

2022.11.30

令和4年度岩手県三陸海域研究論文知事表彰事業

山田湾から発見した新規バイオプラスチック分解菌と 分解酵素に関する研究

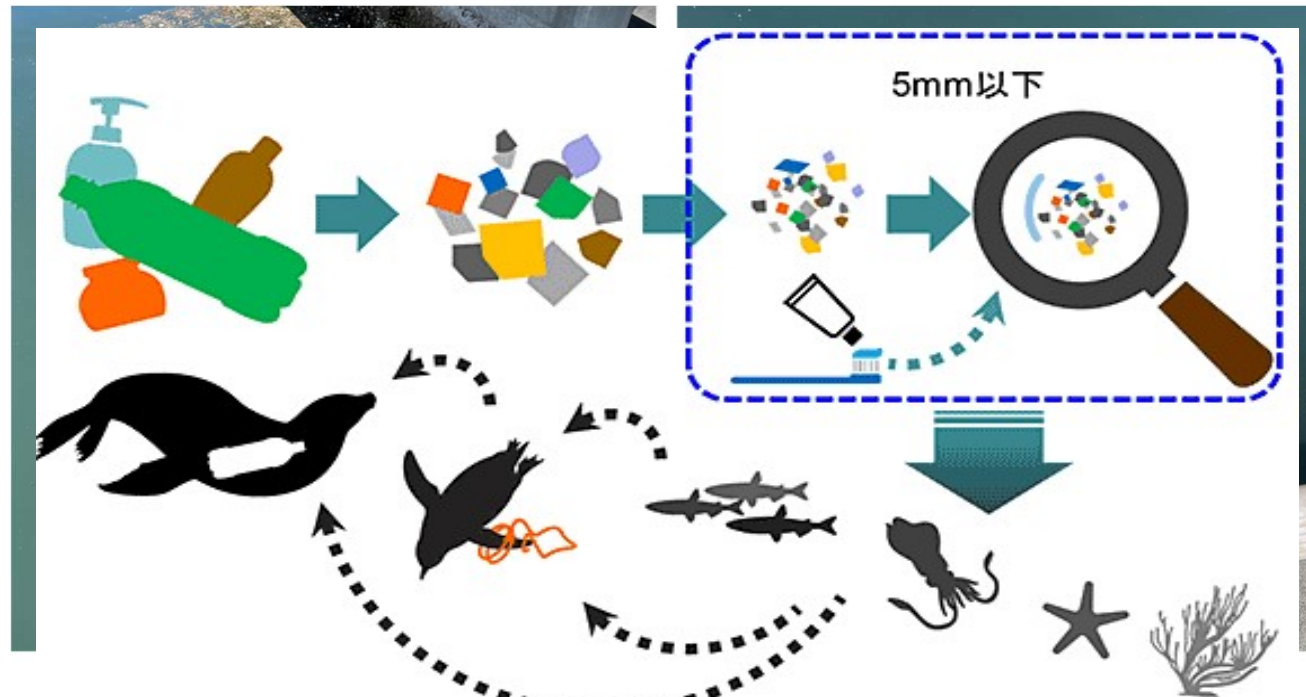
岩手大学大学院
総合科学研究科農学専攻
修士1年 齋藤祐介



プラスチックによる海洋汚染

1/17

1年間で**480～1270万トン**のプラスチックが海洋に流出

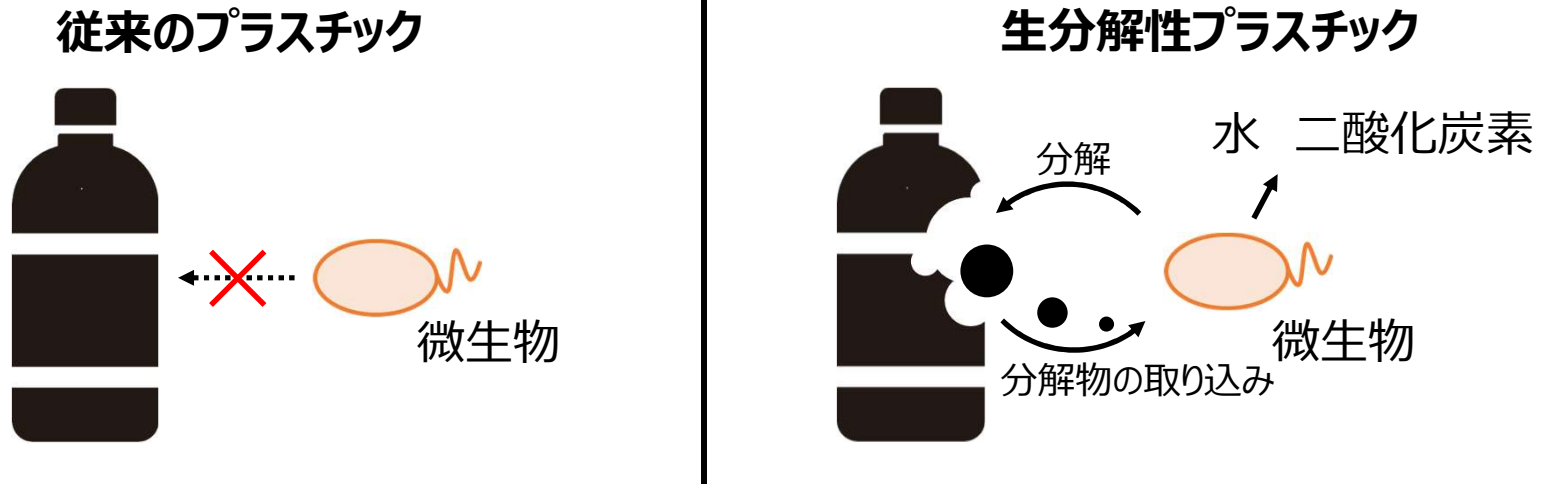


(2022.0.0 石手崇山中湾に於て撮影)

