

1Bp14 バクテリアセルロースと他の結晶性セルロースとしての挙動と諸性質

○井上 潤^{1,3}, 五十嵐 圭日子², 大熊 盛也³, 戸田 達昭¹, 和田 昌久²
⁽¹⁾シナプテック (株), ⁽²⁾東大院・農生科, ⁽³⁾理研 BRC-JCM)
 jun-ichi@synaptech.jp

【背景及び目的】セルロースは、自然界に最も豊富に存在し、天然では数十から数百本のセルロース分子鎖が集まって微小繊維を形成している。その分子鎖の数がセルロースの結晶化度に大きく影響するが、特に結晶化度の高いセルロース微結晶は高強度が期待できるとされ、樹脂やバイオプラスチック等の材料分野等で注目されている。我々はこれまでにマボヤ、シオグサのセルロース微結晶について研究してきたが、本研究では、新たに酢酸菌由来のバクテリアセルロース (BC) の結晶化度、水分散性、酵素糖化性等を調べ、他のセルロース微結晶と比較した。

【方法及び結果】BCを透過型電子顕微鏡像によって観察したところ、網目状の微小繊維構造が観察された。マボヤの外殻膜、シオグサの細胞壁、木質 (アビセル) のセルロース微結晶と比較して長時間水中に分散し続けた。FT-IR スペクトル解析により1α構造のピークが検出され、X線結晶構造解析によりアビセルの1.3倍以上の結晶化度が得られ、結晶性セルロースとしての物性を示した。子囊菌 *Trichoderma reesei* 由来の精製セルラーゼを用いて糖化処理をしたところ、より結晶化度の高いマボヤやシオグサのセルロース微結晶に近い分解曲線を得た。また、シロアリ腸内微生物の粗酵素液を用いたところ、マボヤ及びシオグサ由来のセルロース微結晶の分解は一定の分解率で止まるのに対し、BCは100%分解された。

これらの結果から、BCは高い結晶性を有しかつ生分解性に優れ、環境負荷の小さいポリマー材料等の候補になり得ると考えられた。

Characteristics of bacteria cellulose as crystalline cellulose

○Jun-ichi Inoue^{1,3}, Kiyohiko Igarashi², Moriya Ohkuma³, Tatsuki Toda¹, Masahisa Wada²
⁽¹⁾Synaptech Inc., ⁽²⁾Dept. Biomat. Sci., Univ. Tokyo, ⁽³⁾RIKEN BRC-JCM)

Key words cellulose, cellulase, *Trichoderma* sp., termite

1Bp17 酵母によるバイオマスからのグルタチオンの直接発酵

○原 清敏¹, 吉田 秀世², 桐山 健太郎², 金 松希², 荻野 千秋², 近藤 昭彦²
⁽¹⁾神戸大院・自科, ⁽²⁾神戸大・工・応化)
 akondo@kobe-u.ac.jp

グルタチオンは、抗酸化作用、解毒作用などの機能を持つトリペプチドで、医療、食品産業等、様々な分野で需要が高まっている。現在、グルタチオンは主に酵母を用いた発酵法で生産されている。本研究では、安価で再生可能資源であるバイオマスから直接的にグルタチオンを発酵生産するプロセスの開発を目的とした。

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を宿主とし、アミラーゼまたはプロテアーゼを細胞外分泌発現あるいは細胞表層発現させた。アミラーゼ発現酵母は、デンプンを単一炭素源とする培地にてデンプンを直接資化し、グルタチオンを生産した。また、その生産性はグルコースを炭素源とするよりも高まった。本結果から、デンプンをアミラーゼ発現酵母によって分解しながらの同時糖化発酵では、グルコースが徐々に供給されるために、高濃度のグルコース存在下で酵母の生育に悪影響を与えるクラブトリー効果が抑制されたと考えている。

一方、プロテアーゼ発現酵母を用いてタンパク質系バイオマスを分解し、グルタチオンの生産性を向上させた。本結果から、プロテアーゼ発現酵母がタンパク質系バイオマスをペプチドまたはアミノ酸に分解し、これらを取り込むことで、グルタチオンの基質となるアミノ酸が供給され、グルタチオンの生合成活性が向上したと考えている。

アミラーゼ発現酵母およびプロテアーゼ発現酵母を用いれば、デンプン質系バイオマスおよびタンパク質系バイオマスから有用なグルタチオンを高生産することが可能である。

Direct Glutathione Fermentation from Biomass by Engineered Yeast

○Kiyotaka Hara¹, Hideyo Yoshida², Kentaro Kiriya², Songhee Kim², Chiaki Ogino², Akihiko Kondo²
⁽¹⁾Grad. Sch. Sci. Tech., Kobe Univ., ⁽²⁾Dept. Chem. Sci. Eng., Kobe Univ.)

