

● **特集** ● **高分子材料の生分解**  
**総説**

## 生分解性高分子分解酵素

粕谷 健一\*

(受付 2006 年 11 月 9 日)

### 1. はじめに

1950年代, 石油化学工業の出現に伴い急成長を遂げた高分子工業は, それ以来, 軽くて丈夫な高分子製品を我々に提供し続けている. 一方, 1960年代に入って, ポリウレタン, ポリエステルなど一部の合成高分子は, 微生物により劣化することが報告され始めた<sup>1)</sup>. 時は過ぎ, 1980年代になって, 合成高分子の処理処分が社会問題化し, 逆に劣化する高分子材料が生分解性高分子として注目されることとなる. 生分解性高分子とは, 「生物により分解される高分子」と定義される. 広義には, 動物生体内での非酵素的加水分解による分解過程も生物による分解なので「生分解」に含まれるが, 本稿では, 酵素加水分解によるものに絞って解説する. はじめに, 生分解性高分子の酵素分解性について概観し, さらに各々の生分解性高分子分解酵素について詳説する.

### 2. 生分解性高分子の酵素分解性

高分子材料が生分解するかどうかは, それを分解する酵素が存在するかどうかによって決まる. 一般に, 天然物, あるいは微生物由来高分子の場合, それらを分解する酵素も環境中に広く分布する. 一方, 化学合成より得られる高分子の場合, 多くのものは難分解性である. しかしながら, 化

学合成高分子の中にも, 良好な生分解性を示すものが幾つかある.

高分子の微生物による分解, 即ち酵素分解反応は加水分解が最も一般的, かつ重要である. グリコシド結合, ペプチド(アミド)結合, エステル結合がカルボニル炭素原子に対する求核攻撃を受けて加水分解する. 天然高分子である多糖, ポリヒドロキシアルカン酸(PHA), タンパク質に加え, 合成ポリエステル(例えばポリ乳酸等)は加水分解で主鎖の切断を受ける. 微生物は細胞外に種々の加水分解酵素を分泌して, それによって合成ポリエステル, ポリアミド, ポリウレタン等を加水分解する可能性がある. 一方, ポリビニルアルコールやポリエチレングリコールのように主鎖がエステル結合を持たない高分子の場合は, 酵素による鎖の中に存在する水酸基の酸化が生分解の引き金になっている.

### 3. 脂肪族ポリエステル分解酵素

本来, 脂肪を分解する酵素であるリパーゼは, 固体である脂肪族ポリエステルのエステル結合を切断することが知られている. 16種の真菌および細菌由来のリパーゼを用いて, ポリヒドロキシアルカン酸(PHA)に対する基質特異性が調べられている. 各種リパーゼは, 側鎖のないPHA類に対して幅広い基質特異性を示したが, 側鎖のあるポリ(3-ヒドロキシブタン酸)(P(3HB))を分解できなかった. このように, リパーゼは, 脂肪族ポリエステルの主鎖方向に対しては, 緩い基質認識を示し, 幅広い構造のポリエステルを分解できる<sup>2)</sup>.

ポリエチレンアジペート(PEA)分解酵素は, 土壌から単離された真菌 *Penicillium* sp.14-3 から精製され, その性質が調べられている<sup>3)</sup>. PEA分解酵素は分子量約25,000, 至適

#### < Keywords >

生分解性高分子, 高分子分解酵素, ポリエステル, ポリアミド, ポリウレタン/Biodegradable polymer, Polymer-degrading enzyme, Polyester, Polyamide, Polyurethane

\*1 Ken-ichi KASUYA  
群馬大学 工学部 生物化学工学科  
(〒376-8515 群馬県桐生市天神町1-5-1)

温度は45℃, 至適pHは4.5であった。また, 本酵素はCa<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>によって活性化した。PEA分解酵素はさまざまなポリエステルを分解した。本酵素は側鎖のないポリヒドロキシ酸であるポリカプロラクトン(PCL)を分解したが, 側鎖のあるP(3HB)は分解しなかった。また, PEA以外のジオールとジカルボン酸からなる脂肪族ポリエステルに対しても分解活性を示した。一方, この酵素は, 芳香族ポリエステルを分解しなかった。本酵素はリパーゼ活性を有しており, リパーゼの一種である可能性が高い。