<https://www.wwf.or.jp/activities/basicinfo/3776.html>

海洋プラスチックごみ問題の解決策として、
生分解性プラスチックが注目されている

生分解性プラスチックとは



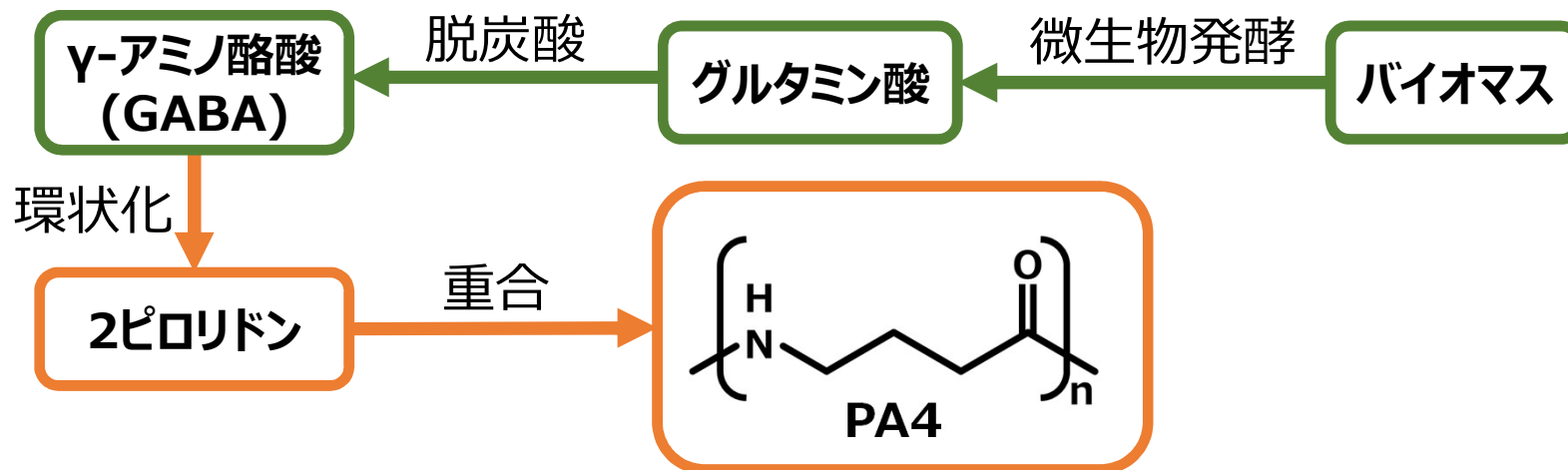
海洋生分解性が確認されている生分解性プラスチック



海洋生分解性プラスチックは少ない...

海洋生分解性を持つ**ポリアミド4 (PA4)** に着目

海洋生分解性プラスチック PA4



	PA4	ポリアミド6 (PA6、通称ナイロン)
原料	バイオマス	石油
物性	高い耐熱性と耐久性	高い耐熱性と耐久性 耐摩耗性、耐薬品性、耐油性
分解性	○ (様々な環境で生分解する)	× (難分解性)

PA4は既存の難分解性プラスチックの代替として実用化が期待されている

年代	研究グループ	試験環境	単離された分解菌
1994	名古屋大学※1	堆肥土壌	
2008	産業技術総合研究所※2	活性汚泥	<i>Pseudomonas</i> sp.
2009	理化学研究所※3	堆肥土壌	<i>Stenotrophomas</i> sp. <i>Fusarium</i> sp.
2013	理化学研究所※4	海水	
2019	産業技術総合研究所※5	海水	<i>Alteromonas</i> sp.
2022	岩手大学※6	土壌	<i>Pseudoxanthomonas</i> sp.

PA4は海洋環境における分解メカニズムが明らかになっていない

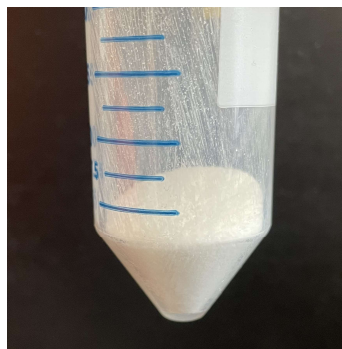


研究目的

海洋環境での微生物による分解メカニズムの解明

※1 Hashimoto, K. et al. J Appl Polymer Sci 54:1579 (1994)/2 Yamano, N. et al. J Polym Environ 16:141 (2008)/3 Tachibana, K. et al. Polym. Degrad. Stab. 95:912 (2010)/ 4 Tachibana, K. et al. Polym. Degrad. Stab. 98:1847 (2013)/5 Yamano, M. et al. Polym. Degrad. Stab. 166 (2019) /6 Yamada, M. et al. Polym. Degrad. Stab. (2022)

