

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

研究区分 : 環境問題対応型研究（一般課題）

研究実施期間 : 2022（令和4）年度～2024（令和6）年度

課題番号 : 1-2205

体系的番号 : JPMEERF20221005

研究課題名 : 廃棄プラスチックのバイオリサイクル技術の開発

Project Title : Development of Bio-recycling Technology for Waste Plastics

研究代表者 : 杉森 大助

研究代表機関 : 福島大学

研究分担機関 : 岩手大学

キーワード : 廃棄プラスチック、バイオリサイクル、分解菌、酵素、生分解性プラスチック

注：研究機関等は研究実施期間中のものです。また、各機関の名称は本報告書作成時点のものです。

令和7（2025）年11月



目次

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書	1
研究課題情報	3
<基本情報>	3
<研究体制>	3
<研究経費の実績>	4
<研究の全体概要図>	4
1. 研究成果	5
1. 1. 研究背景	5
1. 2. 研究目的	5
1. 3. 研究目標	5
1. 4. 研究内容・研究結果	5
1. 4. 1. 研究内容	6
1. 4. 2. 研究結果及び考察	6
1. 5. 研究成果及び自己評価	8
1. 5. 1. 研究成果の学術的意義と環境政策等への貢献	8
1. 5. 2. 研究成果に基づく研究目標の達成状況及び自己評価	10
1. 6. 研究成果発表状況の概要	12
1. 6. 1. 研究成果発表の件数	12
1. 6. 2. 主要な研究成果発表	12
1. 6. 3. 主要な研究成果普及活動	12
1. 7. 國際共同研究等の状況	13
1. 8. 研究者略歴	13
2. 研究成果発表の一覧	14
(1) 産業財産権	14
(2) 論文	14
(3) 著書	14
(4) 口頭発表・ポスター発表	14
(5) 「國民との科学・技術対話」の実施	14
(6) マスメディア等への公表・報道等	16
(7) 研究成果による受賞	16
(8) その他の成果発表	16
権利表示・義務記載	16

Abstract

研究課題情報

<基本情報>

研究区分 :	環境問題対応型研究（一般課題）
研究実施期間 :	2022（令和4）年度～2024（令和6）年度
研究領域 :	統合領域
重点課題 :	【重点課題6】グローバルな課題の解決に貢献する研究・技術開発（海洋プラスチックごみ問題への対応） 【重点課題4】環境問題の解決に資する新たな技術シーズの発掘・活用
行政ニーズ :	—
課題番号 :	1-2205
体系的番号 :	JPMEERF20221005
研究課題名 :	廃棄プラスチックのバイオリサイクル技術の開発
研究代表者 :	杉森 大助
研究代表機関 :	福島大学
研究分担機関 :	岩手大学
研究協力機関 :	—

注： 研究協力機関は公開の了承があった機関名のみ記載されます。

<研究体制>

サブテーマ1 「廃棄プラスチックの酵素分解に関する研究」

<サブテーマリーダー（STL）、研究分担者、及び研究協力者>

役割	機関名	部署名	役職名	氏名	一時参画期間
リーダー	福島大学	共生システム 理工学類	教授	杉森大助	
研究分担者	福島大学	共生システム 理工学類	ポスドク研究員	千葉剛大	

サブテーマ2 「廃プラ酵素分解反応生成物を原料とした共重合ポリマーの微生物合成系の構築と廃プラ分解・バイオプラ合成ワンポット微生物の創製」

<サブテーマリーダー（STL）、研究分担者、及び研究協力者>

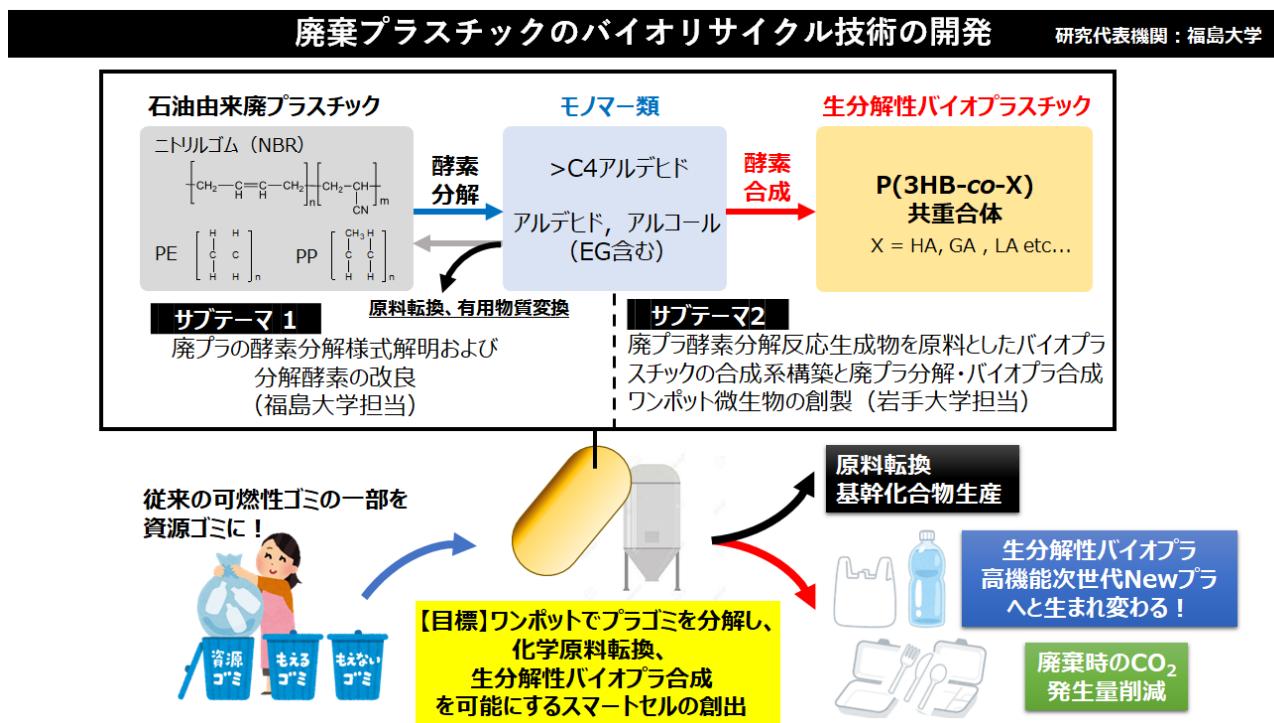
役割	機関名	部署名	役職名	氏名	一時参画期間
リーダー	岩手大学	生命科学科	教授	山田美和	