ポリブチレンサクシネート-co-アジペート(PBSA)は, 細菌 *Chromatium vinosum* 由来のリパーゼによって分解を受け, コハク酸, ブタンジオールから分子量834までのオリゴマーが水溶性分解物として溶出した。PBSAは, これ以外の種々の細菌由来リパーゼによっても酵素分解されることが報告されている<sup>9)</sup>。一方, 自然環境中から, PBSA分解細菌 *Acidovorax delafieldii* BS-3 が単離され, この株からPBSA分解酵素が精製されている。本酵素は, 乳化PBSAと固体PBSAに対して分解活性を有していた。固体PBSAへ1%の界面活性剤MEGA-9を添加したところ, 本酵素の分解活性は, 著しく低下した。このことから, 本酵素は, 固体基質を分解する際, 基質に吸着してから加水分解する2段階反応により基質を分解していることが示唆された。また, 本株がPBSA分解酵素を菌体外に分泌する際, 同時にリパーゼ活性が認められることから, この酵素がリパーゼの一種であることが示唆された<sup>9)</sup>。

最近になって, 東北大学の研究グループが, コウジカビ (*Aspergillus oryzae*) のゲノムDNAマイクロアレイを利用して, PBSA分解に関与するタンパク質のスクリーニングを行った<sup>6)</sup>。PBSA分解酵素としてクチン分解酵素(CutL1)が同定され, さらに分解に関与する両親媒性タンパク質群(RolA, HsbA)が単離・同定された<sup>7), 8)</sup>。水晶共振子マイクロバランス(QCM)測定法により, CutL1は, PBSA表面上でRolAと複合体を形成することにより, 酵素分解の効率を上昇させていることが推定されている。

ポリエチレンサクシネート(PESu)は, 細菌 *Pseudomonas stutzeri* 由来のP(3HB)分解酵素あるいは, 真菌 *Penicillium funiculosum* 由来P(3HB)分解酵素(PhaZ<sub>Pfu</sub>)によって良好な分解性を発現する<sup>9), 10)</sup>。PhaZ<sub>Pfu</sub>の立体構造は, 理化学研究所, 群馬大学, および神奈川大学の研究グループにより明らかにされている(図1)<sup>11)</sup>。PhaZ<sub>Pfu</sub>は, リパーゼのような活性部位周りにリッド構造を持たず, 活性残基(セリン(Ser), ヒスチジン(His), アスパラ酸(Asp))は疎水残基に囲まれたへこみ(クレバス)に位置していた。クレバスは, サブサイト構造を形成しており, これらの配置が,

3-ヒドロキシブタン酸ユニットだけでなく, PESu構成ユニットを認識している可能性がある。一方, 我々は, 様々な環境中からPESu分解微生物群を単離した。これらの分解微生物群のうち, 真菌類は, P(3HB)分解真菌類と高い類似性を示すことがわかった。また, すべてのPESu分解真菌類は, P(3HB)分解酵素活性を有しており, 自然環境中において, これらの真菌類がP(3HB)分解酵素により, PESuを分解していることが示唆された<sup>11)</sup>。



図1 真菌 *P. funiculosum* 由来P(3HB)分解酵素の高次構造<sup>11)</sup>

#### 4. ポリカプロラクトン分解酵素

脂肪族ポリエステルは, 自然界に広く分布している。その例として, 植物のクチクラを形成するクチンやスペリンなどがある。クチンに類似した構造をもつポリカプロラクトン(PCL)は, 微生物が生産するP(3HB)と同様に, 環境中にその分解微生物が多く分布している<sup>12)</sup>。