ナイロン4を用いた実海域浸漬試験



ポリアミド4



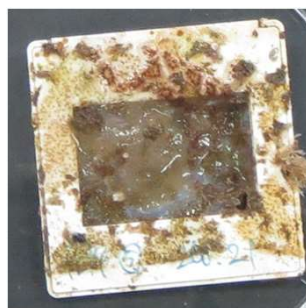
フィルムを浸漬している様子



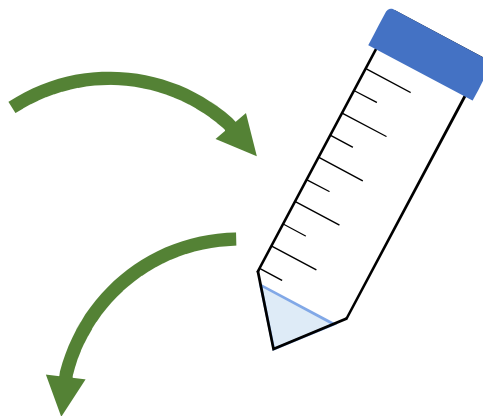
<https://www.google.co.jp>

- ・浸漬地点 岩手県山田町山田湾内
(N 39°28、E 141°59)
- ・試験期間 冬季試験 2021.2.12～2021.4.13
10日、20日、60日間
夏季試験 2021.8.12～2021.9.21
10日、20日、40日間
- ・水深 浅場 3 m
深場 40 m (海底から 3 m)

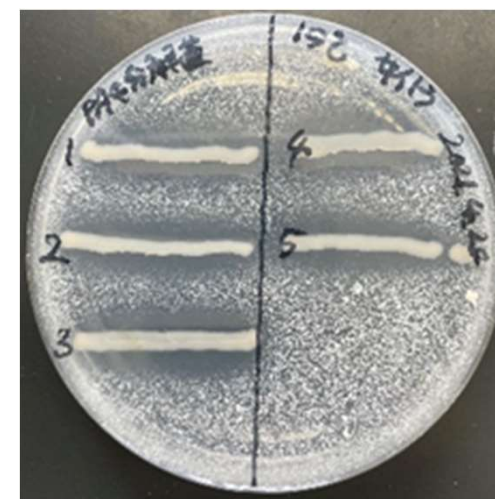
分解菌の単離



回収後の PA4 フィルム
左：冬季試験 (60日目)
右：夏季試験 (40日目)



PA4含有 Marine Agarに植菌
15°C or 25°C、1週間培養



クリアゾーン※形成菌

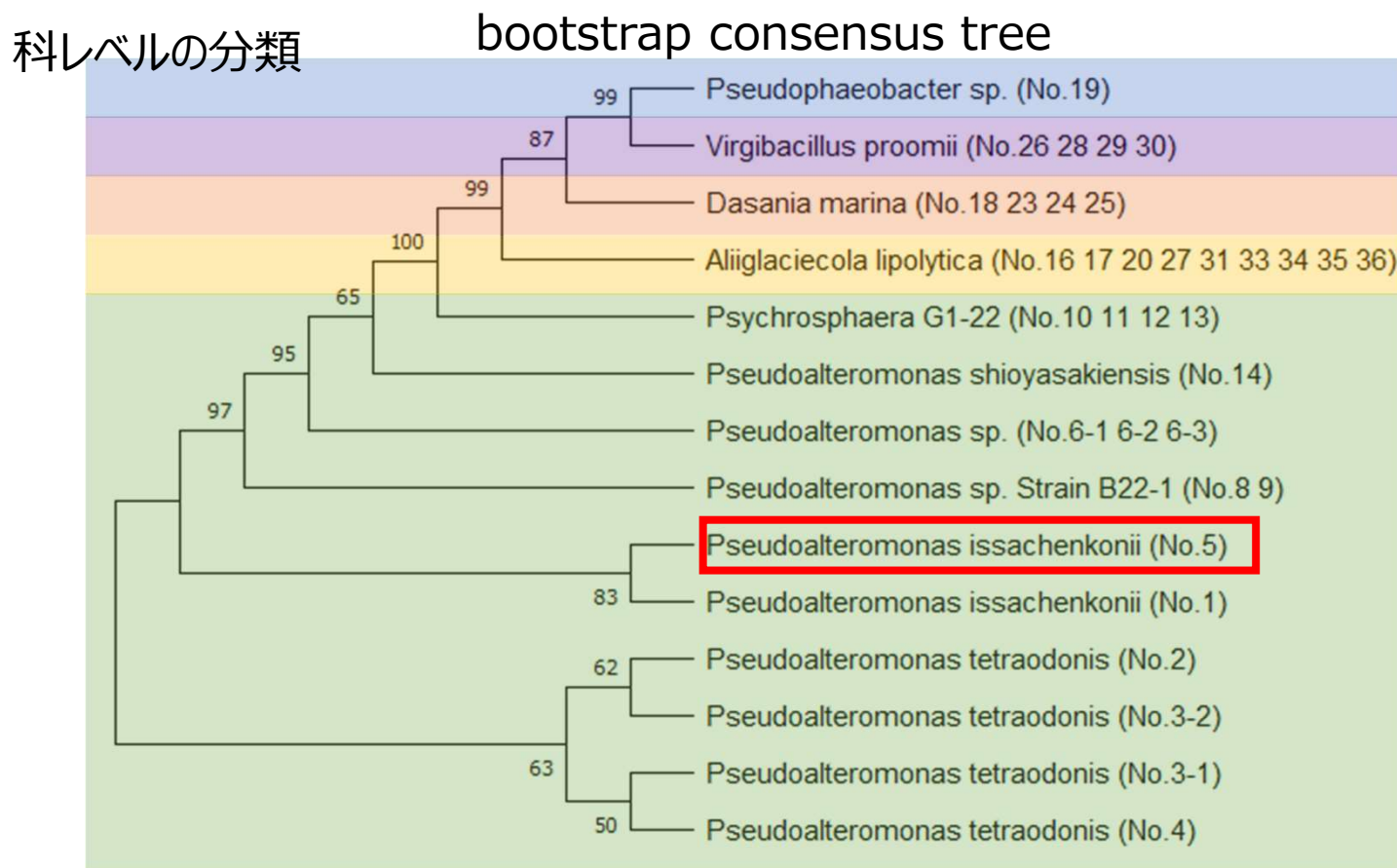
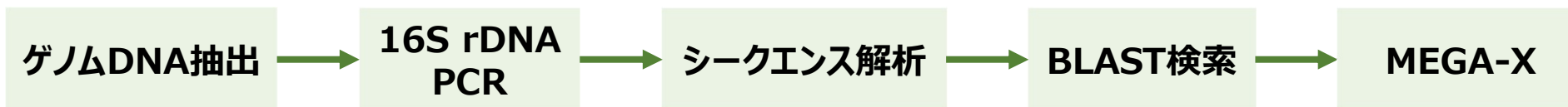
※コロニー周囲のPA4粉末を
分解して形成される透明な部分