<研究経費の実績>

<研究課題全体の研究経費(円)>

年度	直接経費	間接経費	経費合計	契約上限額
2022	30,780,600	9,219,400	40,000,000	40,000,000
2023	30,780,000	9,220,000	40,000,000	40,000,000
2024	30,780,000	9,220,000	40,000,000	40,000,000
全期間	92,340,600	27,659,400	120,000,000	120,000,000

<研究の全体概要図>



1. 研究成果

1. 1. 研究背景

1950年から2015年までに世界で83億tのプラスチックが生産され、これまでに49億tの廃棄プラスチック（廃プラ）が生じている。さらに、世界中では毎年約2億トンが埋め立てられている。2018年度国内で発生した廃プラは約900万トンにのぼり、うち142万トン（16%）が単純焼却、埋立処分されている。また、焼却熱を利用したリサイクルも進められているが、CO₂発生の観点から、今後は廃プラの原料転換や化学的なカスケード利用の促進が喫緊の課題となっている。このような背景から、我が国では既に2030年の達成目標として、1年間で廃棄される廃プラ900万トンのうち300万トンを資源循環する目標を掲げ、新技術開発を推進する取り組みを環境省と経済産業省を中心に進められている。同様の動きは世界各国で進められており、フランスでは既にポリエチレンテレフタラート（PET）分解酵素を利用し、PETのバイオリサイクルの実証プラントの稼働を開始している。今後、他の廃プラについても、バイオリサイクル法の開発が激化することが予想される。

以上のような背景から、研究代表者は生物分解の報告例が乏しいニトリルゴム（NBR）、ポリプロピレン（PP）、ポリエチレン（PE）分解菌を探査し、各プラの分解菌を複数種分離することに成功し、分解酵素の研究を進めてきた。また、研究分担者は産業廃棄物を原料とした微生物による生分解性バイオプラスチックの変換技術の開発を進め、研究代表者と原料分解酵素について共同研究を行ってきた。

1. 2. 研究目的

本研究では、微生物酵素による廃プラのバイオリサイクル法の開発を目指し、微生物および酵素による高効率な廃プラ分解とともに、分解産物を原料とした有用物質生産法の確立を目的とした。

1. 3. 研究目標

<全体の研究目標>

研究課題名	廃棄プラスチックのバイオリサイクル技術の開発
全体目標	廃棄プラスチックを原料に酵素分解と人工代謝微生物合成系を利用した有用物質生産技術を確立し、廃棄プラスチックのバイオリサイクルシステムを開発する。

<サブテーマ1の研究目標>

サブテーマ1名	廃棄プラスチックの酵素分解に関する研究
サブテーマ1実施機関	福島大学
サブテーマ1目標	<p>廃棄プラスチック分解酵素の分解能力を飛躍的に増強し、廃棄ポリプロピレン（PP）、ポリエチレン（PE）、ニトリルゴム（NBR）を高速・高効率分解する技術を開発する。現状の分解速度は1～10%/d（約50%/55 d）である。これを、遺伝子改変により酵素改良を行い、分解速度50%/d以上を達成することを目標とする。</p> <p>また、酵素分解メカニズム解明とともに分解酵素の機能解析を行う。これによって、酵素分解反応生成物の化学構造を明らかにし、サブテーマ2の人工代謝微生物合成系の発酵原料として利用可能性を見極める。</p>

<サブテーマ2の研究目標>

サブテーマ2名	廃プラ酵素分解反応生成物を原料とした共重合ポリマーの微生物合成系の構築と廃プラ分解・バイオプラ合成ワンポット微生物の創製
サブテーマ2実施機関	岩手大学
サブテーマ2目標	サブテーマ1で得られる廃プラ酵素分解生成物を利用して、生分解性バイオプラスチックであるPHA共重合体を合成できる組換え微生物を作成する。最終的には、廃プラ分解と生分解性バイオプラスチック合成の両能力を有する新たなスマートセルを創出する。さらに、本研究では合成されたPHA共重合体の材料としての性質(物性)についても明らかとする。また、多様な高分子分解物を原料としてすることで、既存のPHA合成微生物の代謝経路を改良し、新たな物性を有する新規組成のバイオプラスチックの合成に繋げることを目指す。

1. 4. 研究内容・研究結果

1. 4. 1. 研究内容

本研究課題では、廃棄プラスチック(廃プラ)を原料に酵素分解と人工代謝微生物合成系を利用した有用物質生産技術を確立し、廃棄プラスチックのバイオリサイクルシステムを開発するための要素技術開発を実施した。

サブテーマ1では、廃棄プラ分解酵素の分解能力を飛躍的に増強し、廃棄ニトリルゴム(NBR)、ポリプロピレン(PP)、ポリエチレン(PE)を高速・高効率分解する技術を開発することを目指し、酵素改良を行うことで分解速度50%/day以上を達成することを目標とした。また、酵素分解反応によって生じる生成物の化学構造を明らかにし、サブテーマ2の人工代謝微生物合成系の原料としての利用可能性を見極めるためサブテーマ2と連携し、生分解性プラスチックの一種であるポリヒドロキシアルカン酸(PHA)の微生物合成を試みた。

サブテーマ2では、廃棄NBR、PP、PE分解とPHA合成の両能力を有するワンポット微生物(スマートセル)の創出と、合成したPHAの材料としての性質を明らかとすることを目指し、サブテーマ1で単離されたNBR、PPもしくはPE分解候補菌より、培養後のNBRやPEの重量減少率が高いものを選抜した。さらに、選抜したNBRやPE分解菌の遺伝子組換え法を構築し、PHA合成に関与する遺伝子群を両菌へ導入した。また、培養後のNBRもしくはPEの重量減少率が向上するための培養条件やプラスチックの前処理法を検討した。さらに、スケールアップ培養も試み、得られたPHAの組成や分子量、熱的性質を明らかとした。

1. 4. 2. 研究結果及び考察

全体として、8種類のPP分解菌のうち1種類を除く7種類がPE分解能を持つという興味深い結果を得た(成果1:特許出願公開)。さらに、PP分解菌8種類のうち2種類を除く6種類において、生分解性プラスチックPHA合成能を有することを明らかにした。また、NBR分解菌がNBR分解と同時に生分解性プラスチックPHA合成能を有することを見出した(成果2:特許出願)。つまり、廃プラ分解菌野生株の多くが廃プラ分解と有用物質である生分解性プラスチックPHA合成を同時に達成するポテンシャルがあることを確認した。さらに、廃プラ分解酵素を用いた廃プラ分解反応において分解反応生成物中に多数の有用物質が含まれることを明らかにした。以上より、廃プラから微生物あるいは酵素反応を利用した有用物質生産が可能であることを見出した。

