

質による阻害の実験から、このソホロースによるセルラーゼの生成は、酵素タンパク質の *denovo* の合成を誘導するものと思われる。ソホロースがセルラーゼ系の酵素の誘導物質として働くことは、 C^{14} -ロイシンまたは、 H^3 -ロイシンをそれぞれソホロースの存在下または、非存在下の実験系に加え、一定時間後両系から得られた粗酵素液を混ぜ合せ、アンバーライト CG-50 のカラムクロマトグラフで分別し、各分画の C^{14} , H^3 の放射活性を比較した実験からも明らかであった。

セルラーゼの誘導生成は、グルコース、グリセロール、その他多くの物質により、 $5 \times 10^{-2} \text{ M} \sim 10^{-1} \text{ M}$ の高濃度のとき強く抑制され、その抑制効果は、加えてからわずか、30分内外であられる。なお異化物によるこの抑制効果は、セルラーゼのみにとどまらず、アミラーゼなどの酵素生成にも影響する。しかしながら、プロテアーゼ、フォスファターゼなどのように、この効果を受けない酵素も見つかっている。

308. *Trichoderma viride* の cellulase 製剤による木質廃資源の糖化

(1) 脱リグニン法

外山 信男, ○藤井 昇, 奥野 美紀

(2) *T. viride* と *Aspergillus niger* の cellulase 製剤の効果

外山 信男, ○水永 安泰

(3) *T. viride* の cellulase 製剤による糖化

外山 信男, ○岡田 稔*, 小川喜八郎

宮崎大学農学部応用微生物研究室,

*日華油脂技術研究所

Lignin を含む木質廃資源すなわち樹皮、廃材、のこくず、わら類、砂糖きびの絞り粕などを酵素で糖化できれば、新しい発酵基質が得られることになる。たとえば木材では約43%の cellulose 約26%の hemicellulose および約27%の lignin が主成分である。演者らの糸状菌2種は lignin 分解力は無いが、cellulase と xylanase 両活性を強力に発揮する。そこで脱リグニン法を検討した結果実験室的には過酢酸 (peracetic acid) 法が最適で、特に常温常圧で効果的に lignin を除き、ほとんど cellulose, hemicellulose を分解せず、容易に基質より除去できる点ですぐれている。一方、*T. viride* や *A. niger* の cellulase 製剤の製造技術も格段に進歩し、cellulase ANU 2 (*A. niger*, 沪紙崩壊活性 666 unit/mg), cellulase TVMS (*T. viride*, 1000 unit/mg), cellulase TVCL 5 (*T. viride*,

1500 unit/mg) が入手でき、*T. viride* の麹麹抽出液にいたっては 2000 unit/mg の強力な cellulase 活性を示す。最近までこれら製剤の標準活性は 500 unit/mg であった。過酢酸処理により木質廃資源は純白になり、でん粉質原料と異なり、蒸煮を必要とせず pH 5.0, 40°C で上記製剤により著しく分解する。最も顕著に糖化するものは *T. viride* の麹麹抽出液であり、これに匹敵するのが TVCL 5 であり、いずれも強力な cellulase と xylanase 両活性を有している。*A. niger* の cellulase 製剤は木片をすみやかに針状の cellulose にまで解体し、針状物は時間と共に分解していくが、外観的には相当おそく、一見それ以上分解しない様である。一方 *T. viride* の cellulase 製剤は木片を四角いブロック状に解体し、その速度はおそいが、生じたものは次第に糖化され、外観的に基質の消失が見られる。

わら類、砂糖きびの絞り粕は過酢酸法により充分な脱 lignin ができるが、苛性ソーダ処理でも良好な結果が得られた。従来の次亜塩素酸ソーダ+苛性ソーダによる脱 lignin 法はわら類、砂糖きびの絞り粕には満足すべき効果があったが、かんなくずやのこくずには不十分であった。後2者はさらに希釈過酢酸で処理すれば良く分解する。この様な併用法は過酢酸の濃厚液を用いる場合の温度上昇や激しい異臭を減ずる上に効果があった。Cellulase TVCL 5 は木質廃資源の糖化に適し、cellulase ANU 2 は樹皮などを柔らかい綿状にすることができ、粗飼料の原料とするのに適していた。今回は静置法、振盪法および攪拌法による結果を示す。