冬季試験 (15°C)
309株 → **11株**

夏季試験 (25°C)
459株 → **25株**

合計**36株**を取得

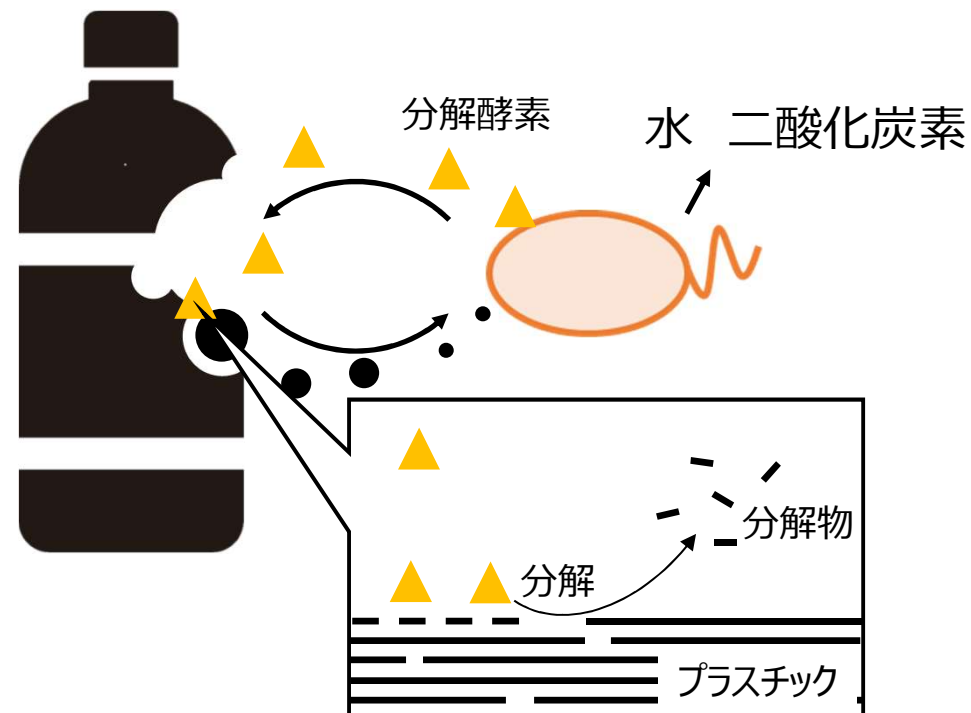
取得した分解菌の系統解析



14種すべてが新規のPA4分解菌

研究目的

海洋環境での微生物による分解メカニズムの解明

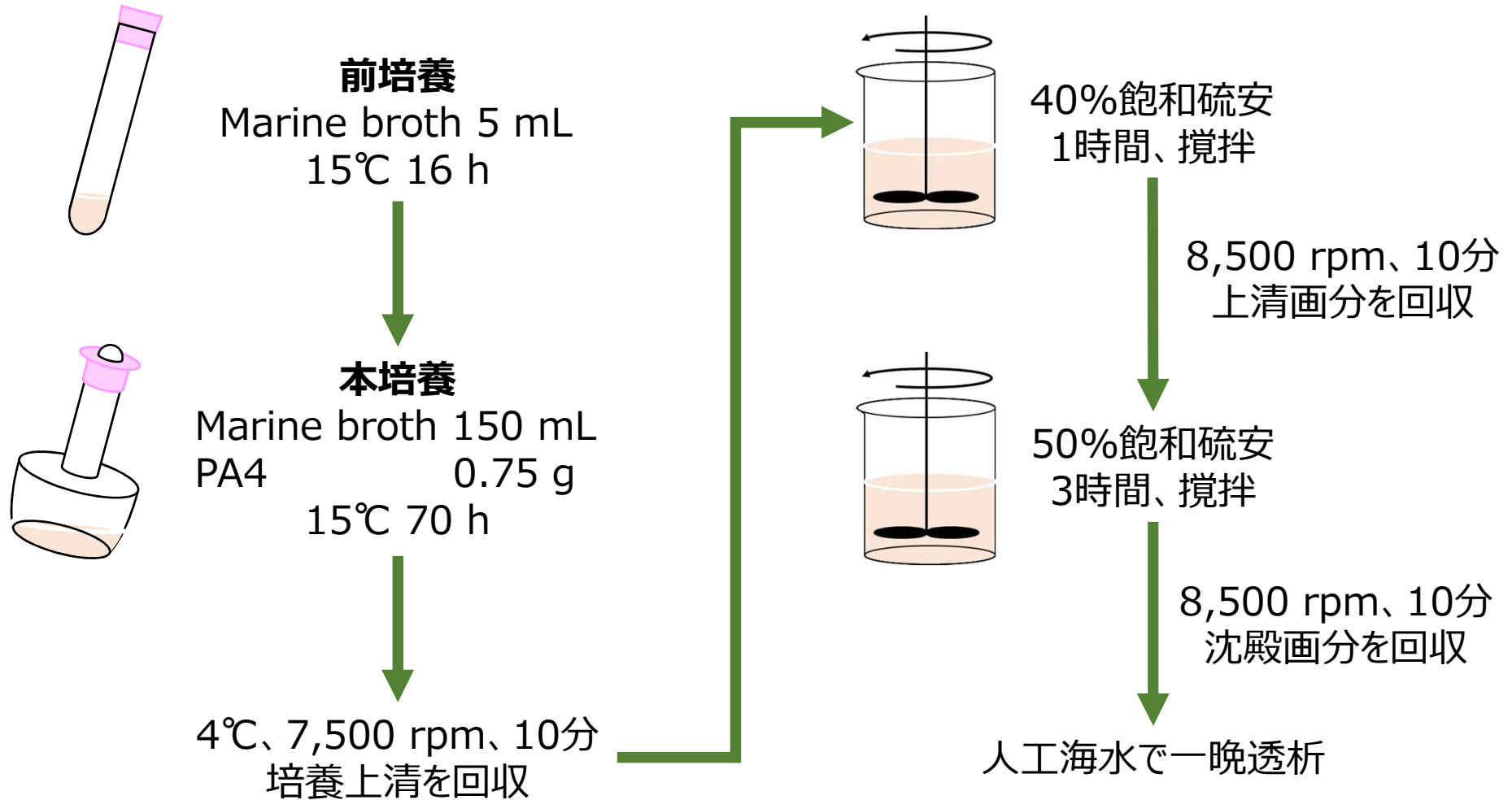


Next...

PA4分解酵素を単離し、その性質を明らかとする

硫安塩析による酵素精製 (No.5 株)

