

# ポリイソプレン分解酵素系を用いた天然ゴム廃棄物の再資源化技術の確立

長岡技術科学大学 技学研究院 物質生物分野 笠井 大輔

## 【略歴】

2006年3月 長岡技術科学大学大学院 工学研究科博士後期課程修了 博士（工学）  
2006年4月 日本学術振興会 特別研究員  
2007年4月 長岡技術科学大学 工学部 助教  
2014年4月 ヴェストファーレンヴィルヘルム大学（ドイツ）客員研究員（2015年3月まで）  
2017年4月 長岡技術科学大学 技学研究院 准教授 現在に至る

## はじめに

ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)を主成分とする天然ゴムは、幅広い分野で利用される不可欠な資源であり、その年間消費量は約1,000万t(全ゴムの約40%)にのぼる。我が国の産業においても特に重要な自動車用タイヤには30%程度の天然ゴムが含まれている。しかし、それらの廃棄物の殆どは燃焼や埋立てによって処理されており、廃棄物の再利用は極め限定的である。また、海洋へのタイヤ成分等の流出は、海洋中のマイクロプラスチックの約3割を占めると試算されており、それら廃棄物による環境負荷が懸念されている。これまでに我々は、環境負荷の小さい廃棄物処理技術の開発を目指して、天然ゴムを分解・資化する細菌を発見してきた。そして、ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)分解酵素がポリ(*cis*-1,4-イソプレン)をオリゴイソプレンアルデヒドへと低分子化することを突き止めた。本研究では、天然ゴム廃棄物の再資源化技術の確立を目指して、天然ゴムの主成分であるポリ(*cis*-1,4-イソプレン)の分解に関わる酵素の機能解明と強化を行い、天然ゴム廃棄物の効率的変換系を構築することを目的とした。

## 天然ゴムの生分解経路とポリ(*cis*-1,4-イソプレン)分解酵素

これまでに、天然ゴムを唯一の炭素源として生育する複数の天然ゴム資化性放線菌を単離した<sup>3-6)</sup>。天然ゴム資化性の *Nocardia* sp. NBRC15532 株や *Rhodococcus* sp. RDE2 株は、天然ゴム由来のラテックスグロブや合成イソプレンゴムを強力に分解することができる。これらは、天然ゴムやイソプレンゴムの主成分であるポリ(*cis*-1,4-イソプレン)を酵素反応によって低分子化することで天然ゴムを資化する(図1)。これまでに、天然ゴム資化性放線菌のゲノム解析から、ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)の低分子化に関わる酸素添加オキシゲナーゼ(Lcp)を見出した<sup>2,3,6)</sup>。本酵素の機能解析から、Lcpは細胞外分泌酵素であり、ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)の炭素鎖に酸素を添加することで、ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)をC<sub>20</sub>からC<sub>50</sub>のオリゴイソプレンアルデヒドへと低分子化する酵素であることが明らかとなった<sup>2,3)</sup>(図2)。さらに、*Nocardia* sp. NBRC15532 株において、オリゴイソプレンアルデヒドの酸化分解に主要に関与するアルデヒドデヒドロゲナーゼ(ALDH14385)を特定した<sup>7)</sup>。ALDH14385は、NAD<sup>+</sup>を補酵素としてC<sub>20</sub>から

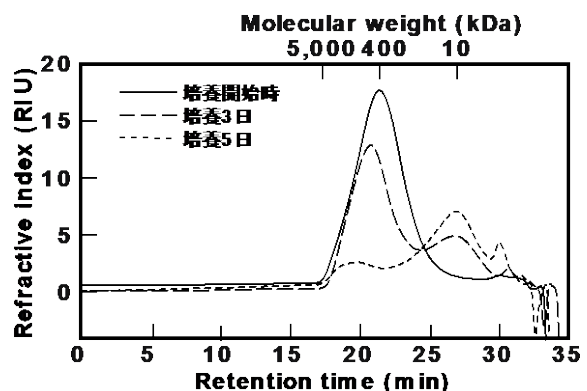


図1. NBRC15532 株によるポリ(*cis*-1,4-イソプレン)の低分子化。培養液中のポリ(*cis*-1,4-イソプレン)の分子量をゲル浸透クロマトグラフィによって評価した。培養日数の経過とともにポリ(*cis*-1,4-イソプレン)に由来する分子量ピークの減少と低分子量のピークの出現が観察された。

