,2)}。なかでも、微生物繊維は新材料開発のための有力なターゲットとして最も注目されている天然素材で、生分解性材料としての応用とともに超微細繊維部材(ナノファイバー)としての用途展開まで期待されている。

本稿では、アミノ酸が化成ナイロン様の結合様式で連なったポリアミド繊維性物質、特に「納豆の糸」の主成分として有名なポリ- γ -グルタミン酸(以後、PGAと略す)を取り上げる。PGAに係るこれまでの研究の主体は応用性解析³⁻⁵⁾にあったといえる。他方、PGA素材の安定供給や実効性を保証する合成・生産技術の基礎的な研

究は後回しにされてきた感がある。ポリ乳酸の例でも分かるように、生分解性を備えた新機能材料はキラルポリマーから開発されるものと予想される。したがって、生分解性材料の性能や特殊機能性、またこれらの特性発現に係る再現性を保証する目的から、立体科学的な視点に立った材料設計、特に立体規則性を制御するための技術導入が不可欠となってくる。ここでは、優れた立体化学性(キラリティー)を示すPGA、いわゆるバイオキラルナイロンの微生物化学合成ならびに材料応用につながる新たな機能性についても詳解する。

人工ポリグルタミン酸とバイオナイロンPGA

本論に入るに先立ち、まずはPGAの分子構造上の特徴について理解を高める必要がある。構成単位のグルタミン酸は α -アミノ基、 α -カルボキシル基、 γ -カルボキシル基の3つの反応性に優れた官能基を持つ。したがって、その結合様式によって、タンパク質と同質のポリ- α -グルタ

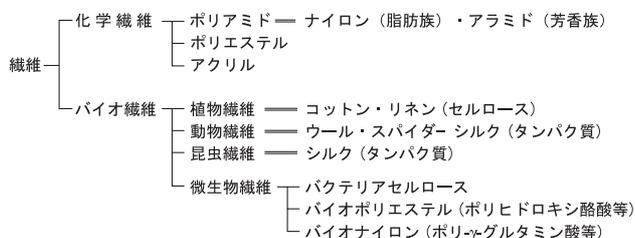


図1. 化学繊維とバイオ繊維

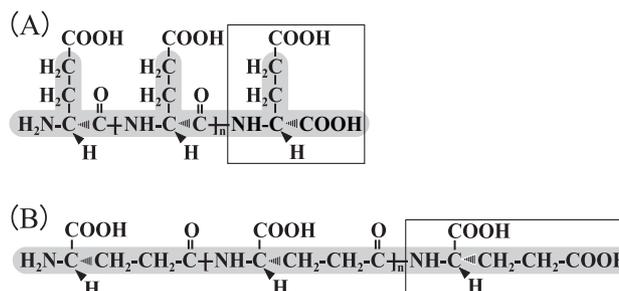


図2. 人工ポリ- α -グルタミン酸(A)と天然ポリ- γ -グルタミン酸(B)の分子構造. グルタミン酸単位は四角で囲んで示した。

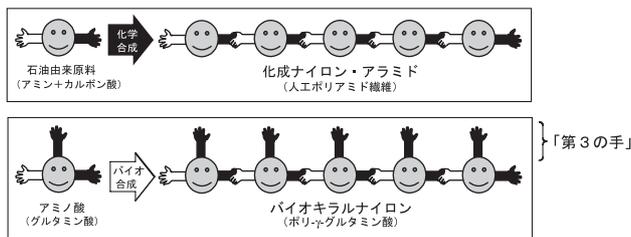


図3. バイオキラルナイロンの構造的特徴。白抜きの手はアミノ基、黒塗りの手はカルボキシル基に相当する。顔の部分はポリマーの構成単位を示す。また、その並び方（図2B、影付き部分に相当）はタンパク質よりも化成ナイロンの基本骨格とよく似ている。

ミン酸（図2A）か、あるいはむしろ化成ナイロンに類似するPGA（図2B；図3）が作られる。これらの基本骨格（図2、影付き）の比較からも分かるように、両者は明らかに異質材料である。すなわち、主鎖部分がコンパクトで側鎖同士の間隔が狭い前者では、側鎖部分の構造が全体構造に顕著に影響する；典型的な枝分れ構造のポリアミド種にあたる。前者に対し、後者は直鎖性の繊維ポリマー（脂肪族ポリアミドの一種）とみなすことができる。さらに、前者は化学合成の容易な「人工ポリグルタミン酸」である一方、後者は人工合成が非常に困難な材料³⁾という違いもある。PGAは天然材料で、安全性や環境負荷の低減など、前者にも勝る優位な機能性を持ち合せている。しかし、公開特許や技術報文などを見ると、グルタミン酸の重合ポリマーとして“十把一絡”にされ、どちらも「ポリグルタミン酸」の名であったかも同じ材料のように扱われている例も少なくない。誤解を避けるために、人工のポリ- α -グルタミン酸の利用法なのか^{6,7)}、天然ポリグルタミン酸であるPGAの応用技術なのか、技術評価も含め、両者は確実に差別化されるべきで注意を促したい。また、生物が生産し利用しているグルタミン酸ポリマーは、ポリ- α -グルタミン酸ではなく主にPGAであるという事象³⁾にも注目していただきたい。タンパク質（ α -ポリペプチド）の合成システム「リボソーム」は生物界のほぼ全体にわたり保存され、絹糸や蜘蛛の糸は事実リボソーム依存的に生産される。理論上ポリ- α -グルタミン酸もリボソームの働きで作られ得る。にもかかわらず、天然に存在するのはPGAである。PGAが生物学上特に有益な機能を保持しているのか、さもなければポリ- α -グルタミン酸は生物学上避けなければならない不都合な化学性を内包しているのかもしれない。