309. *Thricoderma viride* のいわゆる C_1 酵素について

東京教育大, 理, 植物

○富田 善身, 鈴木 恕, 西沢 一俊

最初 Reese らが提唱したセルラーゼ系すなわち C_1 - C_x 系における。いわゆる C_1 酵素に関する諸研究者の解釈は必ずしも一致していない。例えば King らは *T. viride* (meicelase) から、単独で Avicel をほぼ完全に溶解糖化してセロビオースとするセルラーゼ成分を部分純化し、これを微量の狭雑 C_x 成分との協同による C_1 酵素の作用に帰している。また Selby らは *T. viride* の綿培養液から、 C_x 成分と C_x 作用を示さないタンパク区分とを分離し、単独では綿溶解力もたない後者が C_x 成分と協同させると強力な綿溶解

活性を発揮することを明らかにし、これを C_1 としている。さらに King らは上記の C_1 成分が Avicel に対する初期反応において粒子の fragmentation を惹起すること、Avicel 分解反応の速度が H_2O 中でも、 D_2O 中でも変わらず、かつ反応の活性化エネルギーが非常に低いことなどから、 C_1 成分の作用は水素結合による結晶セルロース・ミセルの構造を解離する点にあり、通常の酵素の概念からははずれるものと推考している。われわれは天然セルロースの分解はいわゆる C_1 および C_x 作用の活性比の異なる数種のセルラーゼ成分の協同によって惹起されるとの考えをとってきたが、いわゆる C_1 作用の機作を明らかにし、さらに統一的な見解を与える目的で実験を行なった。その結果を報告し、あわせて各種セルラーゼ成分の作用性を論ずる。

310. *Trichoderma viride* セルラーゼ成分のセルラーゼ作用とキシラナーゼ作用

東京教育大、理、植物

○戸田 智子、鈴木 恕、西沢 一俊

T. viride の生産するセルラーゼの多様性は本学会でもしばしば問題にされてきたが Cellulase Onozuka のセルラーゼ系もいくつかの成分からなっている。われわれはそれより主な random 型セルラーゼ成分、F-1 および F-2 を分離し、イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー、アルカリ膨潤セルロースおよびデンプンを吸着体とするクロマトグラフィー、DEAE Sephadex A-50 カラムクロマトグラフィーと Sephadex G-100 によるゲル濾過法などを用いて純化した。そのうち F-1 はほぼ単一のタンパク質でセルラーゼ活性のみを示す成分であるが、F-2 には disc electrophoresis, starch zone electrophoresis などでも挙動を共にするキシラナーゼ活性が認められた。一方同じ市販標品からセルラーゼ作用を全く示さない、キシラナーゼを単離した。F-1 および F-2 の CMC, セロオリゴ糖などセルロース系の基質に対する作用、F-2 および純キシラナーゼのキシラン、キシロオリゴ糖などに対する作用、および双方の基質による交叉阻害などの実験を行なった。これらの結果からセルラーゼ成分のセルラーゼおよびキシラナーゼ両作用の関係を論ずる。

311. *Irpex lactes* の生産する Cellulase の 2 成分の性質

*信州大、工、工化

**東京教育大、理、植物

○神田 鷹久*, 聖成 秀次*

若林 和正*, 西沢 一俊**

我々はさきに *Irpex lacteus* の生産する cellulase 標品を沈澱法と chromatography の組合せにより精製した結果、電気泳動的にも超遠心的にもほぼ均一と思われる CMCase と avicelase の 2 画分を得た。これら 2 画分について相互の物理化学的性質や酵素化学的性質を検討してきた。

今回はこれら 2 画分の性質をさらに追求する目的で、高度に精製した両画分について、CMC(溶解性セルロース)および脱脂綿(天然セルロース)に対する水解作用を調べた。すなわち両画分について CMC に対する粘度低下度と生成還元糖量の相互関係を調べたところ、avicelase 画分は CMCase 画分よりも more random の機作を示した。つぎにこれら両画分は脱脂綿を水解する。特に more random の機作を示す avicelase 画分は、CMCase 画分に比してかなり基質の重量減少を示したが、生成還元糖量は多くみられなかった。またこれら両画分の脱脂綿水解の相乗効果を調べるため、これら画分の他に glucosidase 画分およびそれら活性のない画分をいろいろの比率で配合し、反応時に阻害的に働くと思われる分解生成物を透析により取り除きながら作用させた。その結果 CMCase および avicelase 両画分単独の場合よりも、両画分および他の画分を配合した場合脱脂綿をかなり良く水解した。

一方本菌の培養時における CMCase と avicelase の消長をみるために、培養方法、培養基質、培養日数などにより 2 成分の活性の強さを調べた。

これら両成分が、sophorose, cellobiose により誘導されるかどうかを調べたところ、cellobiose がかなり誘導効果があることがわかった。これらの結果を報告する。

312. *Trichoderma viride* の Cellulolytic Complex について

(第 6 報) Complex 各成分の分離、精製および性質

宮崎大、農、応用微生物研究室

○小川喜八郎、外山 信男