*Penicillium* sp. 14-3 由来のPEA分解酵素は低分子量のPCLを分解した<sup>3)</sup>。また, 土壌から単離された *Penicillium* sp. 26-1 は, 分子量25,000のPCLを分解し, その分解産物のひとつは, ε-ヒドロキシカプロン酸であった<sup>13)</sup>。さらに, さまざまなリパーゼによるPCLの分解が調べられた結果, PCLがリパーゼによって分解されることがわかった。

植物病原性真菌である *Fusarium* 属由来のクチン分解酵素とPCL分解酵素との関係が調べられている。 *Fusarium solani* f. sp. *pisi* の野生株とクチン分解酵素遺伝子をもたない変異株とを比較したところ, 唯一の炭素源としてPCLを与えた場合, 野生株はPCLを分解および資化(資源化)したが, 変異株はPCLを分解しなかった。また, この際, 野生株では, その上清にクチン分解酵素が分泌され, PCL加水分解活性が認められたが, 一方, 変異株ではPCL加水分解活性が認められなかった。さらに, クチン分解酵素の誘導物質に類似した構造をもつPCLオリゴマーの存在下で生育

させたとき、野生株ではクチン分解酵素が分泌され、PCL加水分解活性が認められたが、変異株では認められなかった。これらのことから、*Fusarium* 属由来のクチン分解酵素は、PCL分解酵素であると結論づけられている<sup>14)</sup>。

*Fusarium solani pisi* 由来のクチン分解酵素は、活性中心に Ser, His, Asp のカタリティックトリアドを含むセリン加水分解酵素であり、 $\alpha$ -ヘリックスと $\beta$ -シートから構成される $\alpha$ - $\beta$ タンパク質である。本酵素の活性中心付近には、リパーゼとは異なりリッドは存在せず、オープンな構造をとる。クチン分解酵素による基質分解は、クチンが固体脂肪族ポリエステルであるため、リパーゼがトリアシルグリセロールを分解する際のような、リッドを介した界面活性化作用の必要がない。クチン分解酵素は、この様な構造上の特徴から、リパーゼとエステラーゼの中間的な酵素であると考えられている<sup>15)</sup>。

## 5. ポリ乳酸分解酵素

ポリ乳酸(PLA)は、元来、その酵素分解性よりも、非酵素的加水分解が注目されており、主に生体吸収材料として研究開発されてきた。最近になって、乳酸からの直接重合法が開発され、大量生産可能となり、生分解性高分子材料として注目されるようになった。しかしながら、PLAの環境分解や酵素分解は非常に遅く、一般的な生分解性高分子材料として捉えるには、やや無理があることがわかってきた。このような背景から、PLAは「生分解性プラスチック」というよりは、そのモノマーである乳酸が、デンプンの乳酸菌発酵によって得られるため「植物由来プラスチック」として再認識されるようになってきている。

PLAは、一般条件化では、ほとんど生分解性を示さないものの、PLAを分解する酵素あるいは分解微生物は単離同定されている。現在までに、PLA分解酵素として報告されている酵素は、プロメライン、フィシン等の植物由来のシステインプロテアーゼ類、*Proteinase K*、サビネース等微生物由来のセリンプロテアーゼ類、ブタ腎臓由来ロイシナーミノペプチダーゼなど、全てタンパク質分解酵素に限られている<sup>16), 17)</sup>。

タンパク質分解酵素が、ポリエステルであるPLAを分解する理由として、PLAのモノマーである乳酸の構造がアラニンの構造と類似していることが挙げられる<sup>18)</sup>。また、*Proteinase K*、サビネース等は、難分解性のタンパク質であるケラチンに対する分解活性を持っており、このケラチン分解活性とPLA分解活性との相関が見い出されている<sup>16)</sup>。一方、PLA単結晶を基質とした酵素分解実験より、*Protei-*

