

第 71 回高分子討論会に参加して

中 村 治 人

Haruto NAKAMURA

物質化学専攻修士課程 2年

1. はじめに

私は、2022年9月5日から7日に開催された「第71回高分子討論会」に参加し、「*R. eutropha* による P3HA 生合成の時の分子量増加速度およびエネルギー代謝による分子量減少速度の定量」というテーマでポスター発表を行った。

2. 緒言

微生物 *Ralstonia eutropha* (*R. eutropha*) を用いた poly (3-hydroxyalkanoate) (P3HA) の生合成において、本研究室ではペンタン酸を用いた培養後に培地を入れ替え、グルコースによる培養を行うことで生合成した P (3 HBV-*b*-3 HB) ニブロック共重合体の生合成や物性について報告している。

本研究では *R. eutropha* (NCIMB: 11599) を用い、グルコースとペンタン酸を炭素源として P3HB と P3HBV の共重合体である P3HB-*b*-P3HBV を生合成し、炭素源を用いる順による各ブロックおよび P3HB 単体の生合成速度および菌体内での分解速度について検討している。

3. 実験操作

3.1 得られた試料の全体および各ブロックの数平均分子量

R. eutropha (NCIMB: 11599) を炭素源としてペンタン酸を含む窒素制限培地で 72 時間振とう培養を行ない、菌体を分離後炭素源をとってグルコースを含む培地に加えて培養を行った。得られた P3HA は P 72-Gx (x は培養時間) とする。また炭素源の順番を変えて得られた P3HA を G72-Px とする。

4. 結果および考察

4.1

得られたフィルムのブロック分率を¹³CNMR におけるカルボニル炭素のピーク面積より求めた。このブロック分率と試料の分子量より求めた各ブロックの分子量を Fig. 1 に示す。

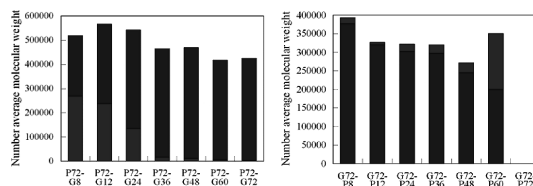


Fig.1 Number average molecular weight estimated by SEC and the fractions of P3HBV(■) and P3HB(■) blocks estimated by ¹³C NMR.

この結果より、第一の炭素源から生合成されたブロックは第二の炭素源での培養中に分子量が減少し、第二の炭素源から生合成されたブロックは時間とともに分子量が増加した。これは、第一の炭素源は第二の炭素源での培養中に菌体のエネルギーとして代謝されるためと考えられる。

4.2 第一ブロックの代謝による分解速度

Fig. 2 に第一の炭素源から生合成されたブロックの分子量を示した。

Fig. 2 より、第一の炭素源から生合成されたブロックは第二の炭素源での培養中に菌体により消費され、また P3HB ブロッカー時間当たり 2.86×10^4 g/

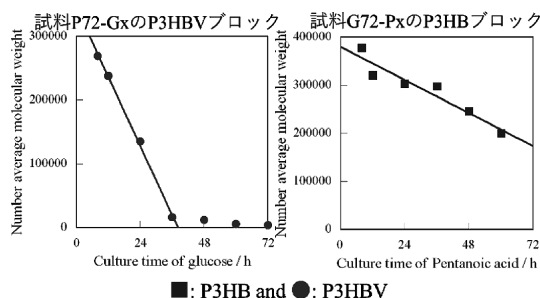


Fig.2 Number average molecular weight of P3HBV block in P72-Gx and G72-Px.

mol 減少し, P3HBV ブロックは一時間当たり $6.37 \times 10^2 \text{g/mol}$ 減少していた. このことから, P3HBV ブロックと比較して分子量が減少しにくいといえる.

4.3 第一ブロックの代謝による分解速度

Fig. 3 に第二の炭素源から生合成されたブロックの分子量変化を示した.

第二の炭素源から生合成したブロックは, 時間とともに分子量が増加したが, P3HB ブロックの場合, 24 時間が経過した時点で分子量が一定になった. 一方で P3HBV ブロックは 72 時間経過まで分子量が増加し続けた. このとき, P3HB ブロックは初期に一時間当たり $2.86 \times 10^4 \text{g/mol}$, P3HBV ブロックは $6.37 \times 10^2 \text{g/mol}$ 増加していた. このことから, P3HB ブロックは P3HBV ブロックと比較してより代謝による分子量減少の影響を受けにくいといえる.

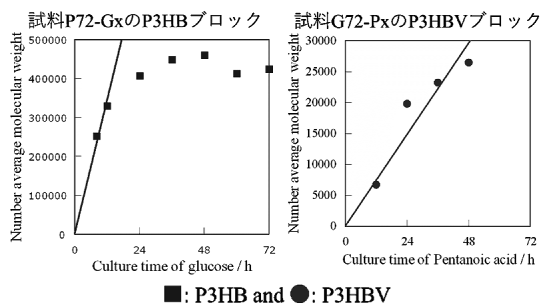


Fig.3 Number average molecular weight of P3HBV block in P72-Gx.

4.4 グルコースのみを炭素源とした生合成

3.2 および 3.3 での生合成速度および分子量減少速度との一致を確認するため, グルコース単体での培養を行った. Fig. 4 にグルコース単体での培養時の培養時間における分子量の変化を示した. 3.3 および 3.4 より, P3HB ブロックは消費速度よりも生合成速度がより速いため培養時間と共に分子量が増加すると考えられるが, 結果として時間と共に分子量は減少した.

このため, Fig. 2 の P3HB ブロックの分子量低下速度を培養開始前を基準に相対化し, Fig. 3 の P3

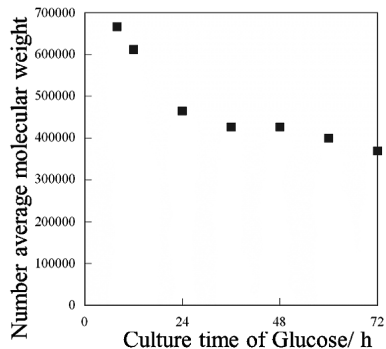


Fig.4 Number average molecular weight of P3HB.

HB ブロックの増加グラフから差し引いた.

この結果を Fig. 5 に示した. Fig. 5 より, 初期段階では P3HB の分子量は増加しているが, その後は Fig. 4 と同様に時間と共に分子量が減少している.

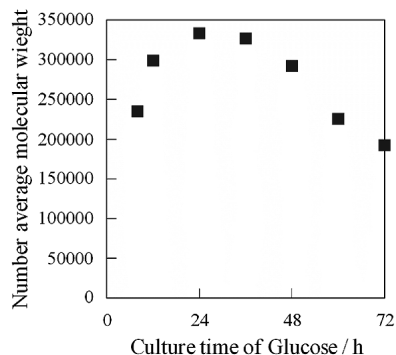


Fig.5 Molecular weight of P3HB after subtracting relative decrease.

5. 結論

このことから, グルコース単体で培養した場合と各ブロックの増減を考えた場合には全体的な増減の傾向は一致しているといえる. しかし, 分子量を見ると, ブロック共重合体中の P3HB ブロックの分子量はグルコース単体で培養した時と比較して全体を通して半分程度となっている. このことから, ブロック共重合体の生合成時において, 第一ブロックが第二ブロックの蓄積に影響を及ぼしている可能性があるため, 今後の課題としたい.