

スチレンオリゴマーを分解する 海水中の細菌

金沢大学 環日本海域環境研究センター
助教 本田 匡人

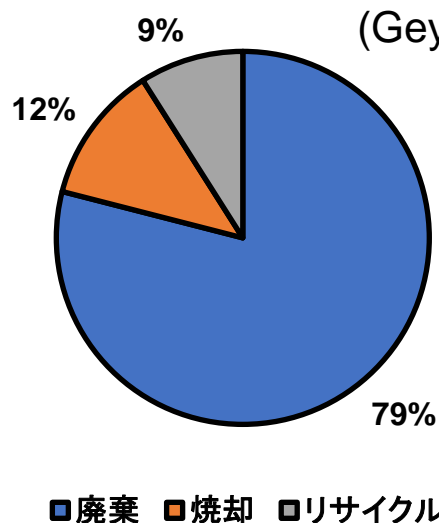
2022年8月18日

背景

世界全体のプラスチック生産量
約83億トン(1950~2015年)

以降、3億トン/年ずつ増加

(Geyer et al., Sci. Adv., 2017)



・地中への埋立

・海洋ゴミ



出典:Commonwealth Clean Oceans Alliance (CCOA)

マイクロプラスチックは**難分解性**だと信じられてきた。

実際には、分解されて海洋中に**Styrene Oligomers**が存在している。

(Kwon et al., Sci Total Environ., 2017)

(Kimukai et al., Appl. Sci., 2020)