*nase K*は、PLAの結晶領域も直接崩壊させる能力が認められている<sup>19)</sup>。

*Amycolatopsis sp. K104-1*が生産するPLA分解酵素は、精製されその性質が調べられている<sup>20)</sup>。本酵素の分子量は24kDaであり、乳化、および固体のPLAを乳酸にまで分解した。等電点はpH10であり、至適温度は55~60℃、至適pHは9.5であった。本酵素はカゼイン、フィブリン(タンパク質)に対する分解活性をもつが、トリオレイン(リパーゼの基質)、トリブチリン(エステラーゼの基質)、コラーゲンタイプI, P(3HB)、PCLは分解しない。また、本酵素は、ジイソプロピルフルオロフォスフェイト(DFP:セリン加水分解酵素の特異的阻害剤)、フェニルメチルスルフォニルフルオリド(PMSF:セリンプロテアーゼの特異的阻害剤)によって、酵素活性が阻害されるセリン加水分解酵素であった。酵素のN末端アミノ酸配列は、ミミズのフィブリンリティックプロテアーゼ、カムチャッカクラブのコラゲノリティックプロテアーゼのN末端アミノ酸配列と相同性があつた。

## 6. ポリウレタン分解酵素

ポリウレタン(PUR)は、ポリイソシアナートとジオールの重縮合により得られる。一般に、ポリエチレンやポリスチレンなどの合成プラスチックは生分解されないが、PURは微生物、とくにカビなどによって分解されることが知られている。なかでもエステル結合を有するエステルタイプのPURは分解されやすい<sup>1)</sup>。ポリエステルタイプPURの分解は、おもにエステル結合部分の加水分解によるものである<sup>21)</sup>。

PUR分解酵素は、細菌*Delftia acidovorans* TB-35から精製され、その性質や構造が調べられている。*C. acidovorans* TB-35は、土壌を微生物接種源として、固体のPURを唯一の炭素源とした集積培養法により、単離された。*C. acidovorans* TB-35由来のPUR分解酵素は、分子量62,000の単量体ポリペプチドから構成され、細胞表面に結合しているタンパク質であった。酵素の等電点はpH4.9、至適温度は45℃、至適pHは6.5であった。PUR分解酵素は固体PURのエステル結合を加水分解した<sup>21)</sup>。

本酵素はポリエステルタイプPUR、トリブチリンを分解するが、P(3HB)、トリオレインの分解活性はもたない。この結果から、PUR分解酵素は、リパーゼやP(3HB)分解酵素とは異なる基質特異性を有する酵素であることが示唆された。また、PUR分解酵素は界面活性剤の添加により、水溶性の基質の分解は阻害されないが、固体PUR分解活性が阻

害された。このことから、PUR分解酵素の固体PUR分解過程において、酵素の基質への吸着が必須であると考えられるが、基質に対して酵素を過剰に作用させても、P(3HB)分解酵素でみられるような阻害は認められなかった。

PUR分解酵素は、Ser, His, グルタミン酸(Glu)のカタリティックトリアドを含むセリン加水分解酵素であり、*Torpedo californica*のアセチルコリンエステラーゼと30%の相同性を示した。また、システイン残基の位置も一致していることから、PUR分解酵素とアセチルコリンエステラーゼは立体構造も類似している可能性がある。また、ポリペプチド鎖の中心部に基質結合ドメインと考えられる、疎水性アミノ酸残基を多く含む領域が3つ存在し、そのひとつはP(3HB)分解酵素の基質結合ドメインと高い相同性があったが、リンカー領域は存在しなかった<sup>22)</sup>。