C<sub>30</sub>のオリゴイソプレンアルデヒドを脂肪酸へと酸化する細胞内酵素であることが明らかとなった (図2)。さらに、本反応によって生じた脂肪酸は、天然ゴム資化性放線菌のβ酸化経路によって代謝されることが示唆された。以上の結果より、天然ゴム資化性放線菌において、ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)はLcpによって細胞外で低分子化された後に、細胞内に取り込まれ代謝されることが強く示唆された。

### 天然ゴム分解酵素の発現誘導

*Nocardia* sp. NBRC15532 株や *Rhodococcus* sp. RDE2 株において、ポリ(*cis*-1,4-イソプレン)の低分子化に関わる Lcp は、天然ゴムを炭素源として生育した際に特異的に発現することが示された。特に、RDE2 株においては Lcp をコードする遺伝子の近傍に推定の転写抑制因子 (LcpR) をコードする遺伝子の存在が見出された<sup>3)</sup>。LcpR の機能を明らかにするために、精製した LcpR と *lcp* 遺伝子のプロモーター領域との結合性を調べた。その結果、LcpR は *lcp* 遺伝子のプロモーター領域に特異的に結合することが示された。さらに、LcpR の機能を欠損した変異株では、天然ゴムの存在、非存在に関わらず Lcp が構成的に発現することが明らかとなった<sup>3)</sup>。以上の結果から、LcpR が Lcp の発現を負に制御する転写抑制因子であり、天然ゴム非存在下での Lcp の発現を抑制していることが強く示唆された。

一方で、オリゴイソプレンアルデヒドから脂肪酸への変換に関与する NBRC15532 株の ALDH14385 は、構成的に発現することが示された<sup>4)</sup>。一般にアルデヒド化合物は細胞毒性を示すことから、ALDH14385 の構成的発現は、細胞内に取り込まれたアルデヒド化合物を速やかに分解するために必要なかもしれない。

### 今後の展望

これまでに、複数の天然ゴムの資化性放線菌を単離し、それらの酵素機能を明らかにしてきた。近年では、天然ゴムを分解する際に生分解性ポリマーの一種であるポリヒドロキシアルカン酸を細胞内に蓄積できる天然ゴム資化性細菌が見出されている。今後、それらの天然ゴム分解に関わる酵素系を明らかにすることで、天然ゴムを含む廃棄物からの有価物生産系の構築に貢献できる可能性がある。しかしながら、天然ゴムの資化性細菌の酵素機能を実用化するためには、酵素活性や分解能の向上が必要不可欠である。そのため今後は、遺伝子組換え技術を用いた天然ゴム資化性細菌の育種や機能改変を進めていきたいと考えている。

### 謝辞

本研究は、長岡技術科学大学 技学研究院 物質生物分野 環境微生物工学研究室において行われました。本研究に携わっていただきました先生方、共同研究者の皆様にご心より御礼申し上げます。

### 引用文献

1. Suzuki N. et al, *Microorganisms* 10(12), 2324 (2022)
2. Gibu N. et al, *J. Biosci. Bioeng.* 133(5):452-458 (2022)
3. Gibu N. et al, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 104(17):7367-7376 (2020)
4. Nguyen L.H. et al, *Biodegradation.* 31; (4-6):303-317 (2020)
5. Kasai D., *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 84(6):1089-1097 (2020)
6. Linh D.V. et al, *J. Biosci. Bioeng.* 123(4):412-418 (2017)

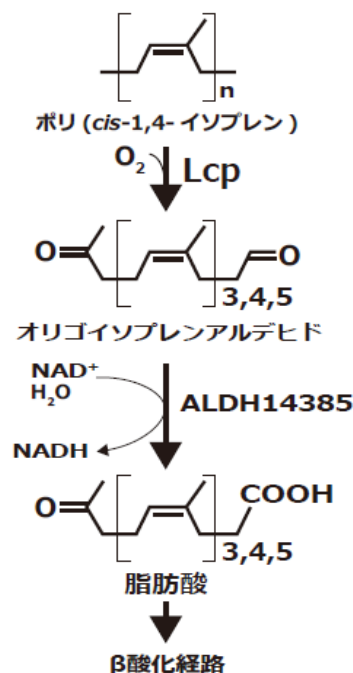


図2. Lcp と ALDH14385 が関わるポリ(*cis*-1,4-イソプレン)の低分子化経路. 低分子化された脂肪酸はβ酸化経路によって資化される。