サブテーマ1では、分解菌野生株および野生型酵素による廃プラ分解率1~10%/dを50%/d以上まで向上させることを目標とし、廃プラ分解酵素遺伝子の取得、組換え生産法の確立、酵素改良、人工代謝経路構築等を試みた。NBR、PP分解酵素に関してはターゲット酵素遺伝子の取得、組換え生産、酵素改良、有用物質変換の確認、多段階酵素反応によるアルデヒドand/orケトン(以降、アルデヒド/ケトンと略す)生成収率向上まで達成した。PE分解酵素に関しては膜酸化酵素であること、市販レジ袋を24 hで10%分解可能であることを見出し、酵素遺伝子の推定と有用物質としてアルデヒド/ケトンの生成を確認した。

実廃棄NBR(wNBR)分解では、wNBRを7日間培養で6.5~11%分解する放線菌から抽出、初期精製した酵素サンプルが37°C、24時間反応でwNBRを1.5%分解することを世界で初めて見出した。NBR分子主鎖を分解する初発酵素は分解菌細胞膜上に存在するヘム酸化酵素の一種であり、酸素を利用してNBR分子主鎖の炭素-炭素結合を切断し、アクリロニトリル含量が39 wt%から34 wt%に減少、また炭素原子が37%、窒素原子が7.4%減少することを明らかにした。興味深いことにJ1A株はNBR分子主鎖のみならず硫黄架橋結合や可塑剤を分解する酵素も生産していることを発見した。wNBRの酵素分解により、NBR製品に含まれているカーボンブラックと分解生成物であるエステルが沈殿物として回収できたほか、気相中から4-シアノ-1-シクロヘキセン、水相からアル

デヒド/ケトン等が得られることを見出した。wNBR分解菌J1A株の全ゲノムを解読し、全遺伝子を解読とともにNBR分解・代謝経路の全容を把握することに成功した。それによって、wNBR分解から中央代謝経路に至る反応経路に関わる酵素3種類のほか、wNBRに含まれている硫黄架橋結合、可塑剤を分解する酵素の遺伝子配列を特定し、これらすべての酵素の異種組換え生産に世界で初めて成功した。組換え生産酵素によるwNBR分解試験の結果、wNBR初発分解酵素Nro1の大腸菌による組換え生産量はwNBR分解菌野生株の約100倍に向上了ものの、野生株から調製した膜画分酵素の分解率 $0.57 \pm 0.20\%/\text{d}$ に対して約5割の分解率 $0.26 \pm 0.15\%/\text{d}$ にとどまった。この原因として、分光学的解析結果からNro1のフォールディング（立体構造形成）とヘム再構成に問題があることが判明した。また、Nro1によるwNBR酸化分解の生成物であるアルデヒドによってNro1の触媒活性が強く阻害され、分解反応が停止するという課題が残った。この課題に対して、Nro1のアミノ酸24ヶ所を置換した祖先型Nroを人工設計したところ、アルデヒド耐性が向上し、約2倍の酵素活性が得られた。さらに、wNBRの高効率分解を目指し、硫黄架橋結合分解酵素、可塑剤分解酵素、2種類のアルデヒドデヒドロゲナーゼを共存させたwNBR分解反応を行った結果、rNro1単独反応（30分反応で 0.34 mM アルデヒド/ケトン生成）の12倍となる 4.1 mM アルデヒド/ケトン生成に成功した。

PP分解に関しては、PP分解菌の培養上澄み液を10倍濃縮した酵素サンプルが使用済PPを 37°C 、24時間反応で9.5%分解するという極めて高い分解性能を示す結果を得た。しかしながら、再現性がなかったことから、再現性よく高いPP分解率を示す酵素を開発するために、PP分解酵素の組換え生産法の開発、酵素改良、複合酵素による高効率分解法の開発を試みた。まず、PP分解菌のゲノム解析により、全遺伝子を解読するとともにPP分解・代謝経路の全容を把握した。PP分解に関わる酵素4種類A, C, K, Sを推定し、そのうち2種類の酸化酵素S, Kがキ-酵素であると特定した。さらに、酵素Sの組換え生産量は酵素Kの約1/1000であったにもかかわらず、マイクロPP（mPP、平均粒径 $5 \mu\text{m}$ 、Mn 3,000）分解率：約30%/24 hは酵素Kの約2倍であったことから、酵素SがPP分解の主役を担っていることを突き止めた。酵素Sは低分子量mPPだけでなく高分子量PPシート（Mw 250,000, Mn 67,000）も分解し、水溶性アルデヒド/ケトンおよび沈殿物として一級あるいは二級アルコールを生成できることを確認した。单一酵素によるPPの分解、特に高分子量PPの分解し、有用性が期待できるアルデヒド/ケトン、アルコールの生成を実験的に証明したのは我々が知る限り世界初の成果である。しかしながら、その分解力はPP分解菌野生株から抽出した酵素による分解率 $0.24 \pm 0.67\%/\text{d}$ の約1/4の分解率 $0.06\%/\text{d}$ しかなく、極めて低いものであった。低い分解力にとどまった原因としては、酵素Sの組換え生産量とヘム再構成（活性型酵素の生産性）に問題があることが判明し、現在その改善について既に着手している。有用物質への変換については、PP分解によるアルデヒド/ケトン生成率は酵素S単独反応では $2.8 \text{ mM}/7 \text{ h}$ 、酵素4種混合した反応では約4倍となる $11.8 \text{ mM}/9 \text{ h}$ まで生成量が向上した。また、酵素Sによる高分子量PPシートの分解では水溶液中に発生したアルデヒド/ケトンのほかに、白色沈殿物として1級または2級水酸基を持つアルコール化合物が生成することを見出した。以上をまとめると、高分子量PPを单一酵素で分解し、有用性が期待されるアルデヒド/ケトン、アルコール化合物を生成することを世界で初めて発見した点は極めて画期的成果といえ、将来廃棄PPから有用物質変換というアップサイクル技術の開発に繋がる可能性を切り開いたといえる。

PE分解に関しては、PP分解菌がPE分解能を持つことを見出した。その分解力は7日間培養でLDPEを0.1～0.6%、HDPEを0.2～1.1%であった。さらに、高分解能を持つ菌を取得するため、さまざまなサンプルを対象にスクリーニングを実施した結果、24時間培養で高密度PE（HDPE）を5～10%分解することができる世界最速の分解速度を持つ菌S1株をブドウ虫腸内から分離することに成功した。本菌のPE分解酵素について研究を進めた結果、PE分解酵素は細胞膜上に局在することを突き止め、膜から抽出・濃縮した酵素により市販レジ袋HDPEフィルムを24 hで10%分解するという極めて高い（世界最高の）分解速度を持つことがわかった。本菌の全ゲノム解析により、PE分解酵素はPP分解酵素の一種と推定した酵素Kに類似したアミノ酸配列を持つ酸化酵素の一種であると推定できた。現在、大腸菌組換え発現検討を進め、PP分解活性の有無等について研究を進めている。

