

壹、摘要

本實驗室於 1999 年篩選之角蛋白分解菌 *Bacillus licheniformis* THSC-1 經證實能夠有效分解雞毛等角蛋白，擴展羽毛等廢棄物之利用與營養價值；而本研究則針對 *B. licheniformis* THSC-1 產生之角蛋白分解酶進行純化、生化特性分析及基因選殖，冀望在畜牧廢棄物處理及生物轉化利用之發展有所幫助。*B. licheniformis* THSC-1 於羽毛培養基中經 50°C 振盪培養四天可產生之酵素活性最高，以此條件生產之角蛋白分解酶進行超過濾及陽離子交換層析處理可得 11.6 倍純化之酵素，活性為 4231.6 U/mg。此酵素為胞外蛋白酶，其最適作用溫度及 pH 值分別為 70°C 和 pH 8.0。此角蛋白分解酶活性可明顯被絲胺酸蛋白酶抑制劑 Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) 所抑制，故屬於絲胺酸蛋白酶；並能分解多種蛋白基質，包括酪蛋白及角蛋白基質，如實物的雞毛、羊毛、豬毛和頭髮。另外，對此角蛋白分解酶基因序列進行分析，得到長度為 1137 bp 之核酸序列，與美國 *B. licheniformis* PWD-1 之角蛋白分解酶基因序列相似度為 99%；並與 subtilisin family 中能夠分解角蛋白之 *Bacillus* 菌株有很高之同源性，故可確定 *B. licheniformis* THSC-1 之角蛋白分解酶亦屬於 subtilisin family 之成員。

貳、前言

台灣的農業目前正值結構轉變時機，畜牧生產已由企業化經營模式蛻變為科技化畜產事業，農業生技產業更成為政府未來農業發展政策執行重點，並以永續性農業發展為目標，在此前提下，利用環保生物技術來協助發展資源有效利用與保護生態環境，成為農業生技產業發展中極為重要的一個環節。

農業生產中的畜產廢棄物處理正是永續農業發展中的重要課題，以家禽生產而言，2002年台灣家禽屠宰量達4億1千隻，全年產生之羽毛廢棄物將近7萬噸（台灣統計年報，2002），然而，目前大都未予妥善處理，嚴重影響環境衛生，同時對環境生態產生不良之衝擊，直接影響到人們的生活品質。由於羽毛是主要由角蛋白組成，不含有毒物質，且潛藏豐富之胺基酸組成，為使資源充分回收利用，國外許多研究發現某些微生物能產生具有分解角蛋白能力之酵素，稱為角蛋白分解酵素（keratinase），並對此酵素作廣泛且深入之研究。經角蛋白分解酵素分解後的羽毛培養液含有多種游離胺基酸，可應用做為動物飼料添加劑及植物營養劑等，不僅解決原本造成的環境污染問題，更在不需大量成本與能量需求下，充分回收利用羽毛廢棄物中的營養物質，環保又經濟。然而傳統對羽毛廢棄物之處理大多是使用高壓蒸煮或化學藥劑處理，不僅耗費較多能源且效果不佳；過去也較少使用生

物處理法，且國內對於角蛋白分解酵素之研究相當匱乏，應用上也因此受到許多限制。

本實驗室於 1999 年自雞糞堆肥中篩選出一株具有分解角蛋白能力之細菌 *Bacillus licheniformis* THSC-1，能夠相當有效分解羽毛；故本研究針對本土菌醃 *B. licheniformis* THSC-1 產生之角蛋白分解酵素進一步分析探討，期能提高國人對角蛋白分解酵素基本特性及作用之認識，並對此酵素進行核酸序列分析，建立角蛋白分解酵素之基因資料庫；更期望藉由增加角蛋白分解酵素之瞭解，能提供國內在畜產廢棄物處理之應用上一個方向及未來學術研究之參考，以達到永續農業之終極目標。