

フジシール財団 研究助成事業  
成果報告書

公益財団法人フジシール財団  
理事長 岡 崎 裕 夫 殿

報告日 2026 年 5 月 31 日

|       |                                |           |
|-------|--------------------------------|-----------|
| 研究課題  | 低炭素パッケージに資するバイオ PS フィルム生産技術の開発 | 助成金額      |
|       |                                | 300 万円    |
| 助成名   | 特別長期研究助成・〇研究助成・若手研究助成          |           |
| ふりがな  | たなか つとむ                        | 研究助成申請年度  |
| 研究者氏名 | 田中 勉                           | 2024 年度   |
| 所属機関  | 神戸大学大学院工学研究科応用化学専攻             | 研究期間      |
|       |                                | 2024-2025 |
| 役 職   | 准教授                            |           |

下記の通り、研究成果を報告いたします。

記

1. 研究成果の概要

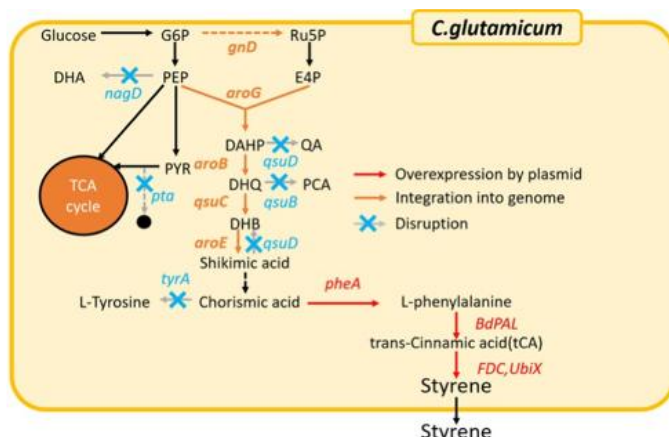
食品、医薬品、日用品などの流通を支える包装材料には、内容物の保護、品質保持、衛生性確保、輸送効率の向上など多様な機能が求められる。その中で、プラスチックフィルムや樹脂材料は、軽量性、透明性、成形加工性、耐水性、機械的強度に優れることから、包装・パッケージ分野に広く利用されている。一方で、これらの多くは化石資源由来の化学品を原料としており、包装材料の環境負荷を低減するためには、リサイクル技術の高度化に加え、樹脂原料そのものを再生可能資源から生産する技術の開発が重要である。

スチレンは、ポリスチレン、ABS 樹脂、スチレン系共重合体などの原料となる芳香族モノマーであり、容器、緩衝材、フィルム、ラベル関連材料など、包装分野を含む多様な樹脂材料を支えている。現在の工業的なスチレン製造は、主に化石資源由来のエチルベンゼンを原料とする脱水素反応に依存しており、多量のエネルギーを必要とする。そのため、包装材料の持続可能性を上流から高めるには、スチレンのような基幹モノマーを再生可能炭素源から生産するバイオプロセスの開発が有効である。

本研究では、アミノ酸発酵産業で広く利用される *Corynebacterium glutamicum* を宿主とし、グルコースからスチレンを生産する微生物発酵プロセスの構築を目指した。具体的には、*C. glutamicum* のシキミ酸経路を強化し、L-フェニルアラニン、トランス桂皮酸を経てスチレンへ至る人工代謝経路を導入した。さらに、遺伝子発現条件および培養条件を最適化することで、包装材料やフィルム関連樹脂の原料となる芳香族モノマーを、再生可能資源から生産するための基盤技術の確立を目指した。

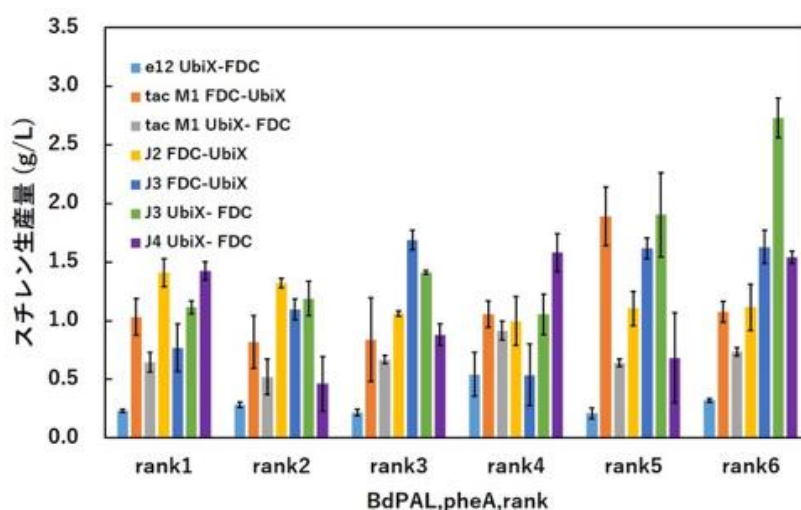
本研究では、*Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 を出発株とし、グルコースからスチレンを生産する人工代謝経路を構築した。スチレンは、ホスホエノールピルビン酸とエリトロース-4-リン酸を出発物質とするシキミ酸経路を経て、L-フェニルアラニン、トランス桂皮酸を介して合成される。