以上のように、組換え生産酵素により廃プラ分解が可能なこと、分解生成物に有用性が期待されるアルデヒド/ケトン、アルコール化合物等が含まれることを見出した。しかしながら、当初目標としていた分解率50%/dを達成することはできなかった点は目標値の設定、成果の予想に問題があったと認識している。その目標達成に向けた課題解決の糸口になる成果はいくつか得られことから、今後の研究に活かしたいと考えている。

サブテーマ2では、サブテーマ1で見出された廃プラ分解菌14株（NBR分解菌；2株、PE分解菌；3株、PP分解菌；9株）より、再現性高く培養後のNBRやPE重量減少が確認できるNBR分解菌1株（J1A）とPE分解菌2株（5-3-1A, 2-4-2A）を選抜した。

NBR分解菌であるJ1Aは、NBR片を添加した貧栄養培地で3週間程度培養すると、5wt%程度のNBR重量減少と菌の生育が確認された。自然界から単離した微生物の一部にはPHA合成能力を有しているものが存在しているた

め、回収したNBR分解菌がPHAを細胞内に蓄積しているかどうか分析した結果、PHAを蓄積していないことが確認された。そこで、J1Aの遺伝子組換え法を新たに構築し（成果番号3, 21）、本手法を用いて *Cupriavidus necator* 由来PHA合成遺伝子群（*phaABC*）のJ1Aへの導入を検討したが、遺伝子組換え株を作成することができなかった。そこで、J1Aと近縁な *Gordonia sihwensis* もJ1Aと同等レベルのNBR能力を示すことを確認し、*G. sihwensis*を宿主として再度 *phaABC* 遺伝子の導入を試みた。その結果、目的のPHA合成能力を有するNBR分解菌の創出に成功した。得られた組換え *G. sihwensis* は、21日間培養後のNBR重量減少率は、約4.5wt%、乾燥菌体当たりのPHA蓄積率は、7日後に0.371wt%、14日後に0.423wt%、21日後に0.529wt%と培養時間とともに向上していた（成果番号27）。PHAは培養時間が長くなると、細胞内酵素で分解・資化されてしまう場合があるが、本菌ではそのような現象が確認されなかったことから、*G. sihwensis* はPHA合成のホストとして望ましい性質を有していることが示唆された。さらに、スケールアップ培養後に得られた菌体からPHAを抽出し、NMR分析に供した結果、合成されたPHAは、最も典型的なPHAであるポリ(3-ヒドロキシプロピタン酸) [P(3HB)] であることが明らかとなった。その分子量は、市販のP(3HB)と同等であることも確認された。これらの成果は、NBRを原料としたPHAの微生物合成に成功した初めての報告であり、新規性・革新性は高い。

続いて、PE分解菌によるPHA合成について調査した。元々はPP分解候補菌として発見されたPE分解菌である5-3-1Aと2-4-2Aは、J1Aとは異なり、PEフィルム片を添加した栄養制限培地での生育が著しく低いことから、まず富栄養培地で培養して菌を生育させ、増殖した菌体を全て回収して富栄養培地を洗い流した後に、PEフィルム片を添加した貧栄養培地で長時間培養させるという2段培養法を開発した（成果番号14）。さらに、PEフィルム片を添加した貧栄養培地への酵母エキス添加量を調節することで、培養後のPE重量減少率が7日後に5-3-1Aでは0.85wt%、2-4-2Aでは0.25wt%まで向上することを見出した（検討前の重量減少率は、いずれの菌でも0.2wt%程度）。また、興味深いことに、5-3-1Aは、乾燥菌体当たりの蓄積率がわずか0.02wt%ではあるが細胞内にPHAを蓄積していることがわかった（成果番号14）。本結果より、5-3-1AはPE分解とPHA合成を両立する能力を有する天然のスマートセル微生物であることが示された。また、培地に添加するPEをフィルム片ではなく、粉末化したPEとした結果、7日培養後のPE重量減少率が、5-3-1Aで7.4wt%、2-4-2Aで5.8wt%と著しく向上することを発見した（成果番号26）。一方で、培地に添加するPE粉末をUV照射することで劣化させ、培養後のPE重量減少率をさらに向上させることを狙ったが、期待とは異なり、PE粉末へのUV照射の効果はほとんど見られなかった（成果26）。最後に、*G. sihwensis* と同様に5-3-1Aと2-4-2Aの遺伝子組換え法を構築し、*phaCAB* 遺伝子を導入した組換え5-3-1Aと2-4-2Aを用いてPE粉末添加培地でスケールアップ培養を行った結果、7日後のPE重量減少率が、5-3-1Aでは3.2wt%、2-4-2Aでは4.7wt%、PHA蓄積率が5-3-1Aでは0.07wt%、2-4-2Aでは12.7wt%と、2-4-2Aでは高いPE重量減少率を維持しながら、著しくPHA蓄積率を向上させることに成功した。抽出されたPHAは、P(3HB)ではなく応用範囲の広いPHA共重合体であること、分子量が市販品と同等であることが確認され、本研究でPEから合成されたPHAは、材料としてP(3HB)よりも汎用性の高い材料であることが期待された。

以上より、サブテーマ2では、目標とした廃プラ分解と生分解性バイオプラスチック合成の両能力を両立する新たなスマートセルの創出と、合成したPHAの材料としての性質の解析を達成した。本研究で得られた成果は、廃プラを原料とした新たな環境調和型のアップサイクル技術開発へ貢献する。また、本研究で新たに構築したNBRやPE分解菌の遺伝子組換え法は、今後これらの廃プラ分解菌をプラットフォームとして代謝経路を改良し、新たなバイオプラスチック合成できる微生物の開発へと繋げることができる重要な基盤技術である。

1. 5. 研究成果及び自己評価

1. 5. 1. 研究成果の学術的意義と環境政策等への貢献

＜得られた研究成果の学術的意義＞

サブテーマ1の廃プラ分解に関しては、NBR、PP、PE分解菌の全ゲノムを解読し、廃プラ分解・代謝経路および分解・代謝酵素の全容を把握するとともに、最も重要な初発分解酵素遺伝子を特定し、主要酵素を異種組換え生産し、分解活性があることに世界で初めて確認した。また、プラ分解初発反応を担う酵素は、いずれも微生物細胞膜上に局在する酸化酵素であるという共通性と、分解生成物としてアルデヒド、ケトン、アルコール、エステル等が生成するという興味深い共通性を見出した。つい最近のNature誌（2025年3月27日）において、従来分解が難しかったリグノセルロースを酸化的に分解する新規な金属酵素が発見され、注目を集めており、酸化酵素という共通性がある点で大変興味深い。これら成果は、将来、廃プラから有用物質を生産するバイオアップサイクル技術開発につながることが期待できる点で社会的にも重要なものといえる。

