特集・生物利用新技術研究シンポジウム（第4回）より

微生物共生系による合成ポリマーの分解

河合 富佐子*

1. はじめに

自然界は様々な生物の共生の世界であるので、純粋培養は実験室内の人工的な環境でしか存在しない。近代微生物学において純粋培養の果たした役割は根本的及び画期的なものであると同時に、純粋培養なくしては現在のバイオテクノロジーや分子生物学の発展はありえなかった。物質分解や環境浄化の観点からみると、分解代謝に必要な酵素系が一つの菌体内に全て備わっている場合には純粋培養で分解代謝が成立する。しかし、難分解性物質のほとんどが人為起源物質であり、環境中の微生物がこれらに対して分解系を備えている可能性は低いと考えられるので、純粋培養で分解が完結するとは限らない。もし、それぞれの分解代謝酵素が別の微生物に存在する場合には、これらを組み合わせることで分解系が完結する。従って、難分解性物質の分解には必ずしも純粋培養である必然性はなく、むしろ純粋培養の限界があるように思われる。

実際に、自然界ではすべて共生系で物質循環が行われて、これらが調和した形で存在すると考えられる。現在実用化されている活性汚泥その他の浄化システムはいわば自然の循環システムを活用したものである。

合成ポリマーは使用量からみて、環境放出物質として十分考慮する必要がある。これらの分解微生物をスクリーニングする過程でいくつかのポリマーが混合培養系でのみ分解されるという現象が認められた。これらが分解能を発揮するためには、いずれも2種類の細菌が必須であった。

2種類の微生物共生系に関しては、オダムの分類がよく知られている(表1)。オダムの分類等に従っ

表1. 微生物間の相互関係（オダム）

		微生物	
		A	B
協調的關係（受益關係）	相利共生	+	+
	原始協同	+	+
	片利共生	+	0
中立的關係	不偏關係	0	0
敵對的關係（有害關係）	片害作用	—	0
	競争	—	—
	寄生	+	—
	捕食	+	—

+：利益を得る

0：利益も不利益もない

—：不利益をこうむる

て、このような微生物共生系のメカニズムを解明することは、今後の分解系の開発に重要と考えられる。以下に混合培養系による合成ポリマーの分解2例を紹介する。

2. 実験方法

2.1 微生物および培養

PEG20,000資化性混合培養系E-1は *Sphingomonas terrae* および *Rhizobium sp.* から構成される¹⁾。培養系は混合培養をPEG6000寒天斜面に保存した。

PEGフタル酸ポリエステル資化系はPEG資化菌 (*Sphingomonas sp.* K1またはN6) およびフタル酸エステル資化菌 (*Comamonas acidovorans* N2(K2)) から構成される。それぞれの菌をPEGおよびジブチルフタル酸寒天斜面に保存した。これらを別々にそれぞれの生育炭素源で生育させた培養液を、ポリエステル培地に同時に植菌した。また、ポリエステル生育混合培養系を同培地に植え継いだ。

2.2 分析方法

PEGおよびポリエステルは以下の条件下でGPCで分析した。：トーソー液体クロマトグラフ HLC

* 神戸商科大学
Fusako KAWAI

-8020; 検出, RI; 使用カラム, TSKgel G5000PW_{XL} - G4000PW_{XL} - G3000PW_{XL} - G2500PW_{XL}, 各7.8mm x30cm; 溶離液, 0.1M NaCl; 流速, 0.7ml/min; 分析温度, 40°C; 分子量標準, トーソーポリエチレンオキシド.

菌の生育は610nmの吸収から比濁法で測定した.

3. 結 果

3.1 混合培養系による PEG の分解²⁾

PEG 培地で生育中の構成菌の消長から真の PEG 分解菌は *S. terrae* であることは明らかである (図-1). *Rhizobium sp.* は分解そのものには関与しないが, 分解をコントロールしていると考えられた. このような菌は主菌の生育因子を分泌して主菌の生育を助け, 自らは主菌の代謝物を生育源として受け取り, 全体として共生系が成立する場合が多い. しかし, *Rhizobium sp.* の培養液を添加しても *S. terrae* 単独では PEG に生育しないことから, 栄養因子の関与は否定された. 他方 PEG の代謝過程で生産されるグリオキシル酸が共生系の生育阻害を示したことから, グリオキシル酸の影響を調べた. グリオキシル酸は PEG が細胞内主要代謝経路に入るための実際の代謝中間物質ではあるが, 濃度が高いと PEG の分解が阻害された.

Rhizobium sp. は PEG の分解には直接関与しないが, 代謝物であるグリオキシル酸等に生育可能であ

る. その結果グリオキシル酸濃度が低下して, 共生系全体の PEG の代謝が進行する. 代謝中間物質による生育阻害はよくみられる現象であるが, 共存菌が阻害物質を除去するという一種の解毒機構が働いて, 代謝がスムーズに進行すると考えられる.

3.2 混合系によるポリエステルの分解^{3,4)}

PEG-フタル酸ポリエステルは分子内にエーテル結合とエステル結合を含むいわばコポリエステルエーテルである. この物質を単一炭素源として土壤, 活性汚泥から資化分解菌をスクリーニングした結果, 培養系 K および N がえられた. これらはそれぞれ 2 種類の細菌から構成され, K の構成菌は *Sphingomonas sp.* K1 および *C. acidovorans* K2 と, また N の構成菌は *Sphingomonas sp.* N6 および *C. acidovorans* N2 と同定された. *Sphingomonas sp.* K1 は PEG4000 資化性菌で, *Sphingomonas sp.* N6 は PEG20,000 資化性菌であった. 3.1 の場合とは異なり, PEG20,000 も単独菌で分解される. これらを混合培養系 E-1 と置き換えても共生系は成立し, この場合は 3 種類の菌による共生系ということになる. *C. acidovorans* K2 および N2 は菌学的には同一で, 共にフタル酸エステル資化菌であった. GPC 分析による分解過程の追跡から, ポリエステルの分解は図-2 のように進行した. 分解されて生成する PEG 及びフタル酸は完全に資化分解された. 結局, ポリエステルはこれらの混合培養系で完全に無機化される. この例は異なる構造が異なる資化菌で分解されたことになるので, いわば代謝系を分担した形の共生ということがいえる.

4. ま と め

異なるメカニズムの共生系が合成ポリマーの分解

図-1 混合培養系 E-1 の PEG6000 生育時における構成菌の変化 生育; ○, 残存 PEG; ●, *S. terrae* 生菌数; △ (単位 10^9), *Rhizobium sp.* 生菌数; ▲ (単位 10^8)

図-2 PEG-フタル酸ポリエステルの共生的分解機構