バイオナイロンPGAのインビトロ合成

では、PGAはどのようにして合成されるのであろうか？ D-アミノ酸の一種「D-グルタミン酸」を豊富に含むというタンパク質や一般のポリペプチドにはない構造

特性も有しており、少なくとも非リボソーム依存のバイオシステムによるものであることは想像に難くない。近年、L-グルタミン酸含有培地で培養した納豆菌を用いたPGAを発酵合成させるインビトロ研究が精力的に進められてきた^{3,8)}。そのなかでPGAの生合成がペプチド抗生物質の生合成機構を模倣したチオテンプレート仮説に則って説明された例もある^{9,10)}。しかし、この仮説には多くの問題点が指摘されてきた^{3,11,12)}。たとえば、従来の発酵合成研究で分かるのは、L-グルタミン酸はあくまでもPGAの生産に重要な培地成分ということのみであって、これを唯一の生合成基質とまで断定するのは困難な点や、納豆菌のPGAはグルタミン酸の両光学異性体（D体とL体）がランダムに連結したアタクティックポリマー¹³⁾である上、分子サイズにおいても均一性を欠くなど³⁾、チオテンプレート機構に従って合成されるポリアミド類とは明らかに異なる構造的特徴が見られる点が挙げられる。さて、図3Bには、立体規則性に優れたバイオナイロン（「第3の手」が規則的に上に伸びたキラル構造）を模式図で示した。実際には、納豆菌のPGAはこの手の部分が上下不規則に並んでいる。キラルポリマーの立体規則性の強化はその高機能材料化につながる重要課題であり^{3,14)}、納豆菌PGA研究もこの課題に向き合わざるを得ない。このような状況打破と課題解決を目指し、まずPGAのインビトロ合成について検討した。

高分子量PGAをインビトロで合成する試みはこれまで断続的に行われてきた。しかしながら、PGA合成システムが極端に不安定であったため⁹⁾、この試みに目立った進展はなかった。最近、インビトロで合成された微量のPGAでも精度よく回収できるマイクロ精製技術¹⁵⁾の開発に成功し、これが本研究の大きなブレークスルーとなった。たとえば、納豆菌種において、PGA合成活性は細胞膜に局在することが見いだされた¹⁶⁾。界面活性剤などで膜酵素を可溶化すると、本合成活性が完全に失われることも明らかにした。先にPGA合成システムの不安定性が指摘されていたが、膜結合状態でのみ機能発現するという本システムの特性はその要因の一つと考えられる。ちなみに、膜成分の分散を促す目的で低濃度の界面活性剤（ ~ 1 mM CHAPS）を添加したところ、PGAのインビトロ合成に好結果を与えることが判明した。本反応の最適pHは ~ 7.0 、 Mg^{2+} は機能発現に必須であった¹⁶⁾。また、 Zn^{2+} は低濃度域（ ~ 0.2 mM）では本反応を促進するが、逆に高濃度域（ ~ 5 mM）では阻害的に働くことも分かった¹²⁾。

PGA生合成の反応機構解明に繋がる研究にも取り組んだ。まず、副反応として発生する「グルタミン酸依存ATP加水分解」に注目し、これに伴って生成される核酸

種を調べたところ、AMPではなくADPであることが示唆された¹⁷⁾。基質選択性解析から、グルタミン酸の立体化学性(DL)に対する選択性は厳密ではないことが示唆された¹⁶⁾。また、基質D-グルタミン酸からはD-PGA鎖、基質L-グルタミン酸からはL-PGA鎖、基質DL混合グルタミン酸からはDL-PGA鎖が各々合成された。この結果は、PGA鎖の伸長過程において、チオテンプレート仮説で提唱されてきた特殊な立体反転(L→D)^{9,10)}は発生しないことを意味している。また、このような反応特性から、PGA合成はアミド連結機構¹⁸⁾に則って進行するものと推察された³⁾。事実、納豆菌のPGA合成遺伝子群にコードされるPgsBCA複合体のうち、そのB成分においてアミド連結酵素群に特徴的なアミノ酸配列が高度に保存されていることが分かってきた¹⁹⁾。現在、PGA合成反応は、以下のメカニズムで進むと予想されている。



