

667 フローサイトメトリーによる細菌の検出  
—ポリアクリル酸ソーダ分解共生系の解析—

(奈良先端大・バイオサイエンス) 桂樹 徹、○岩橋正英、谷 吉樹  
(日本触媒) 林 隆哉

【目的】 微生物による合成高分子の分解には複数種の細菌の共生系によって行われる例が多い。又、自然界に生息するバクテリアの多くは、従来の方法では検出が困難であると言われており、新しい検出手段が望まれている。本研究では、ポリアクリル酸ソーダの分解に関わる細菌の共生系を、フローサイトメトリーを用いて解析し、共生系を構成する各々の細菌を検出することによって、生態系での新しい微生物検出法を開発することを目的とした。

【方法及び結果】 3種類の細菌で構成されているポリアクリル酸ソーダ分解共生を、ポリアクリル酸ソーダを唯一の炭素源とする培地中で培養し、フローサイトメトリーで分析した。その結果、前方散乱光—側方散乱光のサイトグラム上に3つの細胞集団が検出された。そこで、セルソーターを用いてそれらの集団を分取し、透過型電子顕微鏡で観察したところ、3つの集団はそれぞれ、共生系を構成している3種類のバクテリアであることが確認され、蛍光試薬による菌体染色などの前処理を必要としない、ポリアクリル酸ソーダ分解共生系の検出プロトコールを設定することができた。

Flow cytometric analysis of a bacterial consortium that degrades the commodity polymer poly(sodium acrylate)

Tohoru Katsuragi, ○Masahide Iwahashi, Yoshiki Tani (Grad. Sch. Biol. Sci., NAIST), and Takaya Hayashi (Nippon Shokubai Co.)

[Key words] flow cytometry, consortium, biodegradation, poly(sodium acrylate)

668 *Azotobacter beijerinckii* HM121 のヒドロキノンペルオキシダーゼによる溶媒二相系を利用したポリスチレンの分解  
(北大・工・分子化学) ○中宮 邦近、坂下 暁介、大井 俊彦、木下 晋一

【目的】 リグニンを高速に脱色、分解する細菌(1)として分離した *Azotobacter beijerinckii* HM121 の細胞壁画分よりヒドロキノンペルオキシダーゼを単離精製し(2)、この酵素が様々な水溶性合成高分子を分解することを見いだした(3)。そこでこの酵素による溶媒二相系を利用したポリスチレンの分解を試みた。

【方法】 0.2%ポリスチレン ( $M_r$  935,000、 $M_r$  114,200、 $M_r$  760) を含むジクロロメタン層 0.4 ml と 2.4 unit/ml (1.0 mg/ml protein) の酵素、10 mM 過酸化水素、2 mM テトラメチルヒドロキノン、100 mM リン酸緩衝液(pH7.0) を含む水層 0.4 ml をネジ付き試験管 10 ml 容に入れ 30°C で激しく攪拌して反応した。

【結果】  $M_r$  935,000 のポリスチレンの分解を、二層系で行い、各層を TLC で展開したところ、反応開始 5 分後までにその全てが水層に移動し( $R_f$  0.6)、15 分後には  $R_f$  0 の分解物にまで分解が進んだ。15 分後の反応液を Ionpack KS-801 を用いてゲルろ過を行ったところ  $M_r$  300 以下に分解されていた。 $M_r$  114,200 のポリスチレンも同様に分解された。だが  $M_r$  760 のポリスチレンは水相への移動と同時に  $R_f$  0 に展開された。これのゲルろ過を行ったところすでに  $M_r$  300 以下に分解されていた。

1) Morii et al., J. Ferment. Bioeng., 80, 296-299 (1995).

2) Nakamiya et al., J. Ferment. Bioeng., 84(No. 1) (1997) in press.

3) Nakamiya et al., J. Ferment. Bioeng., 84(No. 2) (1997) in press.

Degradation of polystyrene by hydroquinone peroxidase of *Azotobacter beijerinckii* HM121.

○Nakamiya Kunichika, Gyousuke Sakasita, Tosihiko Ooi, Shinichi Kinoshita, (Dept. Mol. Chem., Facul. Eng., Hokkaido Graduate Univ.)

【Key Words】 polymer biodegradation, hydroquinone peroxidase, polystyrene degradation, radical degradation, *Azotobacter beijerinckii*