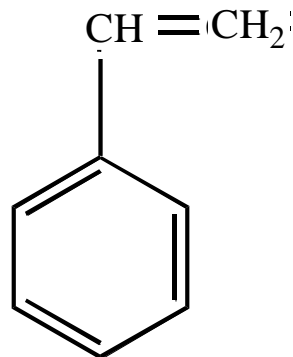
海洋生物に影響を与えている可能性が高いと考えられる。

Styrene Dimer及びTrimerは**精製が難しく、非常に高価である。**

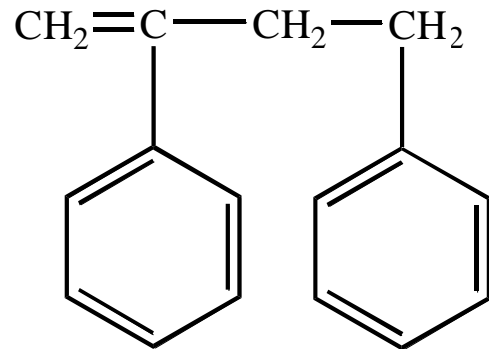
Styrene Oligomersとは？

ポリスチレン樹脂を製造する際に生じる副生成物
海水中でプラスチックが分解して生成される

Monomer

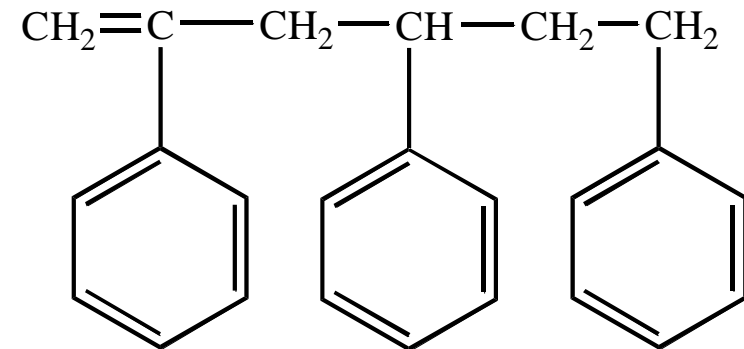


Dimer

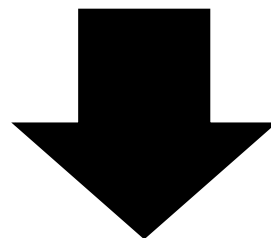


2,4-diphenyl-1-butene

Trimer

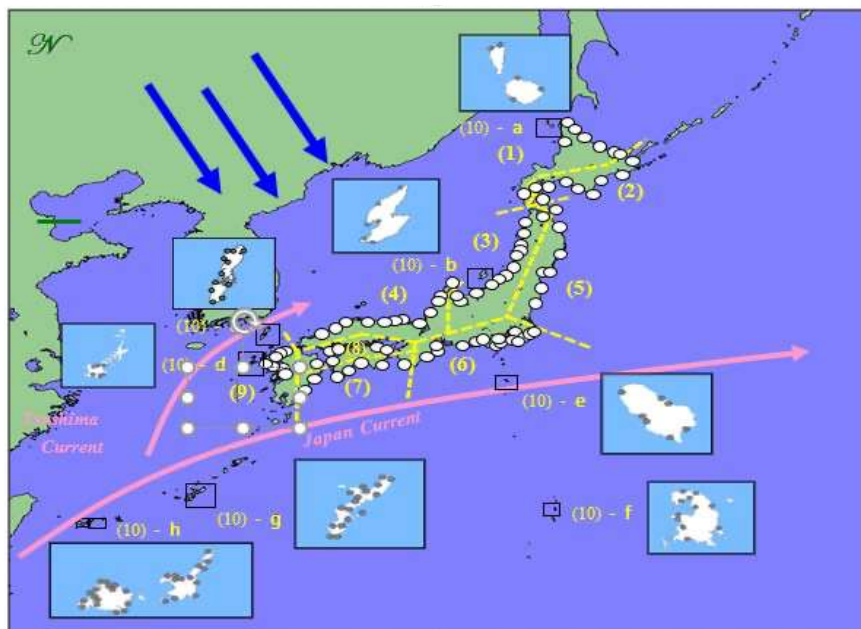


2,4,6-triphenyl-1-hexene

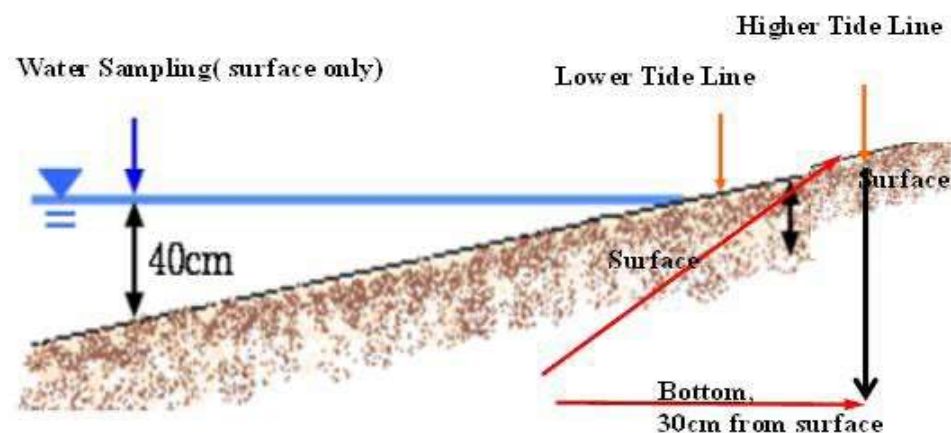


Styrene Oligomers

サンプリング方法



- 北海道(北、南)
 - 日本海(北、西)
 - 太平洋(北、中央、南)
 - 瀬戸内海
 - 九州
- 9地点でサンプリング



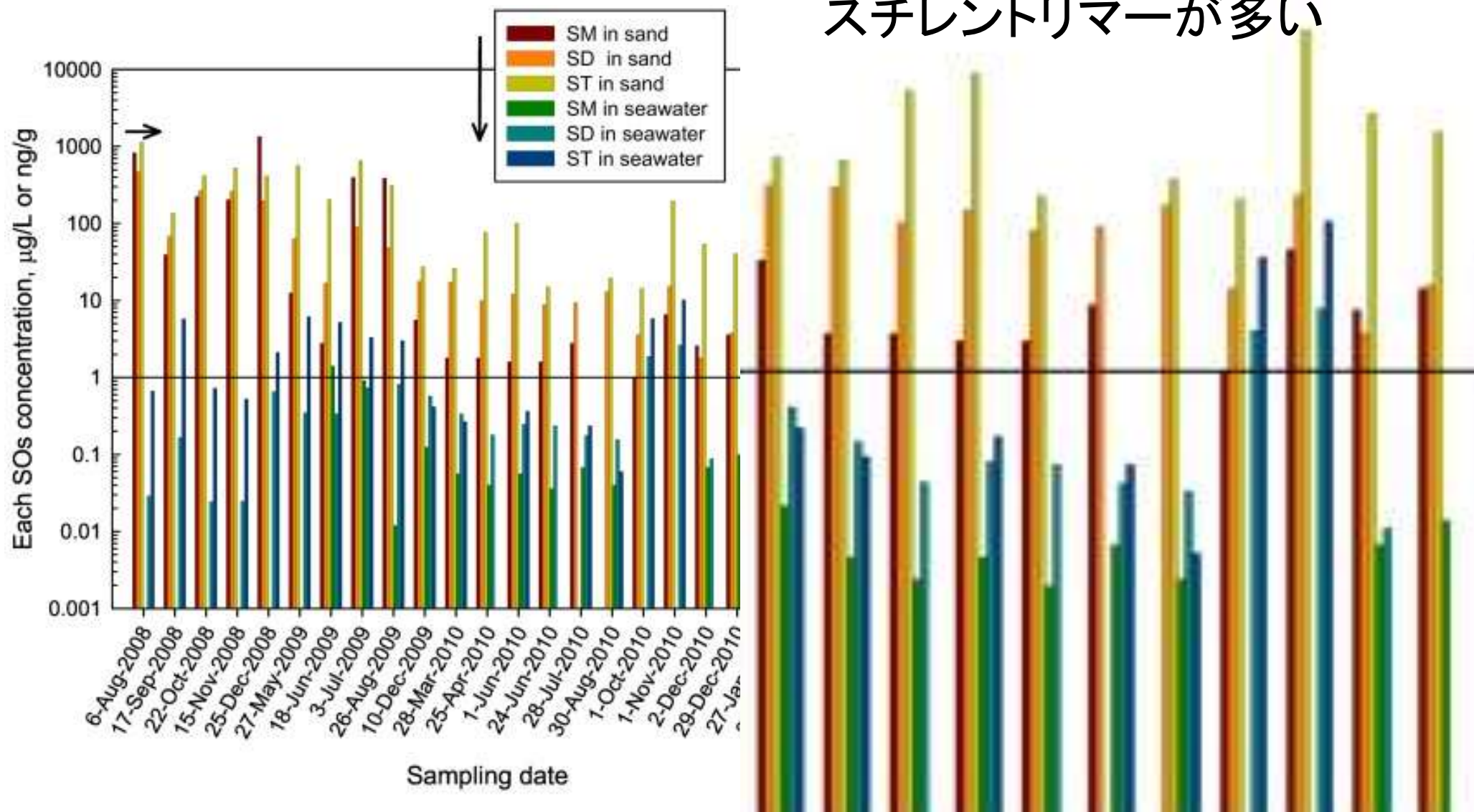
水深40 cmの地点で
2.5 Lの表層水をサンプリング

日本における海水中のStyrene Oligomersの報告

		Seawater sample/ $\mu\text{g L}^{-1}$					
		Number of samples	SM	SD	ST	SO	Standard Deviation
						Total	
1	Hokkaido-North	16	0.15	0.35	1.58	2.08	2.63
2	Hokkaido-South	15	0.38	0.29	3.88	4.55	2.08
3	Japan Sea-North	20	0.42	0.5	7.02	7.95	16
4	Japan Sea-West	20	0.08	0.21	0.35	0.65	0.4
5	Pacific-North	17	0.09	0.04	1.2	1.33	7.69
6	Pacific-Central	80	0.22	0.44	2.47	3.13	6.65
7	Pacific-South	15	0.96	0.72	6.97	8.65	3.24
8	Setonaikai and Kyushu-East	10	0.49	0.52	3.15	4.16	3.89
9	Kyushu-West	14	0.75	0.31	2.76	3.82	5.58
	Total	207	3.54	3.38	29.38	36.3	
	Average		0.39	0.38	3.26	4.03	5.4
	Ratio of SM:SD:ST		1	1	8		