## 7. ポリヒドロキシアルカン酸分解酵素

ポリヒドロキシアルカン酸(PHA)は、細菌によって生産されるバイオポリエステルである。PHAにおいて、モノマー単位の側鎖の長さおよび化学構造の違いにより、様々な種類の3-ヒドロキシアルカン酸ユニットが確認されている。モノマー単位の側鎖がメチル基で炭素数が4の3-ヒドロキシブタン酸ユニットからなる、ポリ(3-ヒドロキシブタン酸)P(3HB)は、もっとも代表的なPHAである。P(3HB)は、自然環境中で最も生分解しやすい生分解性プラスチックの一つで、現在までに、数多くの分解微生物が単離されており、またこれらの微生物からP(3HB)分解酵素が精製されている。P(3HB)分解酵素は、以下に示すような、いくつかの共通した生化学的性質を有している。(i)分解酵素の分子量は38,000~60,000の範囲にあり、単量体ポリペプチドから構成されている。(ii)分解酵素の等電点は、中性よりアルカリ領域に多く存在する。また、至適pHは、*Ralstonia pickettii* YM-bおよび*Penicillium funiculosum*由来の分解酵素が酸性領域にある以外全ての分解酵素においては中性からアルカリ側に存在している。(iii)分解酵素は、中性緩衝液中でDEAE(ジエチルアミノエチル残基)のような陰イオン交換体とは結合しない。一方ブチルトヨパールのような疎水性担体に対しては、非常に強く結合する。(iv)分解酵素は、幅広いpH、温度あるいはイオン強度において安定である。*Pseudomonas stutzeri*のP(3HB)分解酵素は30分間55℃の保温に対して100%活性を保持していた。(v)ジイソプロピルフルオロリン酸(DFP)あるいは、フェニルメチルスルフォニルフルオリド(PMSF)のような典型的なセリン加水分解酵素阻害剤によって失活する<sup>23)</sup>。

現在までに、幾つかのP(3HB)分解酵素遺伝子がクローニングされ、分解酵素の一次構造が明らかにされている<sup>23)</sup>。P(3HB)分解酵素は、活性残基を含む触媒ドメインと疎水性P(3HB)表面に吸着するための基質結合ドメインから構成されており、2つのドメイン間には、リンカードメインが存在する。この2元機能構造(触媒ドメイン+基質結合ドメイン)は、セルラーゼやキチナーゼなどの不溶性高分子分解酵素においても一般に見られる。この構造は、不溶性高分子分解酵素が、固-液界面という不均一反応系において、効率的に基質を加水分解するために有効であると考えられている。触媒ドメインは、活性残基としてSer, His, Aspの3残基を含み、このうちSer残基は、リパーゼボックス様ペプチド配列内に存在する。

P(3HB)分解酵素のポリエステルに対する基質特異性は、リパーゼのそれと比較するとずっと厳密であり、基質が以下の条件を満たす場合のみ酵素分解できる。ポリエステル側鎖は、メチル基以下であり、かつ酸素原子間の主鎖の炭素数は、3あるいは4である<sup>9)</sup>。このような厳しい基質特異性は、PhaZ<sub>Phu</sub>の立体構造から得られる情報より、疎水残基で囲まれている活性中心を含む疎水ポケット構造が、大きく影響していると考えられる<sup>11)</sup>。

細菌*Delftia acidovorans* YM1609および*R. pickettii* T1由来のP(3HB)分解酵素の基質結合ドメインとグルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)酵素との融合タンパク質が作成され、その性質が調べられた<sup>9), 24)</sup>。その結果、基質結合ドメインは、P(3HB)に対してだけでなく、酵素の分解活性がないPLAあるいは、PCL等のポリエステルにも結合したが、セルロース、キチン、ポリプロピレン等には結合しなかった。このことより、基質結合ドメインが、ポリエステルと何らかの特異的な相互作用により結合していることが示唆された。また、同時に、基質結合ドメインが触媒ドメインと独立して基質認識をしていることも示された。

P(3HB)は、P(3HB)分解酵素により、3HB三量体、ダイマーあるいはモノマーにまで加水分解され、三量体より大きいオリゴマーは生成しない<sup>26)</sup>。これらの3HB三量体あるいはダイマーを加水分解する3HBオリゴマー加水分解酵素も、数種類の細菌から単離精製されている<sup>25)</sup>。

P(3HB)分解酵素以外のPHA分解酵素として、ポリ(3-ヒドロキシオクタン酸)(P(3HO))を分解する細菌*Pseudomonas fluorescens* GK13由来のP(3HO)分解酵素が知られている。本酵素は分子量26,000であり、酵素タンパク質は、活性Ser残基を含むリパーゼボックス様配列を含んでいた<sup>27)</sup>。