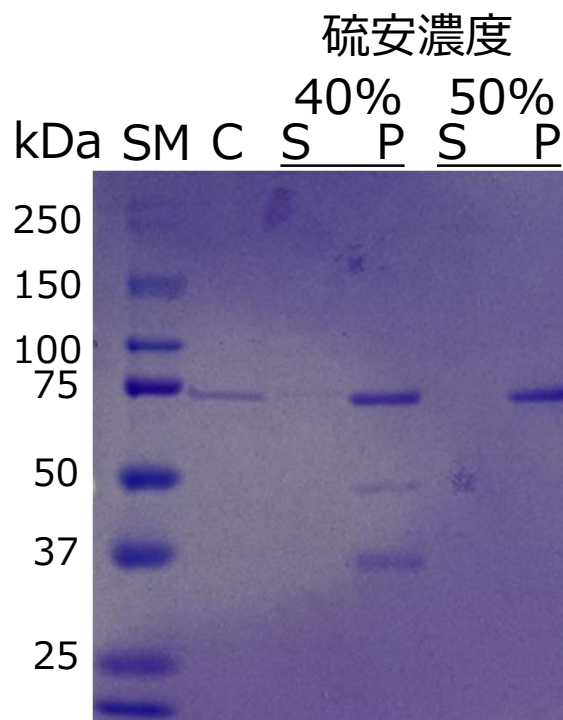
No.5 株 (*Pseudoalteromonas issachenkonii*) から酵素を精製



硫酸塩析による酵素精製

10/17

Steps	活性 (U)	タンパク質 (mg)	比活性 (U/mg protein)	回収率 (%)	精製度 (fold)
培養上清	2621	1513	1.73	100	1.0
40%上清	825	91	9.02	32	5.2
50%沈殿	339	25	13.8	13	8.0