東京湾でのStyrene Oligomersの報告

スチレントリマーが多い



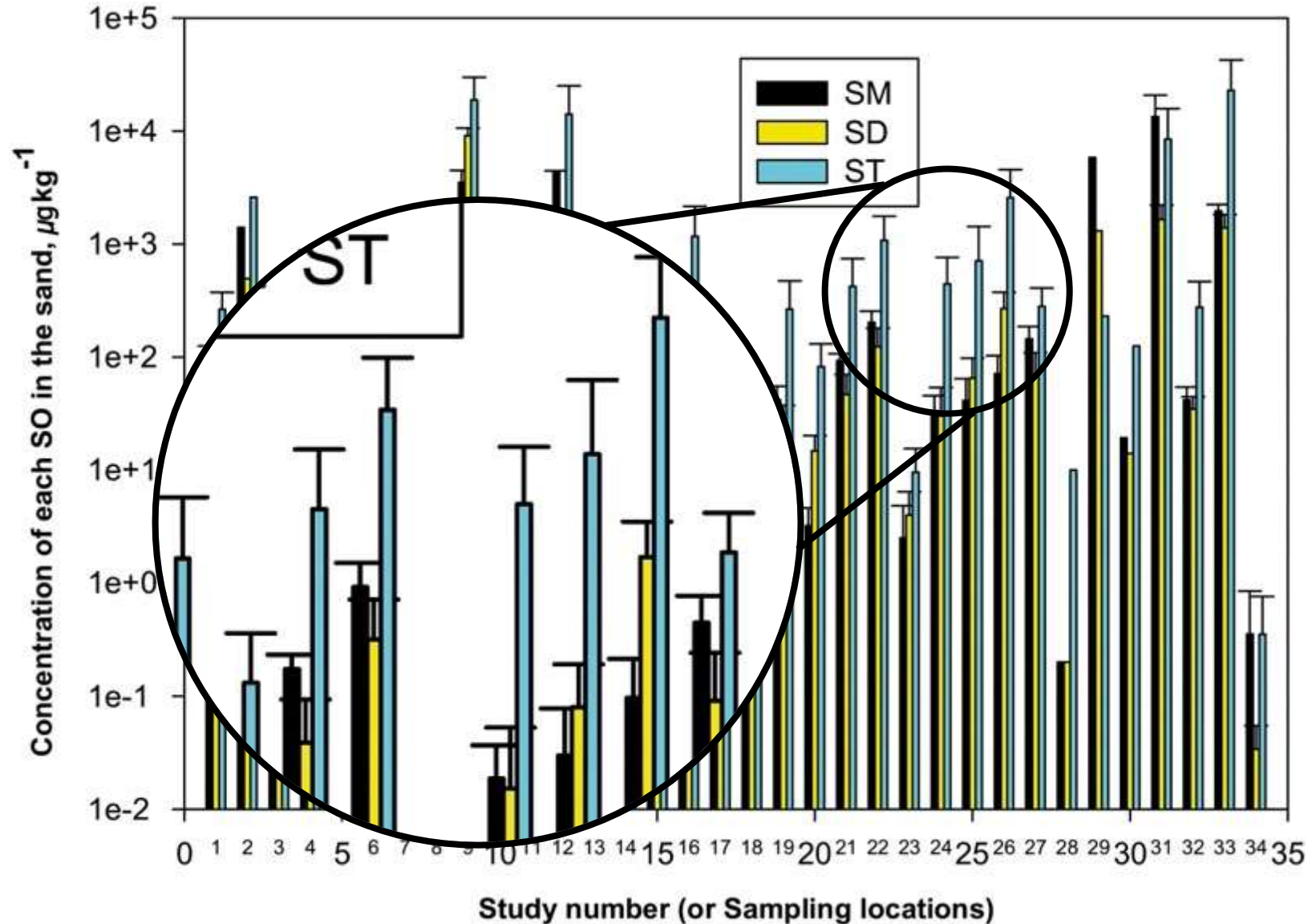
(Amamiya et al., Sci. Total Environ., 2019)

世界における海水中のStyrene Oligomersの報告

Sampling Locations	Concentration of SOs Seawater ($\mu\text{g/L}$)
Washington, USA	30.4
San Francisco, USA	22.0
Taiwan, Republic of China	13.0
Sri Lanka	11.5
Mainland, the people's Republic of china	8.9