## 8. 脂肪族—芳香族ポリエステル分解酵素

脂肪族ポリエステルは、酵素分解を受けやすいけれども、必ずしも優れた物性を発揮しない。一方、ポリエチレンテレフタレート (PET) のような芳香族ポリエステルは、優れた物性を有するけれども、ほとんど生分解性を示さないことが知られている。Muller らは、芳香族の割合の低い脂肪族—芳香族ポリエステル (BTA ポリエステル, テレフタル酸 : アジピン酸 = 40 : 60, をブタンジオールユニットで連結した構造) が、耐熱性放線菌 *Thermobifida fusca* によって、生分解することを見出した<sup>28)</sup>。 *T. fusca* の培養液から精製された BTA ポリエステル分解酵素は、28,200 の分子量を有しており、短鎖のトリアシルグリセロールや、脂肪族ポリエステル、脂肪族—芳香族ポリエステルに対して分解活性を示した。また、本酵素のアミノ酸配列は、ストレプトマイセス属由来のリパーゼと高い相同性を示すことがわかった<sup>29)</sup>。これらの結果は、生分解性高分子材料における、構成材料としての芳香族化合物の可能性を示している。

## 9. ポリビニルアルコール分解酵素

ポリビニルアルコール (PVA) は、水溶性の合成高分子であり工業的にも広く使われている。1973 年に Suzuki らによって初めて土壌から PVA 分解細菌が単離されて以来<sup>30)</sup>、その分解機構や関連酵素の研究が数多く報告されている。

PVA 分解細菌である *Pseudomonas vesicularis* PD から 2 種類の PVA 分解に関与する酵素が精製されている。PVA は、まずオキシダーゼによって酸化され、生じた酸化 PVA は、ヒドロラーゼによる加水分解により主鎖が切断される。これらの酵素を利用する生物は様々な環境中で PVA を分解することが示されている<sup>31)</sup>。

1981 年に Sakazawa らは 2 種類の細菌の共生培養で PVA が分解される事を報告している<sup>32)</sup>。共生細菌の一つは PVA を分解する *Pseudomonas* sp. strain VM15C であり、もう一方は PVA 分解菌にとって成長に不可欠な因子であるピロロキノリンキノン (PQQ) を供給する細菌である。高い PVA 分解活性を持つ PVA 分解菌 *Pseudomonas* sp. 113P3 が発見され、この細菌が PQQ の存在下で大量の PVA デヒドロゲナーゼを生産していることがわかった<sup>33)</sup>。PVA デヒドロゲナーゼは PVA 分子中に  $\beta$ -ジケトン基を導入する酵素であり、PVA 分解の最初の反応に使われる。次に酸化 PVA ヒドロラーゼ (OPH) が酸化 PVA 中に含まれる  $\beta$ -ジケトン基の部位を加水分解する。これらの反応により PVA は分子の主鎖がランダムに切断される。こ

のように *Pseudomonas vesicularis* PD で見ついているオキシダーゼとヒドロラーゼは *Pseudomonas* sp. strain VM15C もしくは *Pseudomonas* sp. 113P3 の PVA デヒドロゲナーゼ、OPH と同じ働きをする酵素であり、どの細菌も同じ経路で PVA を分解することが示された。

*Pseudomonas* sp. strain VM15C の一般的な PVA 酸化酵素である PQQ-依存性 PVA デヒドロゲナーゼが膜面分から見つかっている。最近、この酵素の構造遺伝子である *pvaA* がクローニングされ、PVA 分解の 2 番目の反応で働く OPH の遺伝子 *pvaB* も同じ細菌からクローニングされた。*pvaB* 遺伝子は *pvaA* 遺伝子の下流に位置し、オペロンを形成していた。また、OPH のアミノ酸配列中にはリパーゼとの共通配列である Gly-X-Ser-X-Gly の配列が見られ、細胞外 PHA 分解酵素を含むセリン加水分解酵素と多少の類似性が見られた<sup>34)</sup>。