NBR分解に関しては、従来のポリイソプレンゴム分解菌が市販天然ゴム製品を分解できないのに対し、化学的には遙かに分解が困難なC-C結合を持つNBRを分解でき、しかもNBR分子主鎖のみならず、硫黄架橋結合、可塑剤を分解する酵素を生産する能力を有する菌および酵素を世界で初めて発見した点は画期的成果といえる。さらに、NBR分解菌が持つ遺伝子をすべて解読し、廃棄NBR製品の分解および代謝に関わる酵素の特定に成功した。また、廃棄NBR分解に関与する主要な酵素を大腸菌により組換え生産させ、世界ではじめて分解活

性を確認した。wNBR初発分解酵素は天然ゴム分解酵素と同じ祖先から分子進化した酵素であることがわかり、今後両者の違い、NBRと天然ゴムを識別するメカニズムの解明などに興味が持たれるところである。wNBR初発分解酵素は膜結合型のヘム酸化酵素の一種であり、生成物であるアルデヒドによって触媒活性が強く阻害され、分解反応が停止するという特徴を明らかにした。この課題に対して、Nro1のアミノ酸24ヶ所を置換した祖先型Nroを人工設計したところ、アルデヒド耐性が向上し、約2倍の酵素活性が得られた。さらに、wNBRの高効率分解を目指し、硫黄架橋結合分解酵素、可塑剤分解酵素、2種類のアルデヒドデヒドロゲナーゼを共存させたwNBR分解反応を行った結果、rNro1単独反応（30分反応で0.34 mMアルデヒド/ケトン生成）の12倍となる4.1 mMアルデヒド/ケトン生成に成功した。この結果は、阻害物質となる有害なアルデヒドの影響を回避する方法ならびにサブテーマ2におけるPHA合成ルートに連結させる方法の一つとなり得る結果と言え、試験管内人工代謝系構築という意味でも画期的な結果といえる。以上をまとめると、NBR分解酵素はNBR中の化学的非常に切断が困難な炭素-炭素結合を酸化分解し、その結果、NBR製品に約40%含まれているカーボンブラックと分解生成物であるエステルが沈殿物として回収できたほか、気相中から4-シアノ-1-シクロヘキセン、水相からアルデヒド等が検出された。これら物質は、いずれも工業原料として有用であることから、将来バイオ法によるアップサイクル技術の開発に繋がる可能性を示した点で重要な発見といえる。

PP分解に関しては、PP分解菌が持つ遺伝子をすべて解読し、PP分解と代謝に関わる酵素および代謝経路の推定に成功した。また、PP分解に関する4種類の酸化酵素を特定し、すべて大腸菌により組換え生産することに成功し、これら酵素を組み合わせた場合に最もPP分解率が高くなること、4種類のうち酵素Sがキ-酵素であり、酵素S単独によるPP分解反応においてマイクロPPおよび高分子量PPを分解できること、さらに分解生成物として水溶性のアルデヒドと不溶性のアルコール化合物が生成することを世界で初めて明らかにした。これら生成物は、工業原料として有用性が期待される。また、これら生成物をカルボン酸に酸化すると予想される代謝酵素遺伝子を推定し、大腸菌による組換え生産に成功した。今後、これら酵素およびその遺伝子を人為的に連結させ、PP分解から有用物質生産をワンポットで行うことができる酵素アップサイクル法の開発の可能性を見出す成果が得られた点は革新的かつ先導性があると考えられる。

PE分解に関しては、高密度PE（HDPE）を24時間で5~10%分解することができる世界最速の分解速度を持つ菌をブドウ虫腸内から分離することに成功した。これまでにPEの生物分解については、低密度PE（LDPE）分解に関する報告例が多く、HDPE分解に関する報告例は少ない。これまでに報告されたLDPE分解速度の最高値は4日間培養で約18%分解、HDPEについては6週間培養で約9%分解と、HDPEの生分解性が低いことが知られていた。今回、我々が取得したPE分解菌は、LDPEはほとんど分解できないものの、HDPEを24時間で5~10%分解することができる世界最速の分解率を持つ菌を取得した点が特筆できる成果である。さらに、本菌から抽出、濃縮した酵素液を用いて24時間でHDPEを10%分解するとともに分解生成物としてアルデヒド生成を確認した。これまでに、PEを酵素反応により分解した例はなく、酵素反応により24時間でHDPEを10%分解できた成果は画期的成果と言える。PE分解菌のゲノム解析により、分解菌が持つ遺伝子をすべて解読し、PE分解と代謝に関わる酵素および代謝経路を推定した。その結果、PE分解を担う酸化酵素は1種類しか存在せず、PP分解において補助的役割を担う酸化酵素Kと類似したアミノ酸配列を持つ酵素であった。このことから、両酵素Kの基質嗜好性（基質特異性）の解明を進めることにより、PPとPEを同時に分解するスーパー酵素の創製など、今後の研究の進展が期待されるところである。

サブテーマ2について、環境負荷を低減する新技術として廃プラを生物的に分解するというアプローチは、これまで世界的に研究されてきたが、近年は従来よりも多くの研究成果が発信されており特に注目度が上がっている。この背景には、フランスでPET分解酵素を利用したケミカルリサイクル施設の社会実装が実現したという事実があり、廃プラ分解微生物や分解酵素の特定に向けた研究の活性化に対して大きな後押しとなっている。このような背景から、近年世界的に多くの研究者らが、本研究でもターゲットのひとつとしているPE、PPなどの大量生産・廃棄されているプラスチックを分解できる微生物の探索と分解酵素の特定を目指している。サブテーマ1で発見されたPE分解微生物は、いずれもこれまでに報告がない新規のPE分解菌である。研究で使用している菌自体のオリジナリティが高いことから、その分解能力を向上させる培養条件や前処理法を最適化したサブテーマ2の成果は、学術的な価値が高い。