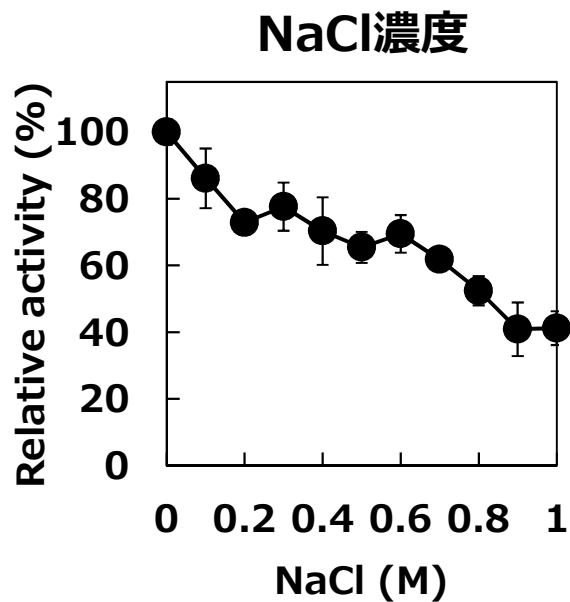
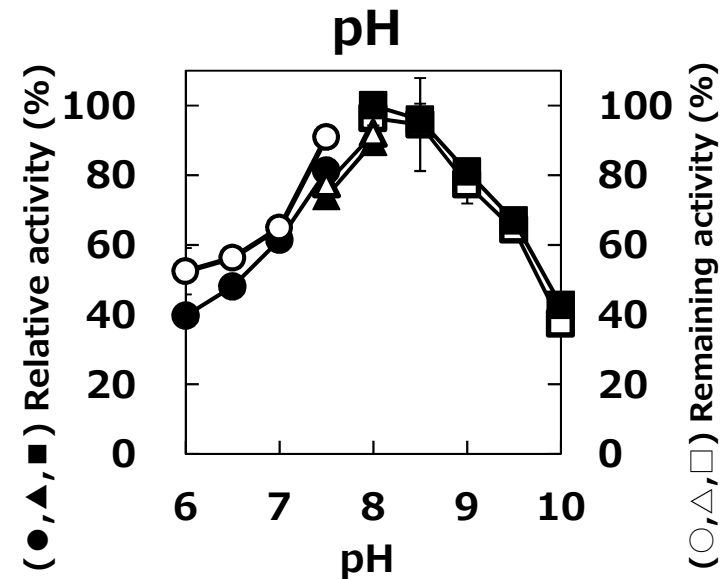
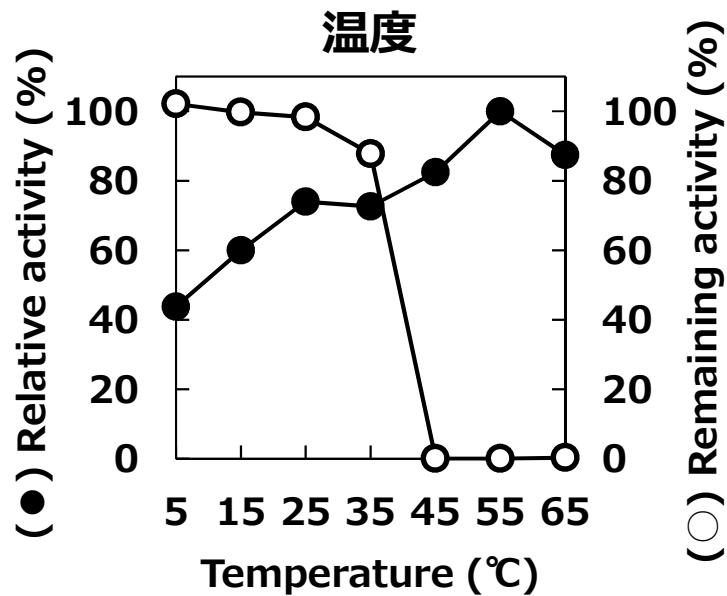