他の海域でもStyrene Oligomersは
高濃度で存在する。

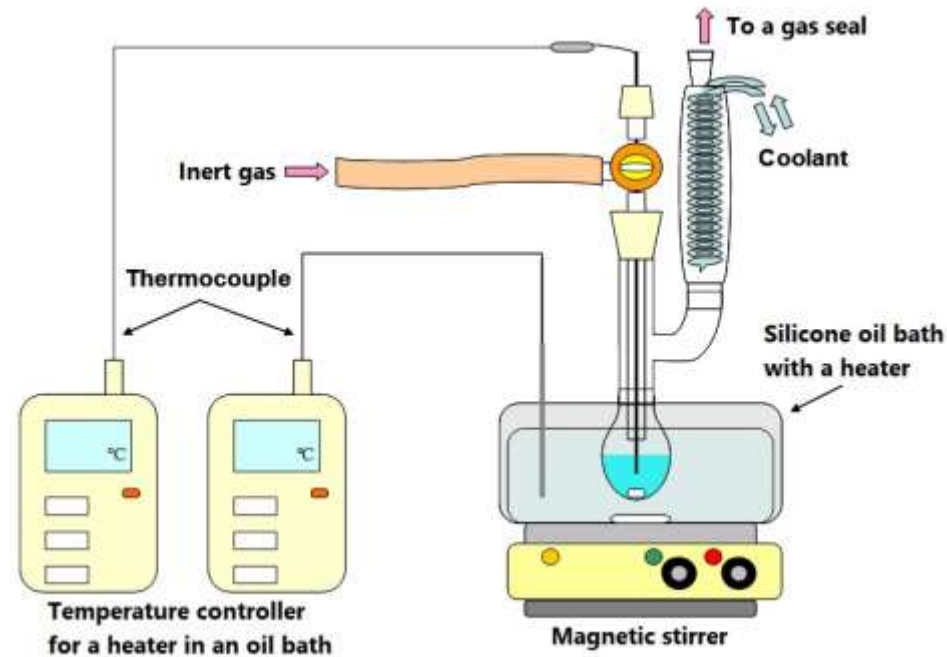
世界における海水中のStyrene Oligomersの報告2



海洋プラスチックは世界的な問題となっている。

スチレンは自然分解する

精製ポリスチレンが30～150℃で分解されることが報告されている。



(Kimukai et al., Appl. Sci., 2020)

精製ポリスチレンの分解物で最も多いのが、スチレントリマーである。

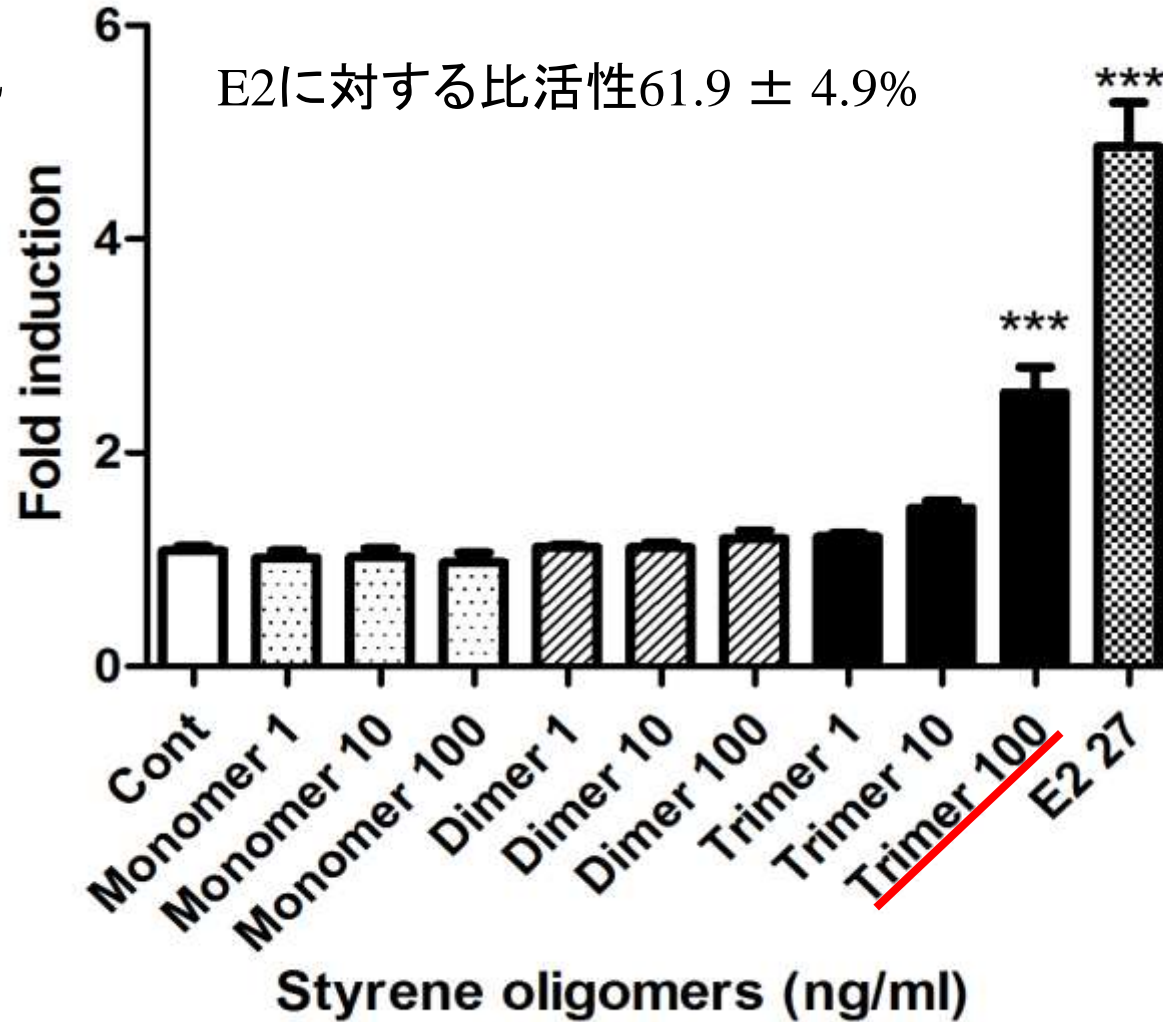
従来技術とその問題点

スチレンモノマー分解菌及びその酵素の構造は報告されている(Pu et al., Characterization of two styrene monooxygenases from marine microbes. Enzyme Microb. Technol., 2018)。