そこで本研究では、シキミ酸経路の強化、トランス桂皮酸生産経路の導入、スチレン生成経路の構築を段階的に行った。まず、シキミ酸経路への炭素フラックスを高めるため、シキミ酸消費に関与する *qsuD*、*qsuB*、*nagD* を破壊し、ペントースリン酸経路遺伝子 *gnd* に S361F 変異を導入した。さらに、*aroG*、*aroB*、*aroE*、*qsuC* を染色体上に組み込み過剰発現させるとともに、競合経路に関わる *tyrA*、*nagD*、*pobA*、*pykLK* および転写制御因子 *iolR* を破壊した。これらの改変を導入した株を WS 株とし、以降のスチレン生産株構築の基盤とした。次に、L-フェニルアラニンからトランス桂皮酸への変換経路を構築した。*C. glutamicum* は本来この反応を持たないため、プレフェン酸脱水酵素 *pheA* と、*Brachypodium distachyon* 由来フェニルアラニンアンモニアリアーゼ *BdPAL* を導入した（右図）。*BdPAL*1、*BdPAL*2、*BdPAL*6、*BdPAL*8 を比較した結果、*C. glutamicum* 内でトランス桂皮酸生産が可能となり、最適な遺伝子組合せではグルコースから最大 3.59 g/L のトランス桂皮酸を生産した。



続いて、トランス桂皮酸からスチレンへの脱炭酸反応を担う *Escherichia coli* 由来 FDC および *UbiX* を導入した。FDC 単独ではスチレン生成は確認されなかったが、*UbiX* との共発現によりスチレンへの変換が可能となった。この結果から、*C. glutamicum* におけるスチレン生産には、上流経路遺伝子 *pheA*・*BdPAL* に加え、下流経路遺伝子 *FDC*・*UbiX* の発現が不可欠であることが示された。発酵試験では、BHI 培地で 24 時間前培養した後、50 g/L グルコースを含む CGXII 培地に植菌し、30℃、220 rpm で培養した。スチレンは揮発性かつ疎水性であるため、*n*-ヘキサデカンを添加して有機相に回収し、GC および HPLC によりスチレン、トランス桂皮酸、関連代謝物を定量した。

スチレン生産株では、スチレンの毒性により本培養中の菌体増殖が低下する傾向が見られた。そこで、培養初期の菌体増殖を優先させるため、*n*-ヘキサデカン添加時期を調整した。その結果、添加を培養 48 時間後に遅らせることで最終菌体量が改善し、スチレン生産量が向上した。さらに、導入遺伝子のプロモーターを最適化し、上流経路と下流経路の発現バランスを調整した結果、50 g/L グルコースから最大  $2.73 \pm 0.17$  g/L のスチレン生産を達成した（右図）。



以上より、本研究では *C. glutamicum* を用いてグルコースからスチレンを生産する経路を構築し、既報の微生物スチレン生産研究の中でも最高水準の生産量および収率を達成した。本成果は、包装材料やフィルム関連樹脂の原料となる芳香族モノマーを、再生可能資源から生産するための基盤技術として位置づけられる。

## 2. 研究成果のパッケージ産業への貢献の可能性

本研究では、包装材料やフィルム関連樹脂の原料となり得る芳香族モノマーであるスチレンを、微生物発酵によりグルコースから生産する基盤技術を開発した。現在、包装・パッケージ分野で用いられる多くのプラスチック材料は、化石資源由来の基幹化学品を原料として製造されている。そのため、包装材料の環境負荷を低減するためには、リサイクル技術や材料設計の高度化に加え、樹脂原料そのものを再生可能資源由来へ転換する技術が重要である。本研究成果は、包装材料の上流に位置するモノマー製造段階において、脱化石資源化の選択肢を広げるものである。

スチレンは、ポリスチレン、ABS 樹脂、スチレン系共重合体などの原料として利用され、容器、緩衝材、フィルム、ラベル関連材料、接着・改質材料など、パッケージ産業と関わりの深い材料群を支えている。本研究では、*Corynebacterium glutamicum* を宿主として、グルコースから最大  $2.73 \pm 0.17$  g/L のスチレンを生産することに成功した。この成果は、従来の化石資源依存型プロセスに代わり、再生可能炭素源から芳香族モノマーを生産できる可能性を示すものであり、将来的なバイオベース包装材料の開発に資する基盤技術となる。

また、本研究で構築した代謝経路は、スチレンのみならず、その前駆体であるトランス桂皮酸や関連する芳香族化合物の生産にも応用可能である。これらの化合物は、機能性樹脂、コーティング剤、接着剤、フィルム改質剤などへの展開が期待されることから、本研究成果は単一のモノマー生産にとどまらず、包装材料の機能化や高付加価値化に向けた芳香族化合物生産プラットフォームとしても意義を持つ。

さらに、*C. glutamicum* はアミノ酸発酵産業で利用実績のある微生物であり、食品・飼料・医薬用原料の生産にも用いられてきた安全性の高い宿主である。このような産業利用実績を有する微生物を用いて包装材料原料の生産可能性を示したことは、将来的な発酵生産プロセスの社会実装に向けても重要である。特に、再生可能資源由来の糖やバイオマス由来炭素源を利用できれば、包装材料のライフサイクル全体における化石資源依存度の低減に貢献できる。

以上のように、本研究成果は、パッケージ産業における「材料の高機能化」と「環境負荷低減」を上流原料の観点から支える技術である。今後、生産性のさらなる向上、バイオマス由来原料への展開、得られたバイオスチレンの重合・材料評価へと進めることで、バイオベースフィルム、容器、ラベル、接着・改質材料など、持続可能な包装材料開発への波及が期待される。

3. 学会発表、学会誌等への論文掲載、産業財産権出願などの実績（現時点で未発表・未掲載・未出願のため、上記「1. 研究成果の概要」、「2. 研究成果のパッケージ産業への貢献の可能性」の当財団ホームページ上の公開の延期を希望される場合、その旨 記載してください。）