

深海微生物が産生する好圧性エステラーゼに関する研究

○座間 千夏・藤岡 明日香・榎 牧子・兼廣 春之（東京海洋大学），関口 峻允（東京海洋大学・海洋研究開発機構），Mona Windmeisser・加藤 千明（海洋研究開発機構）

[目的]

海洋環境には人間生活に伴う多くのゴミが流出している。特に深海域は、ゴミの最終的な溜り場になっていることが懸念されている。このような海洋汚染の解決策の一つとして、生分解性プラスチック（BPs）の利用が挙げられている。深海での生分解性プラスチック分解に関する報告はまだ少なく、さらに知見を深める必要がある。

深度 4800m（千島海溝）、深度 5300-7000m（日本海溝）から採取された深海底泥サンプルから、BPs を分解する深海微生物を探索した^{1, 2)}。その結果、11 株の BPs 分解微生物が得られた。その中でも、*Moritella* 属に含まれる JT01 株は、ポリカプロラクトン (PCL) に対して高い分解性を示した。表現型、遺伝子型の解析、系統分析等により、分離した微生物は新種であることが判明し、この種を、*M. polymerulytica* JT01 と命名した³⁾。本種は好圧、好冷性で、至適増殖条件は 30MPa、8°C である。本研究は、JT01 株の生産する BPs 分解酵素（リパーゼ）の性質を調べる事を目的として実施した。

[方法]

Marine Broth 培地に JT01 株を植菌し、8°C で 1 週間、振とう培養した。得られた上清を濃縮し、カラムクロマトグラフィーを用いて菌体外リパーゼの精製した。

同酵素をコードする遺伝子のクローニングは、大腸菌を宿主として用い、JT01 株 DNA を *Sau3AI* 部分分解し、ベクター pUC119 の *BamHI* サイトにショットガンクローニングする方法で行った。リパーゼ活性を付与された組み換え体大腸菌の検出は、トリブチリンを 1% 添加した LB 培地により行った。

[結果]

JT01 株由来の菌体外リパーゼは、分子量約 45 kDa の酵素であった。本酵素の加圧下での活性を調べた結果、150 MPa 付近の圧力に至適のある好圧酵素で、4~60°C の広い温度範囲で活性を示した。さらに、50°C で一定時間置いた後も、ほとんど活性は低下しなかった。

また、JT01 株のリパーゼ遺伝子のクローニングを行い、塩基配列を決定した。今後は立体構造の分析も行い、遺伝子の変換による加圧下での活性の変化や、構造的な特徴を解析する予定である。

[参考文献]

- 1) Sekiguchi, T. et al. (2010) Procedure of isolation of the plastic degrading piezophilic bacteria from deep-sea environments. *J. Jpn. Soc. Extremophiles*, 9, 25-30.
- 2) Sekiguchi, T. et al. (2010) Isolation and characterization of biodegradable plastic degrading bacteria from deep-sea environments. *JAMSTECR*, 11, 33-41.
- 3) Sekiguchi et al.,... paper in preparation.