バイオフィロンPGAの内合成システム

チオテンプレート仮説ではPGAの生合成基質はL-グルタミン酸のみとされてきた。一方、アミド連結機構によれば、納豆菌種のDL-PGAはDL混合グルタミン酸から合成されることになる。不明瞭な部分が残るPGAの内合成システムについて解明の糸口を得るため、納豆菌種のD-グルタミン酸供給酵素系に焦点を当てシステム解析に取り組んだ。さて、細菌のD-グルタミン酸供給ではグルタミン酸ラセマーゼの働きが重要とされている²⁰⁾。本アミノ酸は確かにペプチドグリカンの生合成に必須だが必要量が限られているため、本酵素の菌体内活性は一般に検出できないほど低レベルである。ところが、納豆菌種の本活性は例外的に高かった^{21,22)}。この事実は、著量のD-グルタミン酸の供給や菌体内プールの形成が納豆菌の生理学上重要なのか(同化作用への寄与)、D-グルタミン酸の積極的消費のためか(異化作用への寄与)、あるいはその双方に寄与する可能性を示唆している。興味深いことに、納豆菌や枯草菌は二種の機能性グルタミン酸ラセマーゼをアイソザイムとして保持している^{3,23)}。一つはRacE(Glr)、他方はYrpC(MurI)と呼ばれている^{21,24)}。また、D-グルタミン酸供給との関係では、前者が主体的な役割を果たし後者はその補完的な役目を持つ²⁵⁾。両酵素を欠いた変異株では、明確なD-グルタミン酸要求性が認められた。

また、枯草菌RacE欠損株(YrpCは保持)では、D-グルタミン酸の供給能(内合成能)が極端に低下していた；この変異株を宿主にPGA合成システムを強制発現させ

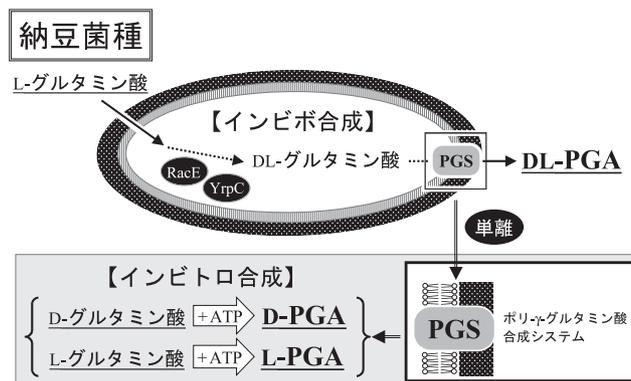


図4. ポリ-γ-グルタミン酸の内合成システムと納豆菌種の膜酵素画分を利用したインビトロ合成. RacE, 高触媒性グルタミン酸ラセマーゼ; YrpC, 低触媒性グルタミン酸ラセマーゼ; PGS, ポリ-γ-グルタミン酸合成システム; DL-PGA, ポリ-γ-DL-グルタミン酸; D-PGA, ポリ-γ-D-グルタミン酸; L-PGA, ポリ-γ-L-グルタミン酸。

ることにより、D-グルタミン酸要求性の人為誘導が可能となった²⁵⁾。以上の結果は、PGAの内合成(インビボ合成)においてもD-グルタミン酸が生合成基質の一つであることを意味し、上述のインビトロ合成での結果と矛盾しないものであった。予想されるPGA内合成システムの概要を図4にまとめた。これに従えば、グルタミン酸ラセマーゼ活性が強くD-グルタミン酸供給の主体となっている細菌類(納豆菌など)では、PGAがDL混成ポリマーとして発酵生産されることは避けられない。そのため、立体規則性に優れたPGAを得る目的からすると、グルタミン酸ラセマーゼフリーの膜酵素画分が利用できるインビトロ合成は非常に優れているといえる。その一方、産業用途に適う製造レベルを実現するため、PGA合成効率を飛躍的に向上させるという課題も残っている。

巨大菌を利用したバイオフィロンL-PGAの効率合成

PGAのインビトロ合成および内合成システムの解析から、ここに至って、菌体内L-グルタミン酸のラセミ化がPGAのキラリティーにまで多大な影響を及ぼしていることが分かってきた。そこでまず、代表的なPGA合成微生物について、PGAキラリティーとD-グルタミン酸(D-Glu)供給に係る酵素活性の見かけの相関を調査し、結果を表1にまとめた。納豆菌や韓国の「戦国醬菌」などの*Bacillus subtilis*では比較的高いグルタミン酸ラセマーゼ(GLRと表記)活性を有する。また、インビボ合成されたPGAの立体化学性(DL比率)に規則性は認められず、分子構造上アタクティックということになる。一方、炭疽菌(*Bacillus anthracis*)はほぼD体で構成されるD-PGAを合成する³⁾。文献によればGLR活性は認められないものの、顕著なD-アミノ酸アミノトランスフェラーゼ(DATと表記)活性が検出されている²⁶⁾。DATは、他

表1. PGA合成微生物のD-グルタミン酸供給酵素活性

微生物	PGAのD体含有率(%)	D-Glu供給酵素活性 (U mg ⁻¹) ^a		
		GLR	DAT	文献
納豆菌	65±15	54	0	3, 21
戦国醬菌	55±20	36	~3	15, 16, 22
炭疽菌	100	- ^b	+++ ^b	3, 26
好塩古細菌	0	0	0	27, 28
巨大菌	5.5±2.5 ^c	<1	0	27

^a 活性単位 (U), nmol min⁻¹.

