

# 643 ポリウレタン分解酵素遺伝子の大腸菌における発現 および発現酵素の諸性質

(筑波大・応生化) ○坏ゆき枝、野村暢彦、中島(神戸) 敏明、中原忠篤

【目的】 *Comamonas acidovorans* TB-35株は、エステル系ポリウレタン(PUR)を唯一炭素源として資化する細菌である。これまでに、TB-35株由来のPUR分解酵素を精製し、その諸性質を検討した<sup>(1)</sup>。またTB-35株の全DNAより、ポリウレタン分解酵素遺伝子が大腸菌を宿主としてクローニングし、その全塩基配列を決定した<sup>(2)</sup>。そこで、大腸菌において発現した酵素の諸性質を検討し、TB-35株由来の酵素と比較した。

【方法及び結果】大腸菌の宿主ベクター系を用いて、PUR分解酵素遺伝子を発現させ、発現産物を硫酸塩析、各種クロマトグラフィーにより精製した。その結果、発現産物は、SDS-PAGE上でTB-35株由来のPUR分解酵素と同一の泳動度を示した。また、精製酵素により固体PURが分解された。分解の様子は、PUR重量の減少、電子顕微鏡による表面構造の変化、PURのポリエステル部位を構成するジエチレングリコールの検出などで確認された。また、大腸菌由来酵素の酵素学的諸性質を、TB-35株由来酵素と比較した。

<sup>(1)</sup> 中島ら：日本農芸化学会大会講演要旨集 p. 242 (1996)

<sup>(2)</sup> 坏ら：日本農芸化学会大会講演要旨集 p. 102 (1997)

Expression of the gene encoding for the polyurethane degrading enzyme from *Comamonas acidovorans* TB-35 in *E. coli*

○Yukie Akutsu, Nobuhiko Nomura, Nakajima-Kambe Toshiaki, Tadaatsu Nakahara (Inst. Appl. Biochem., Tsukuba Univ.)

【Key Words】 polyurethane, degradation, expression, *Comamonas acidovorans*

# 644 固形状ポリブチレンサクシネート分解菌の分離とその性質 (筑波大・応生化、\*工技院・生命研)

○内田裕美、中島(神戸) 敏明、\*常盤豊、中原忠篤

ポリブチレンサクシネート(PBS)は生分解性プラスチックの一種であり、その優れた特性から将来性の高い素材として注目されている。PBSは土壌中で微生物によって分解を受けるが、それら分解菌のもつPBS分解酵素系についての検討はほとんど行われていない。我々はプラスチックのような固体合成高分子を分解する微生物の分解酵素について生化学的、遺伝子工学的検討を行っており、本報告ではPBSを強力に分解する微生物を自然界より分離し、分解酵素系の諸性質について検討を行った。

スクリーニングにはPBSを界面活性剤とともにミセル化したものを用いた。各種土壌サンプルを分離源として、PBSを唯一炭素源としてスクリーニングを行った結果、5株の優良菌株を得た。このうち、最も生育の良かったBS-3株を以降の検討に用いた。本菌株は、ミセル化したPBSのみならず固形(直径約2.7mm、長さ約4.1mmのペレット状)のPBSをも唯一炭素源として利用可能であった。菌体の生育とともにPBSの重量減少が観察され、同時に培養液中に強いエステラーゼ活性が認められた。そこで、培養上清を硫酸沈澱にて粗分画、濃縮したのち、ゲル濾過にてエステラーゼの部分精製を行った。得られた部分精製標品はPBS分解能を有していたことから、このエステラーゼがPBS分解酵素であることが強く示唆された。

Isolation and properties of poly(butylene succinate) pellet degrading bacteria.

○Hiromi Uchida, Toshiaki Nakajima-Kambe, \*Yutaka Tokiwa, Tadaatsu Nakahara (Inst. Appl. Biochem., Tsukuba Univ., \*Natl. Inst. of Biosci. and Human-Tech.)

(Key words) microbial degradation, poly(butylene succinate), esterase