さらに、サブテーマ2の学術的な意義として最も重要なポイントは、「廃プラアップサイクル」の概念である。上述したように、廃プラ分解菌探索や分解酵素の特定の先にある現在主流の応用イメージは、フランスのPETリサイクルに倣ったケミカルリサイクルの形である。つまり、酵素による分解物を、再び分解前と同じプラスチックを合成させるというリサイクルの流れに留まっている。それに対して、本研究では、従来の廃プラスチックを生分解性プラスチックのような付加価値の高い物質へと生まれ変わらせる（アップサイクルさせる）という新概念に繋がる。本研究でPEやNBRの分解とPHA合成を両立させるワンポット微生物が潜在的に自然環境球に存在することを示したことや、そのような微生物を遺伝子組換えによって創出したことは、現状プラスチックの重量減少率とPHA生産量が微量ではあるものの、この新概念の実現を実証したという点において高い価値がある。実際、ナイロン分解物からPHA合成できる微生物を新たに開発した研究は昨年Nature Microbiologyで報告され、大きな話題となつた [J. d. Witt st al.,, *Nature Microbiology*, 10, 667-680

(2025)]。さらに、PEからのPHA合成については過去に1例のみ存在しているが[Z. Montazeret al., *Canadian Journal of Microbiology*, 65, 224-234 (2019)]、本報告では、PHA合成菌がたまたまPE分解もわずかに行えたという報告のみであり、我々のようにPE分解とPHA合成力の向上する条件検討には踏み込めていない。また、本報告において分解しているPEは低密度のPEであり、我々のように難易度の高い高密度PEを原料とはしていない。さらに、NBRからのPHA合成については我々が知る限り報告がない。よって、本研究で得られた成果は、世界的にも先端を走っており、社会的に求められるインパクトを有する新規性が高いものである。なお、本研究の過程では各廃プラ菌の遺伝子組換えが容易ではなく、それぞれの菌に適したプラスミド構築や操作の最適化の技があり、メソッド構築の観点からもオリジナリティと学術的な波及効果がある点も強調したい。

また、応用の現場で直面する問題のひとつとして、実際に廃棄されているプラスチックには酸化防止剤などの添加剤が含まれている点がよく挙げられる。実験室での研究レベルでは、分解するターゲットとしてのプラスチックは純度が高く添加剤を含まないため、市販されているプラスチックを分解しようと、これまでプラスチック分解できると確認されていた微生物や酵素を使用しても分解能力が低下してしまう場合が往々にしてある。それに対して、本研究では、一貫して市販のPEやNBRを用いた実験を続けてきたため、実際の応用の場で同レベルの力を出せる可能性が高い。特にNBRについては、我々のように市販のNBRを用いて分解とPHA合成を両立できる成果を挙げている研究は世界的に例がなく、初の成果である。

＜環境政策等へ既に貢献した研究成果＞

特に記載する事項はない。

＜環境政策等へ貢献することが見込まれる研究成果＞

本研究により、以下の成果が得られたことから、将来「革新的プラスチック資源循環プロセス技術の開発」および「マイクロプラ対策技術の開発」が期待でき、「サーキュラーエコノミー、新産業創出」につながる可能性があるのではないかと考えている。

【NBR分解】

廃棄NBRを酵素分解し、リサイクル可能なカーボンブラック（タイヤやプリンタートナーなど）、工業的に有用な4-シアノシクロ-1-ヘキセン（半導体等の原料）、オリゴNBRアルデヒド（NBR原料）、アルデヒド、ケトン、エステル（化粧品やプラスチック、繊維等の合成原料）に変換することに成功したことから、

⇒廃棄NBRのアップサイクル技術開発への応用→資源循環、CO₂排出削減への貢献が期待できる。

【PP分解】

使用済PP、マイクロPPを酵素分解し、有用性が期待できるアルデヒド、アルコール類の生成を確認できしたことから、

⇒廃棄PPのアップサイクル技術開発への応用→資源循環、CO₂排出削減への貢献が期待できる。

⇒マイクロプラスチック対策技術への応用が期待できる。

【PE分解】

HDPE（市販レジ袋）を24時間反応で10%分解する酵素を生産する菌、7日間培養でLDPEを0.1～0.6%、分解する菌を見出した。また、マイクロHDPEの酵素分解によってアルデヒド生成を確認できることから、

⇒PEのアップサイクル技術開発への応用→資源循環、CO₂排出削減への貢献が期待できる。

⇒マイクロプラスチック対策技術への応用が期待できる。

【PHA合成】

廃プラ分解と生分解性バイオプラスチック合成の両能力を両立する新たなワンポット微生物の創出に成功し、合成されたPHAが市販品と同等の分子量・熱的性質を有していたことから、

⇒廃棄プラスチック量の削減だけでなく、廃棄プラスチックを新たなものづくりの原料として有効活用させようという社会的な新システム（アップサイクル）の構築に繋がる。

1. 5. 2. 研究成果に基づく研究目標の達成状況及び自己評価

<全体達成状況の自己評価> · · · · ·

4. 目標にはやや及ばないが一定の成果をあげた

「廃棄プラスチックのバイオリサイクル技術の開発」（福島大学、杉森大助）

全体目標	全体達成状況
廃棄プラスチックを原料に酵素分解と人工代謝微生物合成系を利用した有用物質生産技術を確立し、廃棄プラスチックのバイオリサイクルシステムを開発する。	廃棄プラスチック分解菌の多くが廃プラ分解と同時に生分解性プラ合成能を有することを明らかにした。また、組換え生産酵素により廃プラ分解が可能なこと、分解生成物に有用物質が含まれることを確認した。しかしながら、その分解率と合成率の向上を目的とし、組換え菌による人工代謝微生物合成系については、NBRについては分解と有用物質生産の両立を達成できたものの分解率と合成率向上には至らなかった。

<サブテーマ1達成状況の自己評価> · · · · ·

5. 目標に大きく及ばない成果しかあげられなかつた

「廃棄プラスチックの酵素分解に関する研究」（福島大学、杉森大助）

サブテーマ1目標	サブテーマ1達成状況
廃棄プラスチック分解酵素の分解能力を飛躍的に増強し、廃棄ポリプロピレン(PP)、ポリエチレン(PE)、ニトリルゴム(NBR)を高速・高効率分解する技術を開発する。現状の分解速度は1~10%/d(約50%/55 d)である。これを、遺伝子改変により酵素改良を行い、分解速度50%/d以上を達成することを目標とする。 また、酵素分解メカニズム解明とともに分解酵素の機能解析を行う。これによって、酵素分解反応生成物の化学構造を明らかにし、サブテーマ2の人工代謝微生物合成系の発酵原料として利用可能性を見極める。	各プラ分解速度向上を目指し、各プラ分解酵素遺伝子を取得した。分解に関与する主要な酵素はすべて組換え生産させることを達成できたものの、組換え生産酵素を用いたプラ分解率は0.1~0.2%/d程度にとどまる結果となった。しかしながら、分解率向上が期待できる添加剤や阻害要因の抑制など、次に繋がる下記のような一定の成果は得られた。 一方で、酵素分解メカニズムおよび分解酵素の機能解析を進め、酵素活性を向上させる添加剤、酵素を失活させる要因について明らかにした。また、プラ分解生成物中に有用物質を見出すとともに、プラ分解経路を把握することによって、さらに有用な物質に変換するルートの開拓とサブテーマ2の原料となり得ることを確認した。実際に、それら分解産物が代謝され、分解菌細胞中で生分解性プラ合成に至ることを明らかにした。

