

(群馬大院・理工) ○青木卓也, 大場皓平, 鈴木美和, 滝沢玲香, 粕谷健一, 橘熊野

緒言 汎用プラスチックは、優れた物性と安定性から我々の生活に欠かすことのできない材料となっている。一方で、環境中に流出すると容易に分解されず、海洋生物に対し誤飲や絡まりを引き起こす。近年では、マイクロプラスチックへ汚染物質が吸着することにより、食物連鎖を通じてヒトへの健康被害が懸念されている。その解決策として、微生物により水と二酸化炭素まで無機化される生分解性プラスチックが注目されている。その実用にあたり、使用期間中の機械強度の保持と、不要時あるいは廃棄後の速やかな分解が望まれ、分解機構を十分に理解することが急務である。生分解性プラスチックのポリ(ε-カプロラクトン)(PCL)は、多様な環境中で容易に生分解し、多分野への用途展開が期待されている。本研究では、プラスチックデブリのホットスポットである沿岸環境から PCL 分解細菌 TKCM64 株を単離し、PCL 分解酵素の特徴付けを行なう。

実験 千葉県館山市沖ノ島海浜公園におけるペットボトルゴミ表面のバイオフィームを微生物接種源とし、PCL 乳化培地上でのクリアゾーン形成能により PCL 分解微生物をスクリーニングした。単離した PCL 分解細菌の 16S rDNA をコロニーPCR 法により増幅した。PCR 産物を T ベクターに連結し、*E. coli* DH5α 株を形質転換させた。プラスミド DNA を抽出し、シーケンス解析を行った。相同性解析には、GENETYX (Software Development Co., Japan), blastn (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) を用いた。単離株の特徴付けとして、至適培養温度、至適培養塩濃度、生理学的・生化学的性質、PCL フィルム分解試験および培養上清の PCL 分解能を調べた。さらに、炭素源の違いによる PCL 分解酵素産生能を、培養上清のザイモグラム(SDS-PAGE)により調べた。

結果 海洋プラスチックゴミから PCL 分解細菌 TKCM64 株を単離した。遺伝学的解析により、TKCM64 株は *Pseudomonas pachastrellae* (KMM300^T 株) と近縁種であることがわかった。TKCM64 株は 4-40 °C, NaCl 濃度 0.0-1.2 M の範囲で増殖し、PCL 乳化培地上において 25-30 °C で最大のクリアゾーン形成能を示した。

PCL フィルム分解試験を行ったところ、分解速

度は $1.39 \pm 0.09 \text{ mg cm}^{-2} \text{ day}^{-1}$ であった。各種炭素源について増殖度と培養上清の PCL フィルム分解活性を調べたところ、PCL およびヒドロキシアルカン酸では良好に増殖し、上清に PCL 分解活性も見られた。PCL と 6-ヒドロキシヘキサン酸を炭素源とし、培養上清濃縮物をザイモグラム解析したところ、両方の炭素源で、約 30 kDa のバンドとしてクリアゾーンが検出された。

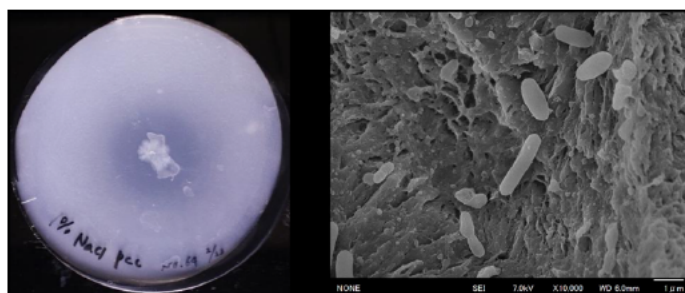


図1 TKCM64 によるクリアゾーン, 走査型電子顕微鏡像

A Polyester-degrading Microbe Isolated from Marine Plastic Debris and its Enzyme, Takuya AOKI¹, Kohei OBA¹, Miwa SUZUKI¹, Reika TAKIZAWA¹, Ken-ichi KASUYA^{1, 2} and Yuya TACHIBANA^{1, 2}: 1 Graduate School of Science and Engineering, Gunma University, 1-5-1 Tenjin, Kiryu, Gunma 376-8515, Japan, 2 Gunma University Center for Food Science and Wellness, Tel: 0277-03-1497, E-mail: kkasuya@gunma-u.ac.jp