^b -, 活性検出されず; +++, きわめて強い活性.

^c 高塩液体培地 (10% NaCl) を使用.

のD-アミノ酸 (D-アラニンやD-アスパラギン酸など) とα-ケトグルタル酸から, 基質D-アミノ酸に対応するケト酸とD-グルタミン酸を生成する酵素である³⁾. GLRと違い, D-グルタミン酸の合成にL-グルタミン酸の存在は必須条件とならない. したがってDATによれば, 原理上細胞のグルタミン酸プールのD比率を一方向的に高めることも可能である.

さらに, 好塩古細菌 (*Natrialba aegyptiaca*) について調べたところ, GLRとDATの両活性ともに保持していないことが判明した²⁷⁾. 興味深いことに, この極限環境微生物が合成するPGAは, 炭疽菌PGAが立体化学的に反転した構造のL型ポリマーである²⁸⁾. バイオキラルナイロン新材料として種々の応用展開が期待されているものの, 元来生息環境中で発生する乾燥と脱水現象から身を守るように合成される一種の環境適応因子と考えられ, 実際, 量産化の基礎となる液体培養法ではPGAがほとんど合成できないという致命的な欠点を抱えている. GLRとDATの活性を指標にD-グルタミン酸供給系の調査をさらに続けたところ, 巨大菌 (*Bacillus megaterium*) もまたこの両酵素活性が極端に低いことを見いだした²⁷⁾ (表1). 巨大菌は分類学上納豆菌や枯草菌に近く, 生育条件からPGA合成まで酷似すると信じられてきた³⁾. ところが, 納豆菌のPGA合成とは多くの面で異なることが解ってきた. たとえば, 巨大菌PGAはL-グルタミン酸含有率 (光学純度に相当) が圧倒的に高く (表1), 高品質である. 巨大菌は本来好塩性菌ではないが, 高塩ストレスに曝されるとPGA合成が顕著に誘導されることが分かってきた²⁷⁾. 図5に示すように, NaCl濃度が2%を超えるとPGA合成量は急激に増加する; 細菌の塩応答バイオナイロンポリマーの最初の発見例にあたる. さらに, 海水の3倍に相当する塩濃度 (10%) までの負荷に伴い, PGA分子は著しく伸長した (図5, SDS-PAGE); この現象はここまでまったく知られていなかったものである. インビボ合成PGAの「質の管理」はこれまで困難とされてきたが, 巨大菌PGAは現状打破につながる有力候補と

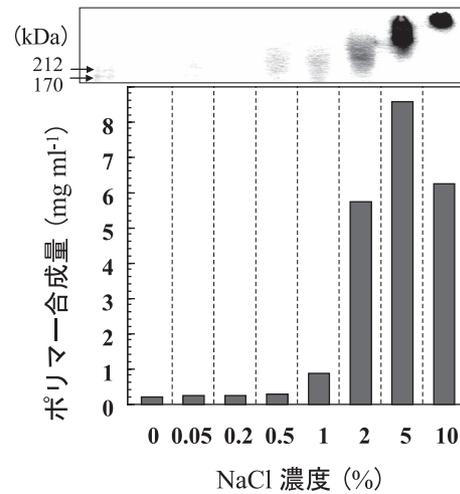


図5. 巨大菌の塩誘導性バイオナイロンポリマー. バイオナイロンPGAは, SDS-PAGE後, メチレンブルー染色法³⁾で視覚化できる (上図).

して重要性が増している²⁹⁾.

バイオナイロンPGAの酵素加工

炭疽菌は莢膜成分としてD-PGAを合成し細胞表層を覆うことで感染宿主の免疫網から逃れている³⁰⁾. 免疫無効化を導くポリマー効果を逆手に取れば, 先端医薬 (抗がん剤など) の副作用軽減や更なる高機能化まで期待できる^{3,31)}. ただし, 炭疽菌を利用したポリマー量産化は安全性の面から事実上不可能で, D比率の高いPGAについても新たな合成技術の開発が求められていた. 納豆菌種のPGA代謝 (合成と分解) オペロン, 特にPGA合成遺伝子群-*pgsBCA*-のすぐ下流に存在する新機能遺伝子 (*pgdS*; 以前は *ywtD*) の研究³²⁾ がブレイクスルーとなった. 本遺伝子産物-PgdS酵素-では, アミダーゼ (アミド加水分解酵素) 様ドメインが3つタンデムに並んでいる (図6). したがって, エンドペプチダーゼ群のなかでも特殊な構造と機能を備えた酵素と考えられた. 最近, 本酵素の簡易精製法の開発に成功した³²⁾. 次の課題として, 簡便かつ精密な活性測定技術の確立が挙げられ, 本技術開発にも取り組んだ. 結果, 先に構築したPGA分子サイズ解析