<サブテーマ2達成状況の自己評価> · · · · ·

3. 目標どおりの成果をあげた

「廃プラ酵素分解反応生成物を原料とした共重合ポリマーの微生物合成系の構築と廃プラ分解・バイオプラスチック合成ワンポット微生物の創製」（岩手大学、山田美和）

サブテーマ2目標	サブテーマ2達成状況
サブテーマ1で得られる廃プラ酵素分解生成物を利用して、生分解性バイオプラスチックであるPHA共重合体を合成できる組換え微生物を作成する。最終的には、廃プラ分解と生分解性バイオプラスチック合成の両能力を有する新たなスマートセルを創出する。さらに、本研究では合成されたPHA共重合体の材料としての性質（物性）についても明らかとする。また、多様な高分子分解物を原料とすることで、既存のPHA合成微生物の代謝経路を改良し、新たな物性を有する新規組成のバイオプラスチック	1) 廃プラ分解微生物にPHA合成に関する遺伝子を導入した組換え微生物の作成に成功し、培養後に廃棄NBRとPEの重量減少とPHA合成を両立するスマートセル創出に成功した。この際、PEを使用した際には汎用性の高いPHA共重合体の合成が確認された。 2) NBRとPEから合成されたPHAの分子量や熱的性質は、市販のPHAと同等であり、本手法で合成されたPHAは材料として有用であることを確認した。

の合成に繋げることを目指す。	3) 今後、新たな物性を有する新規組成バイオプラスチック合成経路を構築するための基盤技術である廃プラスチック分解微生物の遺伝子組換え技術の構築を達成することができた。
----------------	-------------------------------------------------------------------------------------

1. 6. 研究成果発表状況の概要

1. 6. 1. 研究成果発表の件数

成果発表の種別	件数
産業財産権	3
査読付き論文	0
査読無し論文	0
著書	0
「国民との科学・技術対話」の実施	7
口頭発表・ポスター発表	27
マスコミ等への公表・報道等	0
成果による受賞	1
その他の成果発表	2

1. 6. 2. 主要な研究成果発表

成果番号	主要な研究成果発表 (「研究成果発表の一覧」の査読付き論文又は著書から10件まで抜粋)
一	なし

注：この欄の成果番号は「研究成果発表の一覧」と共通です。

1. 6. 3. 主要な研究成果普及活動

本研究課題での成果普及活動は、合計で4件行った。そのうち、特に重要なものとしては、日本農芸化学会企画による出前授業として郡山ザベリオ学園中学校（郡山市、2023. 7. 13）において「すごすぎるぜ遺伝子—最新の酵素研究：遺伝子をいじると驚異の能力を発揮？！」と題し、プラスチック分解酵素について紹介した。また、市民講座・橘ときめき大学の講師として、バイオテクノロジー「微生物・酵素の話」と題し、郡山市橘地域公民館にてプラスチック分解酵素研究について紹介した（2024. 7. 20）。

1. 7. 国際共同研究等の状況

<国際共同研究の概要>

国際共同研究を実施していない。

1. 8. 研究者略歴

<研究者（研究代表者及びサブテーマリーダー）略歴>

研究者氏名	略歴（学歴、学位、経歴、現職、研究テーマ等）
杉森大助	研究代表者及びサブテーマ1リーダー 東京工業大学大学院生命理工学研究科バイオテクノロジー専攻博士後期課程修了 博士（工学） 福井工業高等専門学校物質工学科助教授を経て、 現在、福島大学理工学群共生システム理工学類 教授 専門は酵素工学、研究テーマは産業用酵素の開発
山田美和	サブテーマ2リーダー 北海道大学工学研究科生物機能高分子専攻博士課程修了 博士（工学） 独立行政法人理化学研究所研究員を経て、 現在、岩手大学農学部生命科学科 教授 専門は応用微生物学、研究テーマは未利用資源を利用したバイオプラスチックの生合成や微生物によるバイオプラスチック分解機構の解明

2. 研究成果発表の一覧

(1) 産業財産権

成果番号	出願年月日	発明者	出願者	名称	出願以降の番号
1	2023年8月24日	濱松一弘、五十嵐美恵、 <u>杉森大助</u> 、千葉剛大	株式会社Enzyme Labo、福島大学	プラスチック分解微生物	特願2023-136373 特開2025-030789
2	2024年5月9日	杉森大助、千葉剛大、中荒井拓真、加藤隆康、岡村俊宏	株式会社NOK、福島大学	ニトリルゴム分解菌	特願2024-76739
3	2024年10月18日	山田美和、石田拓真	岩手大学	プラスミドベクター、シャトルベクターおよびタンパク質の製造方法	特願2024-182543

(2) 論文

<論文>

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ	査読の有無
		特に記載する事項はない。		

(3) 著書

<著書>

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
—	—	特に記載する事項はない。	
—	—	特に記載する事項はない。	

(4) 口頭発表・ポスター発表

<口頭発表・ポスター発表>

<口頭発表・ポスター発表>

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ	査読の有無
4	2023	ニトリルゴムのバイオリサイクル方の開発	1	無
5	2023	Degradation of nitrile rubber by an enzyme from <i>Gordonia</i> sp.	1	無
6	2023	Microbial degradation of nitrile rubber.	1	無
7	2023	Genome sequencing and RNA-seq analyses of an nitrile rubber-degrading actinomycete, <i>Gordonia</i> sp. J1A	1	無
8	2023	ニトリルゴム分解菌の探索およびゴム分解酵素の機能解析	1	無
9	2023	ニトリルゴムの酵素分解メカニズムの推定	1	無

