研究助成研究成果報告書

令和　8年　9月24日

公益財団法人江野科学振興財団
理事長　江野眞一郎　殿

貴財団より助成のありました研究の成果について下記のとおり報告します。

申請者名

杉森　大助　　印

記

1.研究課題名

和 文 廃棄ニトリルゴムのバイオアップサイクル技術の開発
英 文 Development of bio-upcycling method of waste nitrile rubber

2.申請者名(代表研究者)

氏 名 杉森大助	ローマ字表記 Daisuke Sugimori
所属大学・機関名 福島大学	英訳表記 Fukushima University
学部・部課名 共生システム理工学類	英訳表記 Faculty of Symbiotic System Science
役職名 教授	英訳表記 Professor

3.共同研究者（下段　英訳表記）

氏　　名	所属機関名・学部名・役職
(氏　名) (英訳表記)	(英訳表記)
(氏　名) (英訳表記)	(英訳表記)
(氏　名) (英訳表記)	(英訳表記)
(氏　名) (英訳表記)	(英訳表記)

4.英文抄録（300 語以内）

This study aimed to develop enzymatic upcycling technology for waste nitrile butadiene rubber (NBR) by (1) enhancing the recombinant production of Nro1, the enzyme responsible for the initial degradation of NBR, (2) increasing Nro1 activity through amino acid substitutions, and (3) improving NBR degradation efficiency and the yield of valuable products through an *in vitro* artificial metabolic pathway.

Recombinant production of Nro1 was increased approximately 1,000-fold relative to the unmodified enzyme, and the NBR degradation yield was enhanced by at least 45-fold. Amino acid substitution engineering yielded a point mutant with approximately 1.7-fold higher activity, while variants carrying five and ten substitutions achieved about a 1.5-fold increase in reaction yield. An ancestral-type designed Nro1 variant bearing 24 amino acid substitutions further increased the reaction yield by approximately 4-fold.

In the *in vitro* artificial metabolic reaction, combined use of two aldehyde dehydrogenases (ALDH and GeoB) increased the reaction yield approximately 4-fold, and a sequential-addition strategy using these two enzymes further improved the yield by approximately 10-fold.

Through optimization of these reaction conditions, waste NBR was successfully converted into carbon black together with NBR oligomers bearing aldehyde and ketone groups—high-value-added products with promising potential for industrial application.

5.研究目的

本研究の最終目的は、酵素法による廃棄 NBR のアップサイクル技術の開発である。この目標達成を目指し、以下の 2 項目について研究を進める計画を立てた。

1. NBR 分解速度の向上
   1) NBR 分解初発酵素 Nro1 の組換え生産量の向上
      Nro1 の大腸菌を用いた異種組換え生産において、大きな課題となっていた活性型酵素の生産量を 10 倍以上向上させることを目的とした。それによって、分解速度の向上を目指した。
   2) Nro1 の活性増強
      Nro1 のアミノ酸置換、活性中心ヘム金属や配位子の変更により、NBR 分解速度の向上を試みる計画を立て研究に臨んだ。

2. 廃棄 NBR を原料とした有用物質合成ルートの確立
   1) ワンポット合成法の開発
   2) 次世代型スマートセル（人工微生物）の開発

   NBR 分解経路を解明し、第 1 段階として試験管内人工代謝反応の効果検証を行い、NBR 分解率および有用物質変換収率が向上する有効な酵素の組み合わせを明らかにすることを目的とした。

6.研究内容及び成果の本文

別紙

7.今後の研究の見通し

ゴム分解酵素 Nro1 の組換え生産の条件検討により、以前の生産量に比べ約 1,000 倍の生産量まで増強することが可能となった。本組換え生産酵素は TF タグ融合型として生産されたものであり、その NBR 酸化分解活性は、以前の分解活性と比較し、少なくとも 45 倍、最大 80 倍程度まで分解力が向上していることがわかった。本来の酵素は TF タグが無いため、TF タグを除去した場合、さらに分解活性が増加する可能性が期待できる。さらに、今回の酵素反応試験では、酵素を分解してしまう過酸化水素を添加した条件であったため、過酸化水素を添加しない条件で反応させた場合、さらに高い分解活性が得られる可能性がある。