Key words glutathione, yeast, biomass, peptide

1Bp15 CBHIとCBHIIの相乗効果に及ぼす操作条件の影響

○沖野 祥平, 池應 真実, 上野 義基, 種田 大介
 (日揮株式会社)
 taneda.daisuke@jgc.co.jp

【目的】リグノセルロースバイオマスの酵素糖化技術の実用化には、製品単価に占める酵素原単位の低減が不可欠であり、その対策として使用酵素量の削減が考えられる。しかし酵素糖化において酵素使用量を低減すると、糖化速度だけでなく最終グルコース濃度(糖化率)も低下する問題点がある。当社はこれまでに、一般的な振盪条件下の酵素糖化反応を静置条件下にて行うことにより、酵素使用量を低減しても高糖化率が得られる現象を見出した。本報告では、この現象を解明するため、静置条件下のセルラーゼ挙動を解析した。

【方法と結果】セルラーゼ(セルラーゼSS((ナガセテムテックス))を0.5 vol%添加した50mM酢酸緩衝液(pH5.0)100mlを、50℃で静置、及び振盪(120rpm)した。SDS-PAGE解析の結果、振盪条件ではexoglucanaseの一つのCBHIIのバンド強度が数時間のうちに初期の約20%まで低下し、該酵素の失活が示唆された。一方で静置条件のCBHIIバンド強度は100時間以上経過後も初期の約60%を示したことから、該酵素活性が維持されていることが静置条件下で高糖化率の得られる原因と考えられた。そこでCBHIIの糖化への寄与を調べるため、CBHIIを主を含むセルラーゼ溶液、及びもう一つのexoglucanaseであるCBHIを主を含むセルラーゼ溶液を分画調製し、それらを種々混合比で混合して糖化を試みた。その結果、CBHII主液単独、及びCBHI主液単独の系と比較して、両液の混合系では相乗効果が現れ、高い糖化率が示された。従来の一般的な振盪を伴う糖化反応では、相乗効果が正しく評価されていない問題点が示唆された。本研究は(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)委託研究として実施した。

Effects of operating conditions on synergistic effects between CBHI and CBHII

○Shohei Okino, Makoto Ikee, Yoshiki Ueno, Daisuke Taneda
 (JGC Corporation)

Key words cellulase, synergistic effect, cellobiohydrolase

1Bp18 アメフラシのセルロース消化システム解析

○富永 景子¹, 池田 千佳², 近藤 あゆみ¹, 佐藤 しおり¹, 湯浅 恵造¹, 辻 明彦¹
⁽¹⁾徳島大院STS, ⁽²⁾徳島大・工・生物工)
 tsuji@bio.tokushima-u.ac.jp

海藻・植物プランクトン等は生産量が多く第三世代のバイオマスとして注目され、利用法の開発が急務である。海藻セルロースは糖化を阻害するリグニンを含まないためリグノセルロースに比べその分解は容易であると考えられる。しかし、これらは木材系バイオマスと比較してセルロース以外に複雑な多糖類を有するため酵素分解にはセルラーゼに加えて多くの多糖分解酵素が必要である。本研究では高機能セルラーゼ開発の第一歩として海藻を主食とするアメフラシ消化液に含まれるセルラーゼを精製し動物セルラーゼのユニークなセルロース分解システムについて検討した。

アメフラシ消化液より各種カラムクロマトグラフィーによりセルラーゼを精製した。結果、消化液中には20、45、65、95 kDaの4種類のセルラーゼと160 kDaのβ-グルコシダーゼが存在することが判明した。それぞれのN末端及び内部アミノ配列を決定し既報のものと比較したところ、アワビやタニシのものと高い相同性が見られた。酵素の特性解析では至適温度、至適pHの測定、粘度測定による酵素のセルロース鎖切断様式の解析、TLCによるオリゴ糖分解能解析、5種類の酵素の組み合わせによるセルロース分解機構の解析を行った。CMCに対する比活性は4種類のセルラーゼで異なっていたが、全てエンドタイプのセルラーゼであると考えられる。また、オリゴ糖分解能解析、繊維セルロースに対する相乗効果の解析より、これらの酵素は相乗的にセルロースに作用してセロビオースを産生し、最後にβ-グルコシダーゼでグルコースに分解されると推定された。

Characterisation of cellulose digestion in *Aplysia kurodai*

○Keiko Tominaga¹, Chika Ikeda², Ayumi Kondo¹, Shiori Sato¹, Keizo Yuasa¹, Akihiko Tsuji¹
⁽¹⁾Dept. of Biolsci and Tec., Univ. of Tokushima Grad., ⁽²⁾Dept. Biol. Sci. Tech., Fac. Eng., Univ. Tokushima)

Key words cellulase, enzyme, biomass