## 10. ポリアスパラギン酸分解酵素

ポリアスパラギン酸 (PAA) は、L-アスパラギン酸の熱重合によりできるポリスクシニルイミドの加水分解により生成する水溶性の生分解性ポリアミドである。PAA は、アスパラギン酸が  $\alpha$  あるいは  $\beta$  アミド結合で連結されている。PAA は、活性汚泥中で完全に分解することが確認されている。最近になって、PAA を分解資化できる細菌が河川水より単離され同定された<sup>35)</sup>。PAA 分解細菌 *Sphingomonas* sp. KT-1 は、5,000 以下の低分子量 PAA を分解資化できた。本細菌の PAA 分解酵素は内膜面に存在しており、精製酵素は、分解できる PAA の分子量に制限はなかった。PAA 分解酵素は、分子量 30,000、等電点 8.9、至適 pH は、10.0 であった。また、本酵素は、pH6~10.5 の間で安定に活性を保持していた。本酵素は、40℃で 3 時間のインキュベーションにより 100% の活性を保持していた。本酵素は、セリン加水分解酵素の阻害剤である DFP あるいは PMSF により活性を阻害されたことより、セリン加水分解酵素の一種であることが示唆された。本酵素は、PAA の  $\beta$ - $\beta$  モノマー間のアミド結合を選択的に切断し、PAA オリゴマーを生成した<sup>36)</sup>。

## 11. ナイロンおよびポリエチレンの酵素分解

高分子量ナイロンは、分子間に強固な水素結合が存在するため、酵素分解性および加水分解性に対して耐性を示す。6-ナイロンオリゴマーに関しては、細菌 *Flabobacterium* sp. KI 72 の生産する 6-アミノヘキサ酸ダイマー加水分解酵素等によりモノマーに加水分解されることが知られて

いる<sup>37)</sup>。一方、白色不朽菌 IZU-154 株が、高分子量のナイロン 66 を分解できることが報告されている<sup>38)</sup>。この株により分解されたナイロン分解物は、加水分解物よりも、熱分解物に近い構造を有していた。さらに、この株から、ナイロン分解酵素が単離精製された<sup>39)</sup>。ナイロン分解酵素は、分子量 43,000、等電点 3.7 であり、ナイロン分解時に、2 価のマンガニオンおよび過酸化水素を必須とするマンガニペルオキシダーゼ (MnP) の一種であった。この酵素は、反応の過程で発生する、スーパーオキシドアニオンラジカルによりラジカル連鎖反応を開始させ、ナイロン 66 の C-C 結合を切断していると推定される。また、IZU-154 株が生産する MnP は、ポリエチレンも分解することがわかった<sup>40)</sup>。MnP は、元来リグニンを分解する酵素群のひとつとして研究されてきたものである。これらのリグニン分解酵素群は、基質であるリグニンが C-C 結合によって形成される 3 次元ネットワーク高分子であるため、非特異的なラジカル連鎖反応により分解を行っている。これらのリグニン分解酵素群を用いることにより、従来、難分解性とされてきた高分子も分解可能となる可能性がある。

## 12. おわりに

以上、代表的な生分解性高分子の酵素分解について、主に酵素側から概観してきた。生分解性高分子のうち、固体プラスチックでは、その化学構造(1次構造)のみならず、より高次の構造(2,3次構造)も、酵素分解性に対して大きな影響を及ぼしていることが知られている。このことは、ある種の酵素が、対応する生分解性高分子のオリゴマーあるいは、乳化体を加水分解するからといって、必ずしもその高分子固体を分解するとは限らないことを意味している。低分子化合物とは違い、高分子ではその物理性状により様々な多様性が発生し、このことが、酵素分解性に大きく影響を及ぼすこととなる。この点は、生分解性高分子の材料設計において考慮されるべきであろう。