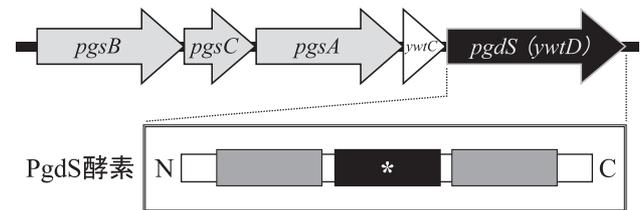


図6. ポリ-γ-グルタミン酸代謝オペロン内の *pgdS* (*ywtD*) 遺伝子の位置とPgdS酵素の構造特性. PgdS酵素のNはアミノ基末端, Cはカルボキシル基末端を示す. 色付きのボックスはアミダーゼ様ドメイン領域を示し, 特に中央のドメインには活性発現に必須のシステイン残基 (*) が存在するものと予想される.

表2. PgdS酵素の反応速度定数

基質	立体化学性 (D:L)	K_m (nM)	V_{max} (U mg ⁻¹) ^a
納豆菌 PGA	75:25	0.26	83.6
巨大菌 PGA	20:80 ^b	10	75.0
好塩古細菌 PGA	0:100	— ^c	

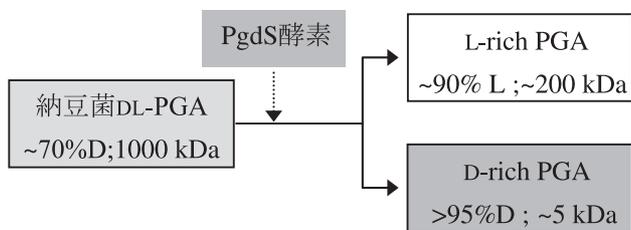
^a 活性単位 (U), 1 分間に 1 nmol の PGA の末端アミノ基を形成する触媒量。

^b 低塩固体培地 (0.05% NaCl) を使用³⁴。

^c 活性検出されず。

法^{16,33}の適用が有効であった³⁴。具体的には、1-fluoro-2,4-dinitrobenzene (FDNB) による化学定量法を用いるもので、既存技術の適用³⁵と比較して簡便迅速で再現性・定量性の面でも優れていた^{5,33}。

ここでは FDNB 法を用い、PgdS 酵素の性質を調査した。納豆菌のPGAにはよく作用するものの、人工のポリ- α -グルタミン酸にはまったく作用しないことが判明した³⁴。すなわち、本酵素はグルタミン酸ポリマーでも天然の結合様式を持つものを厳密に認識していることを意味する。反応最適 pH は ~ 6.0 、最適温度は $30 \sim 40^\circ\text{C}$ 、熱安定性は 50°C 付近であった³⁴。本酵素はその反応に補酵素・補欠因子を一切要求しない。一方、チオール修飾剤の添加によって容易に失活するため³⁴、活性発現に必須のシステイン残基が存在すると示唆された。続いて、立体化学性の異なるPGAを基質に反応速度論解析を行った(表2)。 K_m 値の比較からD比率の高いポリマーほどよい基質になることが判明した。また、納豆菌PGAと巨大菌PGAに対する最大反応速度は比較的近い値となった。一方、好塩古細菌のL-PGAは基質にならなかったことから、少なくともPGA鎖中のD体が存在する領域(配列)が切断部位と認識されていることが分かった³⁴。さて、納豆菌PGAをPgdS酵素で十分に処理すると次のフローチャートのような断片化が起こる。



このように、本酵素を利用することでPGAの立体規則性が効果的に改善できる³²。そこで、新たに「PGA加工酵素」と名づけた。本反応機構に係る知識(切断部位の情報など)をさらに深めるため、PGA加工断片の両末端構造について解析を進めた。具体的には、加工断片のアミノ基末端配列は納豆菌の γ -グルタミルトランスフェ

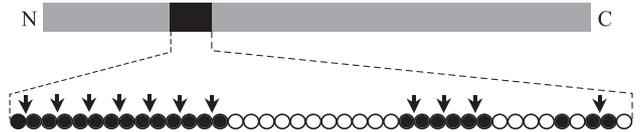


図7. ポリ- γ -グルタミン酸加工酵素の推定反応機構。PGA鎖のアミノ基末端をN、 γ -カルボキシル基末端をCで表した。PGAの一部を拡大した領域(黒塗り部分)について、D単位に富む部分を●、L単位に富む部分を○で表した。推定される切断部位は矢印で示した。