しかしながら、海洋中に多量に存在し、外因性の内分泌攪乱物質となる、スチレントリマーを分解する菌及びその酵素の構造は、これまで報告されていない。

内分泌攪乱物質：スチレントリマー

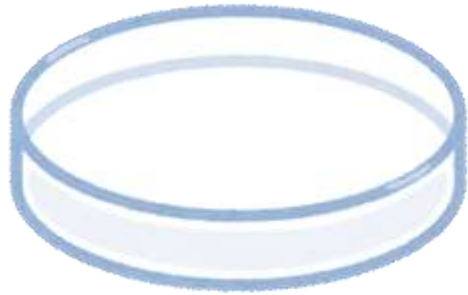
ER α



Styrene Trimerのみにエストロゲン受容体 α との結合活性が認められた。

海洋細菌のスクリーニング

1次スクリーニング

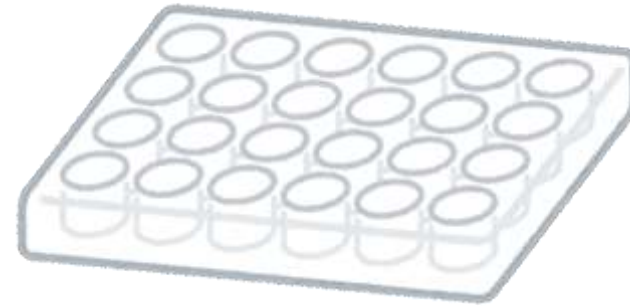


1 mg/L Styrene Oligomersのみを
添加した人工海水寒天プレート
15°Cで12日間インキュベート



発生したコロニーをPick
Upし、懸濁

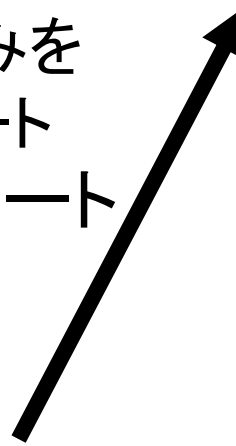
2次スクリーニング



10 mg/L Styrene Oligomersのみを
添加した人工海水寒天プレート
15°Cで12日間インキュベート



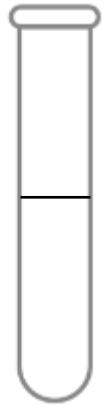
発生したコロニーをグリセロール
ストック



新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった、スチレントリマーを分解する菌を単離・同定することに成功した。
- 海水中でもスチレントリマーの分解活性を持つ塩分耐性のある新規酵素であり、塩分がある海水中でも分解が可能である。
- 低温（15℃）でもスチレントリマーの分解活性を持つ新規酵素であり、スチロールで汚染された衣服の浄化技術（新規洗剤の開発）への応用が可能である。

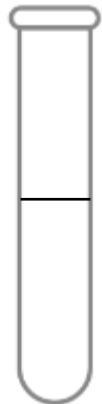
海洋細菌の増殖試験



10 mg/L Styrene
Trimer 10 mL

Trimer培養液のみ
(Control)