海洋細菌由来のPA4分解酵素の
精製に初めて成功

75 kDa

SM : size marker
C : 培養上清
S : 上清
P : 沈殿

精製酵素の諸性質

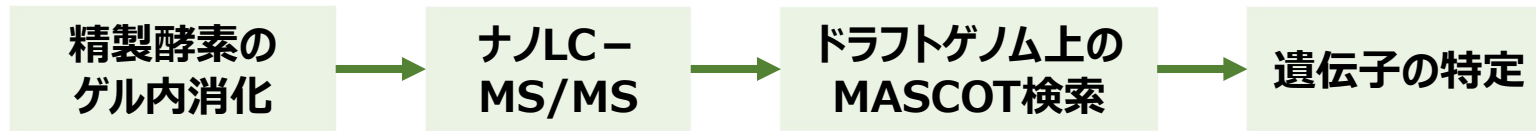


PA4分解に最適な条件

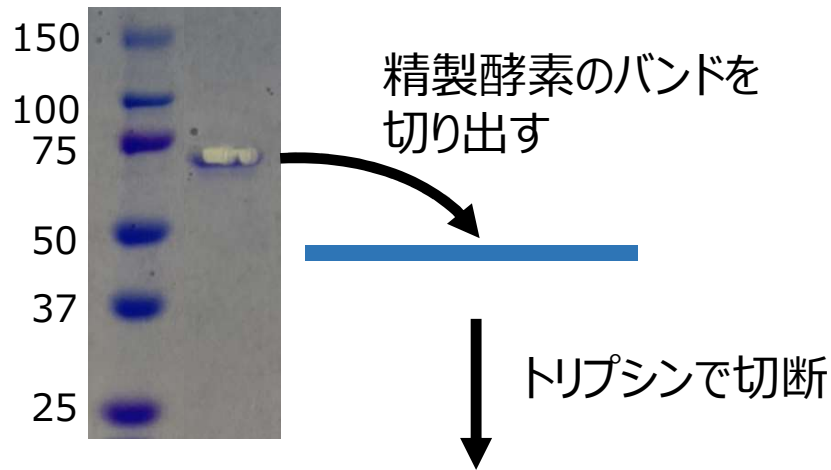
温度	55°C
pH	8.0
NaCl 濃度	0 M

本酵素の本来のターゲットは異なる？

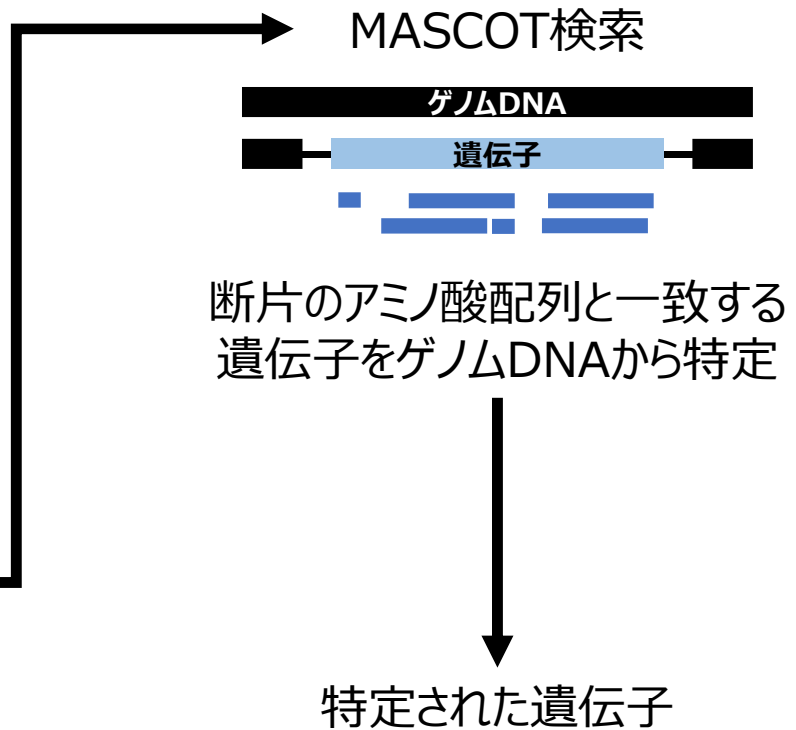
遺伝子の特定



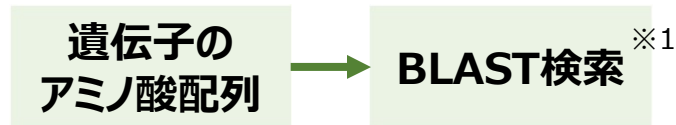
kDa



ナノLC-MS/MSで断片のアミノ酸配列を推定



Gene ID	Score	Mass	Matches
5_101	897	78847	33



※1 データベースに登録されている既知酵素のアミノ酸配列と比較することで、

入力した酵素の形や機能を推定可能
検索結果

新規の分解酵素と推定

Next...

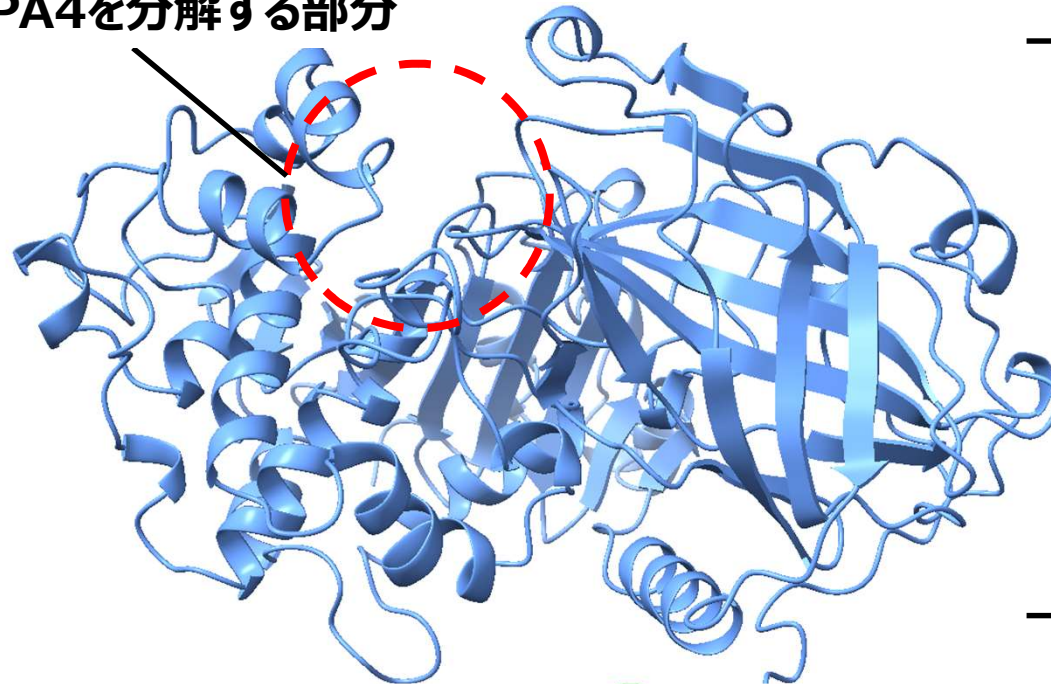
深層学習システム (AlphaFold2)^{※2} により本酵素の立体構造を予測