10	2023	<i>Gordonia</i> sp. J1A株由来ニトリルゴム分解酵素の精製と分解産物同定の試み	1	無
11	2023	ニトリルゴム分解菌 <i>Gordonia</i> sp. J1A株のゴム分解酵素遺伝子の推定	1	無
12	2023	<i>Gordonia</i> sp. J1A株が生産するニトリルゴム分解酵素の推定と分解機序	1	無
13	2023	廃棄アクリロニトリル-ブタジエンゴム (NBR) 分解菌の形質転換法の構築	1	無
14	2024	ポリエチレン分解菌の探索と選抜菌によるバイオプラスチック合成の検討	2	無
15	2024	ポリエチレン、ポリプロピレン分解微生物の取得	1	無
16	2024	合成ゴムと廃プラスチックの微生物・酵素分解	1	無
17	2024	オレフィン系プラスチック分解菌の探索	1	無
18	2024	ニトリルゴム分解酵素の機能解析	1	無
19	2024	<i>Gordonia</i> sp. J1AにおけるNBR分解酵素の機能解析	1	無
20	2024	ハチノスツヅリガ (<i>Galleria mellonella</i>) 幼虫の腸内細菌によるポリエチレン分解特性	1	無
21	2024	廃棄アクリロニトリルブタジエンゴム分解菌の形質転換	2	無
22	2024	ポリエチレン、ポリプロピレン分解菌の探索	1	無
23	2024	放線菌 <i>Gordonia</i> sp. J1A株によるニトリルゴム分解に関する酵素遺伝子の探索	1	無
24	2024	ハチノスツヅリガ由来ポリエチレン分解菌の分離	1	無
25	2024	ポリプロピレン酵素分解メカニズムの推定	1	無
26	2024	微生物によるポリエチレン (PE) 分解能向上に向けた培養条件およびPE前処理法の検討	1,2	無
27	2024	組換え廃棄アクリロニトリル-ブタジエンゴム分解菌による生分解性プラスチックの生合成	1,2	無
28	2024	産業廃棄物の利活用を目指した生分解性プラスチックの微生物合成	2	無
29	2024	微生物スクリーニングが拓げたバイオプラスチックの合成と分解研究	2	無
30	2024	Screening of microorganisms that degrade polyethylene and produce polyhydroxyalkanoate	2	無

(5) 「国民との科学・技術対話」の実施

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
31	2022	盛岡マリオスにて石油学会東北支部講演会での講演	1
32	2022	岩手大学にてシンポジウムの開催	1, 2
33	2023	郡山ザベリオ学園中学校での出前授業	1
34	2023	福島大学にてシンポジウムの開催	1, 2
35	2024	郡山市橋地域公民館にて橋ときめき大学の講師	1
36	2024	東京工業大学にてシンポジウムオーガナイザー	1, 2

37	2024	福島大学にてシンポジウムの開催	1, 2
----	------	-----------------	------

(6) マスメディア等への公表・報道等

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
38	2024	農芸化学女性研究者賞, 公益財団法人日本農芸化学会	2

(7) 研究成果による受賞

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
39	2024	農芸化学女性研究者賞, 公益財団法人日本農芸化学会	2

(8) その他の成果発表

成果番号	発表年度	成果情報	主たるサブテーマ
40	2023	バイオ法によるプラスチックリサイクル技術－その現状と課題、未来－、静電気学会誌（特集解説）47（5）、193-198	1, 2
41	2024	ニトリルゴムのバイオリサイクル法の開発を目指して、月刊トライボロジー、445、52-53	1, 2

権利表示・義務記載

特に記載する事項は無い。

この研究成果報告書の文責は、研究課題に代表者又は分担者として参画した研究者にあります。
 この研究成果報告書の著作権は、引用部分及び独立行政法人環境再生保全機構（ERCA）のロゴマークを除いて、原則的に著作者に属します。
 ERCAは、この文書の複製及び公衆送信について許諾されています。

Abstract**[Project Information]**

Project Title : Development of Bio-recycling Technology for Waste Plastics

Project Number : JPMEERF20221005

Project Period (FY) : 2022-2024

Principal Investigator : Sugimori Daisuke

(PI ORCID) : ORCID0000-0003-1220-4572

Principal Institution : Fukushima University
1 Kanayagawa, Fukushima, 960-1296, JapanTel: +81-24-548-8206
E-mail: sugimori@sss.fukushima-u.ac.jp

Cooperated by : Miwa Yamada, Faculty of Agriculture, Iwate University

Keywords : Waste Plastics, nitrile rubber, polypropylene, polyethylene, enzyme degradation, up-cycling, PHA

[Abstract]

The huge amount of used synthetic polymers from petroleum has been discharging and mostly incinerating or landfilling because of lacking effective recycle method. Thereby, they cause serious global problems such as CO₂ emission and microplastic pollution. Thus, the development of the novel technology for re-cycling waste plastics is required strongly. In this research, to develop a novel upcycling technology for waste plastics, we studied the enzymatic degradation of nitrile rubber (NBR), polypropylene (PP), and polyethylene (PE) and the conversion of the decomposition products into valuable compounds such as biodegradable plastics, PHA. We have revealed the enzyme genes and metabolic pathway involved in the assimilation of NBR, PE, and PP. The first enzyme degrading these plastics were all membrane-bound oxygenase. Aldehydes, ketones, and alcohols were also identified as the degradation products. Since the plastic degradation rate of enzyme sample extracted from the membrane fraction was 0.1-0.6% in 24 h, we attempted to degrade these plastics using the recombinant enzyme. The recombinant enzymes expressed by *E. coli* were able to degrade the plastics and to produce aldehydes, ketones, and alcohols. For NBR degradation, in the multienzyme reaction with two types of aldehyde dehydrogenases, the aldehyde/ketone production rate (4.1 mM/30 min) enhanced by 12 times compared with the single enzyme. For PP degradation, all four recombinant enzymes moderately degraded 5-μm PP powder. A key enzyme was able to disappear 80% of the PP powder in 72 h at 37°C. Moreover, the aldehyde production rate (12 mM/9 h) increased 3 times through a multienzyme reaction of four oxygenases. The key enzyme degraded 0.06%/24 h of PP sheet with high molecular weight (M_w 250,000, M_n 67,000), and aldehydes and primary or secondary alcohol were detected in the reaction mixture as the degradation products. We have also found a membrane bounded enzyme from a bacterium isolated from an insect was able to degrade 10% of a commercial HDPE film in 24 h, and produced aldehydes.

Furthermore, we succeeded in creating a one-pot microorganism capable of reducing the weight of waste plastics (PE and NBR) and synthesizing PHAs following cultivation. This was achieved by constructing or enhancing the PHA-producing pathway in the plastic-degrading microorganisms. We also

optimized plastic pre-treatment methods and culture conditions to enhance weight loss of the plastics and PHA production. The PHAs obtained in this study were poly(3-hydroxybutyrate) or PHA copolymers, and their molecular weights and thermal properties were comparable to commercially available PHAs.

This research was performed by the Environment Research and Technology Development Fund (JPMEERF20221005) of the Environmental Restoration and Conservation Agency provided by Ministry of the Environment of Japan.