15°Cで24時間
振とう培養



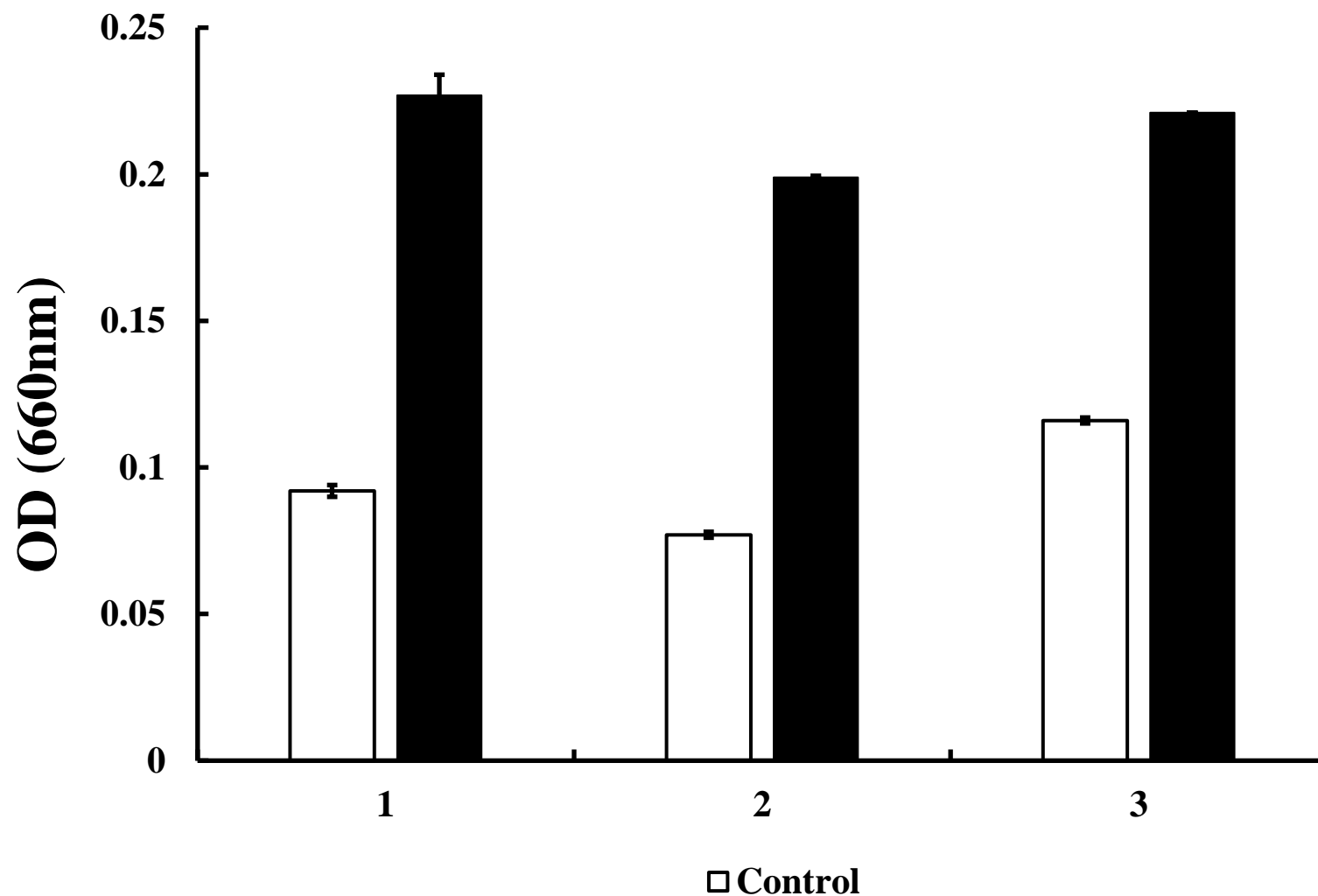
10 mg/L Styrene Trimer 10 mL
+
Sample培養液 200 μ L

実験群



濁度測定
(測定波長: 660 nm)

