

ポリエチレンテレフタレート (PET) の効率的な 酵素的分解のための MOF-酵素複合体の構築

(福井大院・工) ○山本弥夕、毛塚駿介、高村映一郎、坂元博昭、末信一郎

1. 緒言

近年、ポリエチレンテレフタレート (PET) による深刻な環境汚染が世界的に問題視されており、革新的な処理方法の開発が求められている。そこで注目されているのが、有害な化学物質を使用せず温和な条件下で進行する酵素による分解方法である。これまでに報告されている PET 分解酵素としては、高温域において高い PET 加水分解活性をもつ枝葉堆肥クチナーゼ (LCC) や PET 基質特異性が高い *Ideonella sakaiensis* 由来 PET 加水分解酵素 (PETase) および MHET 加水分解酵素 (MHETase) がある。これらの酵素を産業応用するには、安定性の向上や容易な酵素回収が求められ、その手段として酵素を担体へ固定化する方法がある。有機金属フレームワーク (MOF) は、金属イオンと有機配位子によって形成される錯体であり、均一な細孔を無数に有する、優れた物理化学的特性をもつという特徴から酵素を固定化するのに適した担体として注目されている。本研究では、MOF の 1 種である ZIF-8 と枝葉堆肥クチナーゼ変異体 (LCC-ICCG) の複合体 (LCC-ICCG@ZIF-8) を構築することで酵素の熱および長期安定性の向上を目的とする。本発表では、LCC-ICCG@ZIF-8 の粒子径の違いによる PET 分解活性への影響について検討した。

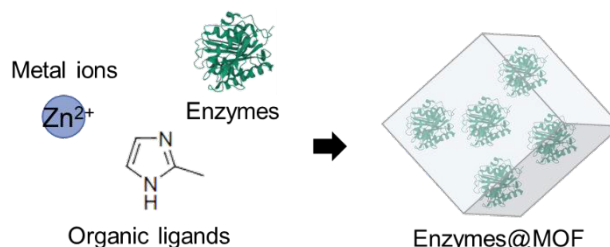


Fig. 1 Construction of MOF-enzymes complex

2. 実験

硝酸亜鉛六水和物と LCC-ICCG 溶液を混合した後、2-メチルイミダゾールを加え攪拌することで沈殿物を得た。得られた沈殿物を 10000 rpm、4°C、10 分間遠心分離を行い、上清を取り除くことで LCC-ICCG@ZIF-8 を作製した。混合の際、硝酸亜鉛と 2-メチルイミダゾールの比を 1:40 (micro LCC-ICCG@ZIF-8) もしくは 1:100 (nano LCC-ICCG@ZIF-8) とすることで、粒子サイズの異なる複合体を作製した。PET 分解試験は、1.5 ml チューブに 2.5 mM CaCl₂ を含む 100 mM HEPES buffer (pH 8.2) と非晶質 PET フィルム ($\phi = 4.5$ mm) を入れ、LCC-ICCG または LCC-ICCG@ZIF-8 を加えて 60°C で 70 時間インキュベートすることで実施した。

3. 結果と考察

作製した LCC-ICCG@ZIF-8 を SEM で観察した結果、粒子径は micro LCC-ICCG@ZIF-8 が約 1 μ m、nano LCC-ICCG@ZIF-8 が約 300 nm であった。PET 分解試験後の反応液を波長 220–300 nm の範囲で吸光度測定した結果を Fig. 2 に示す。波長 240 nm 付近に PET 分解生成物由来のピークが見られ、この吸光度から総分解生成物量を求めた結果、micro LCC-ICCG@ZIF-8 では 0.261 mM、nano LCC-ICCG@ZIF-8 では 0.451 mM となり、複合体のサイズが小さくなることで総分解生成物量が約 1.7 倍増加した。これは、複合体のサイズが小さくなったことで PET の非晶質部分に入り込みやすくなり、PET の分解量が増加したと考えられる。今後は、LCC-ICCG@ZIF-8 の熱および長期安定性試験を行い、最終的には 2 段階目の酵素である MHETase を共固定化した LCC-ICCG, MHETase@ZIF-8 の作製、評価を行う。

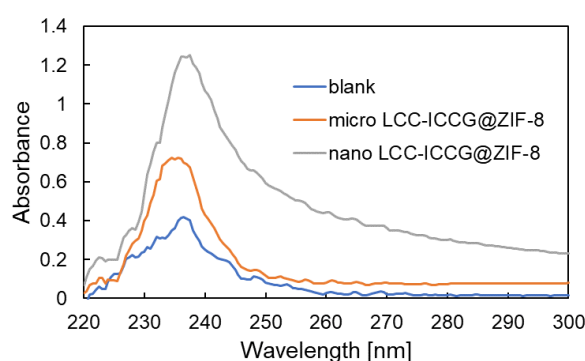


Fig. 2 UV-visible absorbance spectra showing the degradation of PET by LCC-ICCG or LCC-ICCG@ZIF-8