## 引用文献

- 1) Darby, RT, Kaplan, AM. : *Appl. Microbiol.*, **6**, 900 (1968)
- 2) Mukai, K, et al. : *Biotechnol. Lett.*, **16**, 601 (1993)
- 3) Tokiwa, Y, et al. : *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 265 (1977)
- 4) Kitakuni, E, et al. : *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**, 941 (2001)
- 5) Uchida, H., et al. : *FEMS Microbiol. Lett.*, **189**, 25 (2000)
- 6) Maeda, H., et al. : *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **67**, 778 (2005)
- 7) Takahashi, T., et al. : *Mol. Microbiol.*, **57**, 1780 (2006)
- 8) Ohtaki, S., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**, 2407 (2006)
- 9) Kasuya, K., et al. : *Int. J. Biol. Macromol.*, **24**, 329 (1999)
- 10) Miyazaki, S., et al. : *J. Polym. Environ.*, **8**, 175 (2000)
- 11) Hisano, T., et al. : *J. Mol. Biol.*, **356**, 993 (2006)
- 12) Tangseengco, ML., et al. : *Chem. Lett.*, **24**, 1043 (1998)
- 13) Tokiwa, Y., et al. : *J. Ferment. Technol.*, **52**, 393 (1974)
- 14) Marphy, CA., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 456 (1996)
- 15) Martinez, C., et al. : *Nature*, **356**, 615 (1992)
- 16) Oda, Y., et al. : *J. Polym. Environ.*, **8**, 29 (2000)
- 17) Williams, F. : *Eng. Med.*, **10**, 5 (1981)
- 18) Pranamuda, H., et al. : *Biotechnol. Lett.*, **21**, 901 (1999)
- 19) Iwata, T., et al. : *Macromolecules*, **31**, 2461 (1998)
- 20) Nakamura, K., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 345 (2001)
- 21) Akutsu, Y., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 62 (1998)
- 22) Nakajima-Kambe, T., et al. : *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **51**, 134 (1999)
- 23) Jendroseek, D., et al. : *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **46**, 451 (1996)
- 24) Kasuya, K., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 4844 (1996)
- 25) Shirakura, Y., et al. : *Biochim. Biophys. Acta.*, **880**, 46 (1986)
- 26) Ohura, T., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 189 (1999)
- 27) Schirmer, et al. : *J. Bacteriol.*, **176**, 7065 (1994)
- 28) Kleeberg, I., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 1731 (1998)
- 29) Kleeberg, I., et al. : *Biomacromol.*, **6**, 262 (2005)
- 30) Suzuki, T., et al. : *Agri. Biol. Chem.*, **37**, 747 (1973)
- 31) Sakai, K., et al. : *Agri. Biol. Chem.*, **45**, 63 (1981)
- 32) Sakazawa, C., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 261 (1981)
- 33) Hatanaka, T., et al. : *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 1813 (1995)
- 34) Shimao, M., et al. : *Microbiology*, **146**, 649 (2000)

- 35) Tabata, K., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 4268 (1999)
- 36) Tabata, K., et al. : *Biomacromol.*, **2**, 1155 (2001)
- 37) Neguro, S., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 461 (2000)
- 38) Deguchi, T., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 329 (1997)
- 39) Deguchi, T., et al. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 1366 (1998)
- 40) Iiyoshi, Y., et al. : *J. Wood Sci.*, **44**, 222 (1998)
- 41) Ishii, N., et al. : *Polym. Degrad. Stab.*, **92**, 44 (2007)



---

粕谷健一：1997年東京工業大学大学院生命理工学研究科バイオテクノロジー専攻博士課程修了。博士(工学)。1995～1997年学術振興会特別研究員。1997～1998年理化学研究所高分子化学研究室基礎科学特別研究員。1999年群馬大学工学部生物化学工学科助手。2005年同大学助教授。(趣味：ルアーフィッシング。)

---

---

#### 要 旨

本稿では、酵素加水分解に絞って解説する。はじめに、生分解性高分子の酵素分解性について概観し、さらに各々の生分解性高分子分解酵素について詳説する。

---

#### Abstract

This review describes enzymatic degradations of biodegradable plastics. Several types of biodegradable plastic-degrading enzymes are introduced.

---