また、以下の予備的試験結果を得ていることから、これらを統合することにより、さらに分解効率とともに有用物質変換効率を上げられると考えている。

1) ゴム分解酵素 Nro1 のアミノ酸置換による改良
   1-1) 点変異体：活性が約 1.7 倍増加。
   1-2) 5 点、10 点重複変異体：反応収率が約 1.5 倍増加。
   1-3) 人工（祖先型）設計変異体（24 ヶ所のアミノ酸置換体）：反応収率が約 4 倍増加。
2) ゴム分解産物代謝酵素の併用および逐次添加による反応収率の大幅向上
   ゴム分解酵素 Nro1 によるゴム分解産物は、アルデヒドおよびケトン基を持つ NBR オリゴマーであり、それらを解毒・代謝する酵素として 2 種類のアルデヒドデヒドロゲナーゼ(ALDH、GeoB)の関与が予想されたことから、これら Aldh の添加効果について検証実験を行った結果、約 1.6(+GeoB)、2.6(+ALDH)、4.2 倍(+ALDH、GeoB)と反応収率が増加し、さらに反応開始から 4 h 後に ALDH を添加した結果、反応収率が約 10 倍まで向上した。この反応では、基質 NBR サンプルからカーボンブラックの流出が観察された。
3) ゴム分解産物の有用性
   実 NBR 製品を酵素分解すると、その分解産物としてβケトアルデヒドを分子内に有する NBR オリゴマー（BKA）が生成することを見出した。本物質は次世代液状ゴムとなる可能性があるようである。また、Nro1 は NBR のほかにもポリイソプレン、ポリアクリロニトリルに対する活性を示した。以上より、廃棄ゴム(タイヤを含む)を原料として、Nro1 を作用させることにより、ゴムを分解して BKA に変換することで「自己修復能を持つ再生可能な次世代ゴムの開発」につながる可能性を見出した。

以上の結果から、今後、以下の 5 つの応用展開が期待される。

- ✓ 酵素法による NBR の表面改質、ナノ加工
- ✓ 廃棄 NBR、タイヤからカーボンブラックの回収、リサイクル
- ✓ ホルムアルデヒド系接着剤フリーのタイヤ製造工程
- ✓ 乾燥工程扶養のタイヤ製造法
- ✓ タイヤ to タイヤの水平サイクルに留まらない、次世代タイヤの開発

8.本助成金による主な発表論文、著書名

1) ニトリルゴムのバイオリサイクル法の開発を目指して，杉森大助，月刊トライボロジー」2024 年 9 月号「SEAL AGE 技術トピックス No. 445, 52-53 (2024)
2) Takehiro Chiba, Takuma Nakaarai, Daisuke Sugimori*, Nitrile rubber biodegradation by *Gordonia* sp. strain J1A and discovery of an oxygenase involved in its degradation, ***Appl. Environ. Microbiol.***, 91, p. 1-12 (2025).

［注１］本報告書は、助成金を受けた翌年９月末までに必ず提出してください。

［注２］**(お願い)印刷物の郵送と電子媒体の添付ご提供をお願いします。インターネットメールでの送付を歓迎します。**< E-Mail:enozaidan@kokoku-intech.com>

［注３］**この報告書を当財団のホームページに掲載させていただきますので、予めご了承ください。**

※当財団へのご意見・ご要望がございましたら、下記へご記入ください。
お寄せいただいたご意見・ご要望は今後の参考にさせていただきます。

研究資金が不足気味になった際に採択いただき、大変助かりました。ありがとうございました。

アンケートへのご協力ありがとうございました。

以 上