

3P-165 セルラーゼ定量における元素分析の適用性

○野中 寛, 河野 宏紀
(三重大院・生資)
nonaka@bio.mie-u.ac.jp

【背景と目的】リグノセルロースの酵素糖化プロセスにおいて、基質や残渣に吸着する酵素量の把握は不可欠である。一般的に、糖化液中のセルラーゼ量を比色定量し、差し引きにより吸着量を算出する。しかし比色法は、夾雑物の影響を受けやすく、再現性に乏しい、タンパク質によって発色率が異なる、などの問題点を有する。本講演では、タンパク質に含まれる窒素に着目し、セルラーゼ定量に対する元素分析の適用性について検討した。

【方法】タンパク質データベース Uniprot を用いて、*Trichoderma reesei*由来セルラーゼのアミノ酸配列を網羅的に取得しN%を計算した。あわせて *T. reesei*由来のセルラーゼ粉末、液体の元素(CHNS)分析を行った。

【結果と考察】配列情報より、各種セルラーゼタンパク質のN%は16～17%で、CBH1のN% (16.5%)を窒素-セルラーゼ換算係数と設定しても、定量値に大きな誤差を生じないことが推測された。セルラーゼ粉末、液体の元素分析によりえられたN%、換算係数を用いて算出したタンパク質含量は、Bradford法を採用してBSA基準で求めたタンパク質含量の2~3倍となった。*T. reesei*セルラーゼの発色率がBSAより著しく低いことを意味するデータであり、さらに精査を進めている。

Applicability of elemental analysis for quantification of cellulase

○Hiroshi Nonaka, Hiroki Kawano
(Grad. Sch. Biores., Mie Univ.)

Key words *Trichoderma* sp., cellulase, enzymatic hydrolysis, elemental analysis

3P-167 ルーメン液による草本メタン発酵前処理およびその後のメタン発酵におけるリグニン分解特性

○馬場 保徳^{1,2}, 多田 千佳¹, 福田 康弘¹, 中井 裕¹
(¹東北大院・農, ²日本学術振興会特別研究員)
ybaba@bios.tohoku.ac.jp

【背景・目的】

草本バイオマスを発酵利用する上で、リグニン分解は律速段階である。本研究では、食肉処理場で廃棄物問題となっているルーメン液（ウシ第一胃内容物）により前処理し、メタン発酵効率化を試みた。前処理によるリグニン分解効果を明らかにするために、リグニン分解率およびモデル化合物（フェノール型：2,6-dimethoxyphenol、非フェノール型：3,4-dimethoxybenzyl alcohol）の酸化能を測定した。

【方法・結果】

草本バイオマスのモデルとしてナタネの茎を使用した。ルーメン処理により、未処理区に比べて、メタン発酵後のリグニン分解率は向上した。未処理区と前処理区におけるモデル化合物の最大酸化活性を比較したところ、前処理によりフェノール型モデル化合物の酸化活性は約3倍向上した。非フェノール型モデル化合物の酸化活性は、未処理区では検出されなかったが、前処理区において検出された。ルーメン液由来の酵素もしくは微生物が、メタン発酵に持ち越されたことを示唆した。

Ligninolytic property during rumen fluid pretreatment of herbaceous biomass and the subsequent methane production process

○Yasunori Baba^{1,2}, Chika Tada¹, Yasuhiro Fukuda¹, Yutaka Nakai¹
(¹Grad. Sch. Agric. Sci., Tohoku Univ., ²JSPS research fellow)

Key words lignin, rumen, methane, pretreatment

3P-166 新規ポリエチレンテレフタレート加水分解酵素群の機能解析

○吉田 昭介¹, 小田 耕平², 宮本 憲二¹
(¹慶応大, ²京工繊大・応生)
yoshida.shosuke.5u@kyoto-u.ac.jp

【背景・目的】Poly(ethylene terephthalate) (PET) は、ボトルや衣服などの素材として広く利用されており、生分解性を持たないとされてきた。しかし近年、我々は世界に先駆け、PETを資化する新種の細菌を分離し、さらに本菌のPET資化に寄与する2種の酵素(LipA, ClgA)の同定に成功した。本研究では、これら新規酵素の詳細な機能解析を試みた。

【方法】各組み換え型酵素の活性をPETフィルムおよび、PETオリゴマー-bis(2-hydroxy ethyl) terephthalate (BHET)、mono(2-hydroxyl ethyl) terephthalate (MHET)を用いて測定した。

【結果】LipAをPETフィルムと反応させたところ、フィルム上に直径約1μmの無数の穴状分解痕が観察された。反応上清には主にMHETが検出された。また、BHETを加水分解したが、MHETをほとんど分解しなかった。一方、ClgAはMHETのみを加水分解し、非常に高い親和性(K_m=7.3 μM)を示した。これらの結果から、本菌がLipA、ClgAの働きにより、PETを効率よく分解、資化していることが示唆された。

Enzymatic characterization of novel PET-hydrolysis enzymes

○Shosuke Yoshida¹, Kohei Oda², Kenji Miyamoto¹
(¹Keio Univ., ²Dept. Appl. Biol., Sch. Sci. Technol., Kyoto Inst. Technol.)

Key words PET, lipase, esterase

3P-168 コットンセルロースのナノ解繊に対するセルラーゼの作用

○秀野 晃大¹, 阿部 賢太郎², 矢野 浩之²
(¹愛媛大院・農・紙産業, ²京大・生存研)
a-hideno@agr.ehime-u.ac.jp

【背景と目的】近年、様々な天然繊維からナノセルロースが調製され、研究開発が活発になっている。しかし、コットンから調製されたナノセルロースについては、針状のセルロースナノクリスタルに関する報告例は多いものの、糸状のセルロースナノファイバー(CNF)に関する報告例は非常に少なく、簡便な調製法が求められている。本研究では、コットンセルロースの解繊に対するセルラーゼの作用を明らかにすることを目的とし、セルラーゼ処理によるコットン繊維表面形態の変化を観察すると共に、解繊処理の前処理としてセルラーゼ処理を検討した。

【方法】開裂前の未乾燥コットンボール由来繊維を1%水酸化ナトリウム溶液で粗精製し、セルラーゼの市販品を作用させた後、残渣を回収した。回収した残渣を溶媒置換し、凍結乾燥した後、電解放出型電子顕微鏡による表面形態観察を行った。また、グラインダー処理および高圧ホモジナイザー処理に対するセルラーゼ処理の効果を調べた。

【結果および考察】セルラーゼ処理によるコットン繊維表面形態の変化を観察した結果、一次壁繊維の消失、二次壁を形成する繊維束の裂け目形成、微細繊維の形成という崩壊過程を辿った。また、セルラーゼ処理により、コットン繊維がグラインダーおよび高圧ホモジナイザー装置に詰まることなく、操作が簡便になると共に解繊効果も増加した。セルラーゼ処理は、コットンなどの強固なセルロース繊維のナノ解繊に有効な前処理であることが示唆された。本研究は、えひめ産業振興財団の受託事業の一環として実施された。

Effect of cellulase on nano-fibrillation of cotton-ball cellulose

○Akihiro Hiden¹, Kentaro Abe², Hiroyuki Yano²
(¹Pap. Ind. Innov. Cent., Grad. Sch. Agr., Ehime Univ., ²RISH, Kyoto Univ.)

Key words cellulase, cellulose nanofiber, nano-fibrillation, Cotton ball