海洋細菌はスチレントリマーをエサにして増殖する



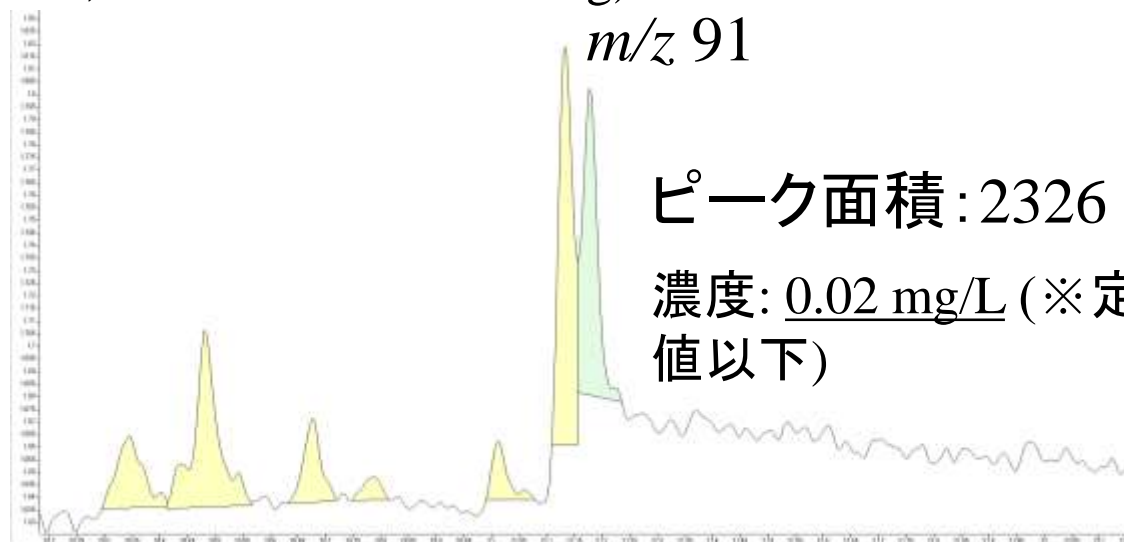
濁度の測定を3回実施し、いずれも実験群で濁度の上昇と再現性が得られた。

海洋細菌はスチレントリマーを分解する

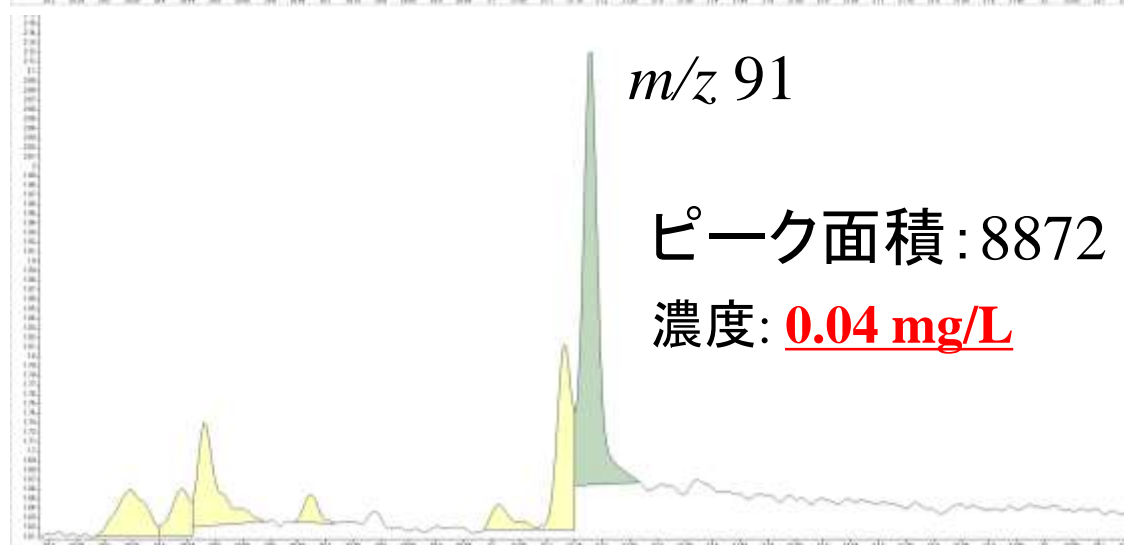
GC/MS分析(Sample-6のStyrene Dimerのクロマトグラム)

選択イオン検出 (SIM, selected ion monitoring)

Trimer培養液のみ
(Control)



Sample-6 Trimer
培養液



Styrene Trimerからの分解産物

想定される用途

- 魚類の養殖時の環境水の浄化
- プラスチック工場の排水の浄化
- マイクロプラスチックの分解・浄化
- 衣服等の洗剤の開発

*in vitro*及び*in vivo*試験により、スチレンモノマー及びスチレンダイマーではなく、スチレントリマーにのみ女性ホルモン様作用(エストロゲン活性)を見出していることから、浄化する必要がある。

実用化に向けた課題

- 現在、スチレントリマー分解菌の単離・同定を終えているが、酵素の単離を行っている最中である。
- 今後、菌の全ゲノム解析により、スチレントリマー分解酵素の遺伝子配列を決定していく予定である。

企業への期待

- 菌から酵素の単離の技術を有する企業との共同研究を希望する。
- 酵素の遺伝子の配列を決定したら、バイオリアクターによる浄化技術の共同開発をしていきたい。
- 低温(15°C)でもスチレントリマーの分解活性を持つ新規酵素なので、洗剤の開発にも応用できる可能性がある。新規酵素の探索に興味のある企業を募集する。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : スチレンオリゴマー分解方法、及びそれに用いるスチレンオリゴマー分解性細菌
- 出願番号 : 特願2022-19607
- 出願人 : 金沢大学、
一般社団法人Albatross Alliance
- 発明者 : 鈴木信雄, 河合 海,
本田匡人, 木谷洋一郎, 関口俊男,
松原 創, 道祖土勝彦

お問い合わせ先

(有) 金沢大学ティ・エル・オー

TEL 076-264-6115

FAX 076-234-4018

e-mail info@kutlo.co.jp