ラーゼを用いて解析し、カルボキシル基末端配列は細菌性カルボキシペプチダーゼGを用いて解析した³⁴。その結果、D-rich PGAはもちろんL-rich PGAでもその両末端にはD-グルタミン酸が連続していることが示唆された。すなわち、このことは切断部位がPGA鎖のDD連結部位であることを意味する。

以上の解析結果から、本酵素はPGA鎖中のD-グルタミン酸に富む領域を認識しこれを切断するエンドペプチダーゼ“ γ -glutamyl DD-amidohydrolase”との結論に達した(図7)。

本技術は、炭疽菌などの安全上問題のある微生物に頼ることなく、納豆の糸という食物材料と納豆菌起源の酵素のみを使って立体規則性PGAが加工合成できる点で優れている。食・健康・コスメ・医療などの人間科学的な産業応用分野に、特段の安全性を誇るバイオキラルナイロン素材を提供するための基礎を築いたものであり、学術的な価値もある。

バイオキラルナイロンL-PGAの新たな応用性

ポリグルタミン酸に係る先行技術を調査すると、事実上人工のポリ- α -グルタミン酸によるものか、バイオナイロンでも納豆菌などのDL-PGAによるものに限られていたことに気づく^{3,5,36}。最近、DL-PGAからの機能材料化の効率や再現性に問題があることが指摘された³⁷。同時に、立体規則的なPGAは材料化の点でも優れていることが示されている³⁷。キラル材料の性能は、基本的にその立体規則性の影響下にあることがポリ乳酸の例からも解る¹⁴。バイオナイロンのなかでもL-PGAは新素材の部類に入るため³、特に応用性に関し、今もなお多くの未開領域が残されている。そこでまず、環境ストレスに対するバリア機能を解析するため、大腸菌(生細胞)のL-PGA共存下での生育特性を調べた。その結果、本来ならば増殖できないような極限環境下(強アルカリや高塩条件)でも生育能が高まることを発見した(図8)。さらに、多様な物理化学的ストレスによって変性(機能喪失)しやすい酵素に対してもバリア機能を発揮し、超安定化に寄与することが判明した。具体的には、耐熱性・アルカリ耐性・プロテアーゼ耐性・耐凍性など、多様なストレス

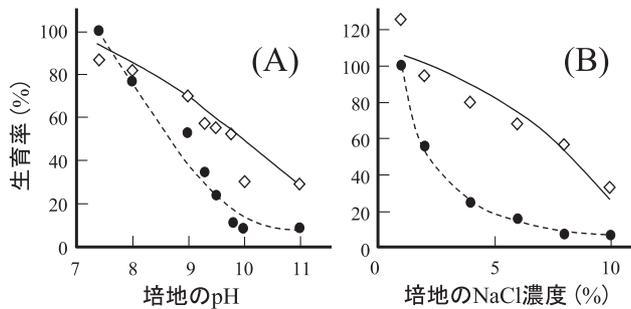


図8. 極限環境下での大腸菌の生育能に及ぼすバイオキラルナイロンの効果. (A) アルカリ環境下での生育. (B) 高塩環境下での生育. 各 pH および塩濃度の LB 培地を用い, L-PGA 添加 (◇) および無添加 (●) の条件で菌体培養した⁴⁰⁾; 最適培養条件での菌体濁度を生育率 100% とし他の条件での生育率を算出した.