※2 アミノ酸配列をもとに立体構造を予測できる
新規の酵素でも短時間で極めて高い精度で予測が可能

AlphaFold2 による立体構造予測

14/17

実際にPA4を分解する部分



PA4を分解する
部位

6アミノヘキサン酸二量体※加水分解酵素と
構造が類似

※高分子化すると難分解性のPA6 (ナイロン、漁網などに使用) になる

- ▶ **生分解性プラスチック (PA4) だけではなく、
難分解性プラスチック (PA6、ナイロン) も分解できる可能性が高い**

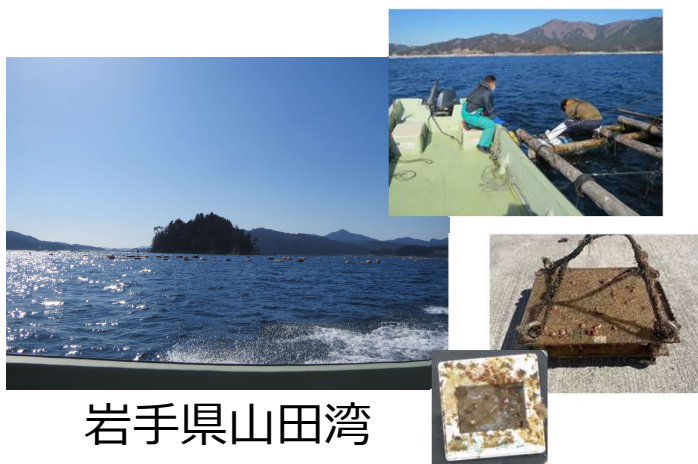
PA4分解酵素応用への可能性

ロレアル社 (仏)、CARBIOS社 (仏)

ポリエチレンテレフタレート (PET) 分解酵素を利用して、ペットボトルの酵素リサイクルを実現

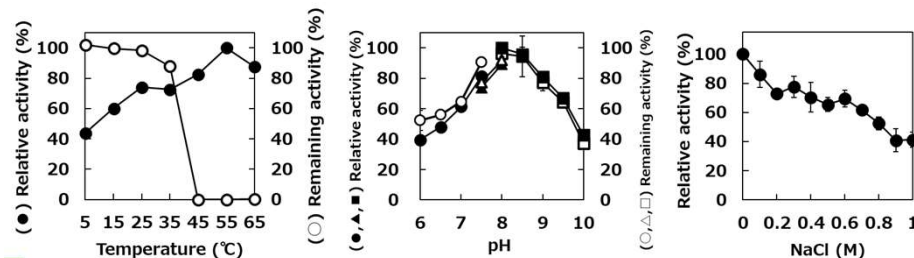


三陸で見いだされたPA4分解酵素を利用して、
難分解性プラスチック (PA6)の酵素リサイクルを実現

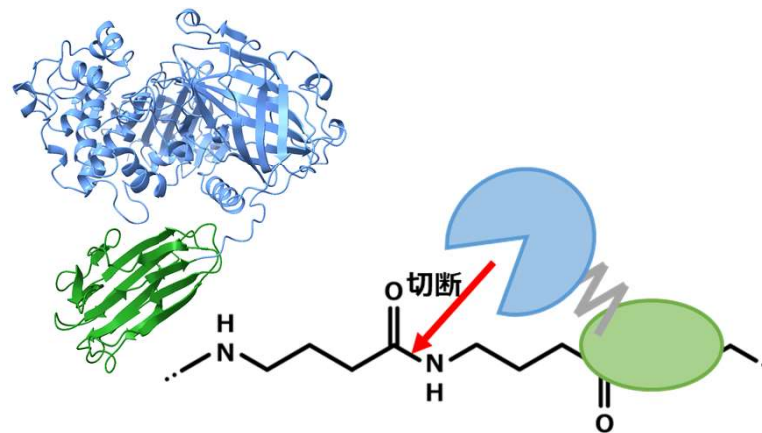
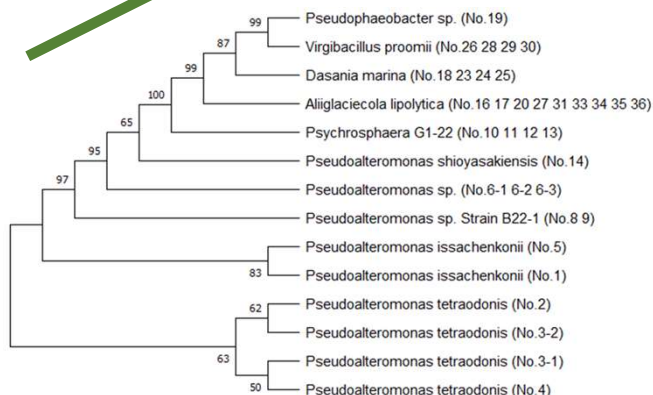


岩手県山田湾

海洋細菌から新規のPA4分解酵素を精製



新規のPA4分解菌を14種単離



本成果は海洋生分解性プラスチックであるPA4の製品開発や実用化に貢献する
本酵素は難分解性プラスチックの酵素リサイクルへも応用が期待できる

岩手大学農学部

山田 美和 先生
山下 哲郎 先生

製品評価技術基盤機構

紙野 圭 博士
山口 薫 博士
三浦 隆匡 博士

三陸やまだ漁業協同組合

佐々木 浩徳 様
昆 隆広 様

応用微生物学研究室のみなさん