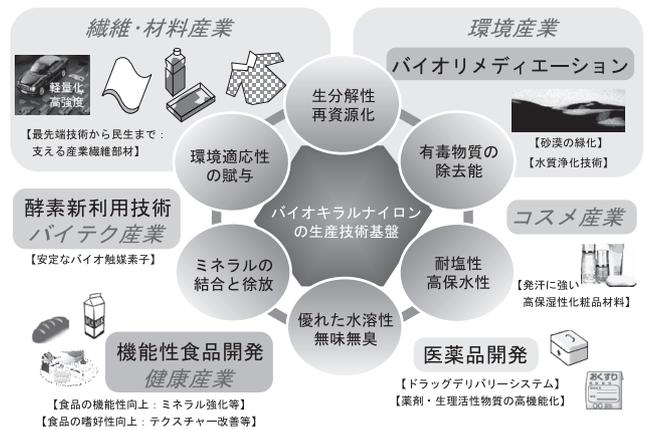


図10. バイオキラルナイロンの多様な有用な機能性, ならびに新バイオ先端材料として期待されている多角的産業応用展開

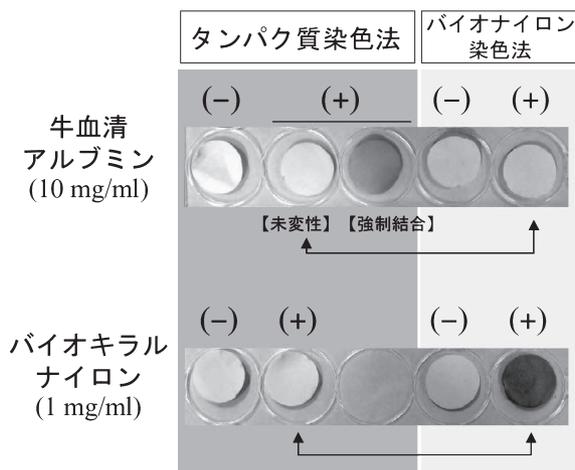


図9. バイオキラルナイロンの接着性試験. (+) は低付着性のセルロースアセテート膜を高付着性タンパク質「牛血清アルブミン」溶液 (上図) とバイオキラルナイロン溶液 (下図) に浸した後, 水洗して得たサンプルを, (-) は試験溶液として蒸留水を代用して得たコントロールサンプルを示す. タンパク質はトリパンブルー染色法⁴¹⁾ で, バイオナイロンはメチレンブルー染色法で選択的に視覚化できる.

耐性がバイオキラルナイロンL-PGAの添加のみで賦与できる³⁸⁾. この発見は, 材料応用の面で特に注目値すると思われる. 極限環境微生物が生合成するスーパーオスモライトは「エクストリモライト」とも呼ばれ³⁹⁾, バイオ工学上の新応用が期待されている. バイオキラルナイロンはまさにこの範疇に入るものと考えられる. 一方, オスモライト (適合溶質) はここに至るまで細胞内に存在すると思われていたため, 図らずも本例が菌体 (細胞) 外に存在するエクストリモライト機能物質の最初の発見となった. 加えて, 細胞外で機能することの応用面での意義は大きく, 従来必要と思われてきた遺伝子組換えなどによる機能導入や細胞の分子育種のような煩雑な人為操作が不要となる. さらに, 図9に示すように, バイオキラルナイロンは物質表面への接着・被膜効果に優れて

いることも分かってきた. 多機能性新素材・バイオキラルナイロンのさらなる活用を図り, バイオ工学技術の発展に貢献したいと考えている.

おわりに

汎用ナイロン素材やアラミドスーパー繊維に代表される化学合成ポリアミドは現代社会・産業を支える重要材料ということに間違いはないものの, 脱石油化や環境対応など, 突きつけられた課題も多い. バイオ起源のキラル材料への転換は今日的な要請となっているが, 立体規則性の強化や合成効率の向上・量産化など, 合繊開発では問題にならないものが律速的な課題として新たに浮き彫りになってきた.

今回, PGAの機能材料化につながる最重要課題「立体規則性の強化・制御」に対応できる技術基盤を築くまでに至った. PGAの潜在的な応用性・有用機能が次々と発見されていることに加え, バイオキラルナイロンの効率合成も可能になってきた. 現在, 本材料はセルロースナノファイバー・バイオポリエステルに次ぐ第3のバイオ先端材料として, 多角的な産業応用展開が強く望まれている (図10).

本研究は高知大学農学部応用生物化学研究室および総合研究センター遺伝子実験施設で行った仕事です. この度の栄誉は, 研究室に在籍し共に研究を進めてくれた大学院生と学部生の力なくしては得られなかったものです. まず, 研究に携わってくれた学生の皆さんに感謝の意を示したいと思います. 筆者の研究を絶えず温かい目で支えて下さいました味園春雄先生 (高知大学名誉教授), 左右田健次先生 (京都大学名誉教授, 関西大学名誉教授) に深謝いたします. 研究の方向性を見定めるにあたり, 多大なるご助言を頂きました東京工業大学イノベーション研究推進体の本宮達也先生に厚く御礼申し上げます. また, 本賞の受賞に際しまして, 推薦いただきました九州大学農学研究院の大島敏久教授に御礼申し上げます. 共同研究者であ

ります韓国国民大学の成文喜教授、東洋紡績株式会社敦賀バイオ研究所の曾我部敦氏にこの場を借りて感謝致します。最後に、ひとときのやすらぎと活力をくれる妻と息子と一緒にこの喜びを分かち合いたいと思います。

文 献

- 1) 経済産業省/NEDO技術戦略マップ, ものづくり分野(ファイバー分野), p.868-897 (2007).
- 2) 磯貝 明: 機能材料, **27**, 45-51 (2007).
- 3) Ashiuchi, M. and Misono, H.: *Biopolymers* (Fahnestock, S. R. and Steinbüchel, A.), Vol.7, p.123-174. Wiley-VCH, Weinheim (2002).
- 4) Shih, I. L. and Van, Y. T.: *Bioresour. Technol.*, **79**, 207-225 (2001).
- 5) Sung, M. H., Park, C., Kim, C. J., Poo, H., Soda, K., and Ashiuchi, M.: *Chem. Rec.*, **5**, 352-366 (2005).
- 6) 森本恵治, 谷口浩司, 高岸 徹, 林 壽郎: 生体材料, **19**, 83-88 (2001).
- 7) 佐藤正樹, 市毛昭弘, 江村智子, 中平隆幸, 岩淵 晋: 高分子学会予稿集, vol. 40, p. 526 (1991).
- 8) Kunioka, M. and Goto, A.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **40**, 867-872 (1994).
- 9) Troy, F. A.: *J. Biol. Chem.*, **248**, 305-316 (1973).
- 10) 伊藤義文: バイオサイエンスとインダストリー, **57**, 247-250 (1999).
- 11) Ashiuchi, M., Kamei, T., and Misono, H.: *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **23**, 101-106 (2003).
- 12) 芦内 誠: 生化学, 印刷中 (2008).
- 13) Tanaka, T., Fujita, K., Takenishi, S., and Taniguchi, M.: *J. Ferment. Bioeng.*, **84**, 361-364 (1997).
- 14) Engelberg, I. and Kohn, J.: *Biomaterials*, **12**, 292-304 (1991).
- 15) Ashiuchi, M. and Misono, H.: *D-Amino Acids: A New Frontier in Amino Acid and Protein Research — Practical Methods and Protocols* (Konno, R., Brückner, H., D'Aniello, A., Fisher, G., Fujii, N., and Honma, H.), p.403-407, Nova Science Publishers, NY (2007).
- 16) Ashiuchi, M., Shimanouchi, K., Nakamura, H., Kamei, T., Soda, K., Park, C., Sung, M.H., and Misono, H.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 4249-4255 (2004).
- 17) Ashiuchi, M., Nawa, C., Kamei, T., Song, J. J., Hong, S. P., Sung, M. H., Soda, K., and Misono, H.: *Eur. J. Biochem.*, **268**, 5321-5328 (2001).
- 18) Eveland, S. S., Pompliano, D. L., and Anderson, M. S.: *Biochemistry*, **36**, 6223-6229 (1997).
- 19) Ashiuchi, M., Soda, K., and Misono, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **263**, 6-12 (1999).
- 20) Yoshimura, T. and Esaki, N.: *J. Biosci. Bioeng.*, **96**, 103-109 (2003).
- 21) Ashiuchi, M., Tani, K., Soda, K., and Misono, H.: *J. Biochem.*, **123**, 1156-1163 (1998).
- 22) Ashiuchi, M., Kamei, T., Baek, D. H., Shin, S. Y., Sung, M. H., Soda, K., Yagi, T., and Misono, H.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **57**, 764-769 (2001).
- 23) Ashiuchi, M., Soda, K., and Misono, H.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 792-798 (1999).
- 24) Ashiuchi, M., Kuwana, E., Komatsu, K., Soda, K., and Misono, H.: *FEMS Microbiol. Lett.*, **223**, 221-225 (2003).
- 25) Ashiuchi, M., Nishikawa, Y., Matsunaga, K., Yamamoto, M., Shimanouchi, K., and Misono, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **362**, 646-650 (2007).
- 26) Thorne, C. B. and Molnar, D. M.: *J. Bacteriol.*, **70**, 420-426 (1955).
- 27) Shimizu, K., Nakamura, H., and Ashiuchi, M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 2378-2379 (2007).
- 28) Hezayen, F. F., Rehm, B. H. A., Tindall, B. J., and Steinbüchel, A.: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **51**, 1133-1142 (2001).
- 29) 特開2007-228957 (2007).
- 30) Mock, M. and Fouet, A.: *Annu. Rev. Microbiol.*, **55**, 647-671 (2001).
- 31) Shih, I. L., Van, Y. T., and Shen, M. H.: *Mini Rev. Med. Chem.*, **4**, 179-188 (2004).
- 32) Ashiuchi, M., Nakamura, H., Yamamoto, T., Kamei, T., Soda, K., Park, C., Sung, M. H., Yagi, T., and Misono, H.: *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **23**, 249-255 (2003).
- 33) Park, C., Choi, J. C., Choi, Y. H., Nakamura, H., Shimanouchi, K., Horiuchi, T., Misono, H., Sewaki, T., Soda, K., Ashiuchi, M., and Sung, M. H.: *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **35**, 128-133 (2005).
- 34) Ashiuchi, M., Nakamura, H., Yamamoto, M., and Misono, H.: *J. Biosci. Bioeng.*, **102**, 60-65 (2006).
- 35) Suzuki, T. and Tahara, Y.: *J. Bacteriol.*, **185**, 2379-2382 (2003).
- 36) <http://www.ipdl.inpit.go.jp/homepg.ipdl>
- 37) 特願2006-27211 (2006).
- 38) 特開2007-97586 (2007).
- 39) Lentzen, G. and Schwarz, T.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **72**, 623-634 (2006).
- 40) Ashiuchi, M.: *The 10th Pacific Polymer Conference (PPC10) Preprints*, p.259 (2007).
- 41) Shen, W. C., Yang, D., and Ryser, H. J.: *Anal. Biochem.*, **142**, 521-524 (1984).