

〔成果情報名〕カビ酵素に代わり得るセルロース系バイオマス分解酵素の開発

〔要約〕好熱嫌気性細菌由来のセルロソームと β グルコシダーゼの組み合わせで、セルロース分解能を飛躍的に向上できる。本酵素の組み合わせによりアンモニア処理稲わらを 91% の高効率で分解でき、世界のバイオマス分解の主流技術であるカビ酵素に代わり得る糖化技術となる。

〔キーワード〕セルロソーム、 β グルコシダーゼ、セルロース、稲わら、好熱嫌気性細菌

〔所属〕国際農林水産業研究センター 利用加工領域

〔分類〕技術 B

〔背景・ねらい〕

好熱嫌気性細菌 *Clostridium thermocellum* が生成するセルラーゼ / ヘミセルラーゼ複合体(セルロソーム)は、非常に高いセルロース分解能を有する。本研究では既知菌株である *C. thermocellum* ATCC27405 よりも高いセルロース分解活性を有するセルロソーム生産菌を共同研究機関であるキングモンクット工科大学トンプリ校(KMUTT)の協力を得てタイの自然環境下から分離し、この細菌が生産するセルロソームと β グルコシダーゼとを組み合わせることにより、セルロソームの最終分解産物であるセロピオースによる活性阻害を回避した、高効率なセルロース分解酵素系を開発する。

〔成果の内容・特徴〕

1. バガスペーパー残渣汚泥槽から分離された *C. thermocellum* S14 は既知菌株 *C. thermocellum* ATCC27405 よりも 3 倍高いセルロース分解能を有し、アルカリ及びより高温環境下で生育する(図 1 及び表 1)。
2. *C. thermocellum* S14 からのセルロソームと好熱嫌気性細菌 *Thermoanaerobacter brockii* からの β グルコシダーゼを組み合わせることによりセルロソームのセルロース分解能力を飛躍的に向上させ、高濃度(10%)の結晶性セルロースでも完全分解が可能である(図 2)。
3. 脱リグニンのためにアンモニア浸漬処理(28%アンモニア水、60℃、7 日間)した稲わらを用いた糖化試験では、カビ酵素では 63% の糖化効率であるが、本酵素ミックスでは 91% の高効率で分解することが可能である(図 3)。
4. 以上のことから、好熱性嫌気性細菌由来のセルロソームと β グルコシダーゼの組み合わせは世界のバイオマス分解技術の主流であるカビ酵素に代わり得る糖化技術と考えられる。

〔成果の活用面・留意点〕

1. *C. thermocellum* と *T. brockii* の共培養によりセルロソームと β グルコシダーゼを同時に調製することができる。
2. セルロソームはセルロース結合能を有し、植物バイオマス分解に必要な多種類の酵素が一つのセットとして働いているため、反応後に基質を添加し酵素を基質に吸着させることにより回収し再利用することが可能である。
3. *C. thermocellum* S14 株は(独)製品評価技術基盤機構に特許微生物(NITE P-627)として寄託されている。

[具体的データ]

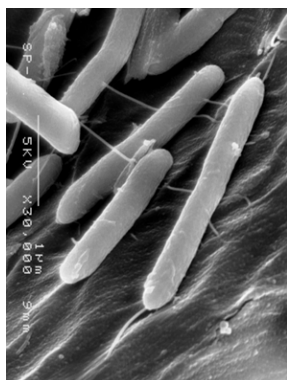


図1 *C. thermocellum* S14 の電子顕微鏡像

表1 *C. thermocellum* S14 の生育特徴とセルロソームの酵素活性

生育特徴	ATCC27405	S14
生育温度範囲(°C)	55 ~ 85	45 ~ 70
生育pH範囲	6.0 ~ 7.5	6.0 ~ 9.0
酵素活性(U/mgタンパク質)		
熱酸性セルロース分解活性	0.56±0.26	1.93±0.29
ろ紙分解活性	0.037±0.01	0.068±0.02
CMCアーゼ	1.10±0.12	1.50±0.42
βグルコシダーゼ	<0.001	<0.003
キシラーゼ	1.70±0.24	3.60±0.9
ペクチナーゼ	0.05±0.01	0.16±0.09

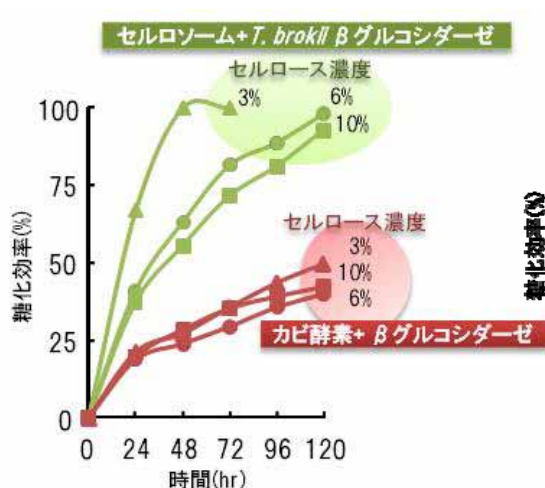


図2 セルロソームと *T. Brockii* 由来の β グルコシダーゼの併用による高濃度結晶セルロース分解 カビ酵素の場合、*Aspergillus niger* の β グルコシダーゼを併用した。酵素濃度はセルロース 3%と 6% の時は 1 g 基質あたり 1 mg、また 10% の時は 2 mg 使用した。

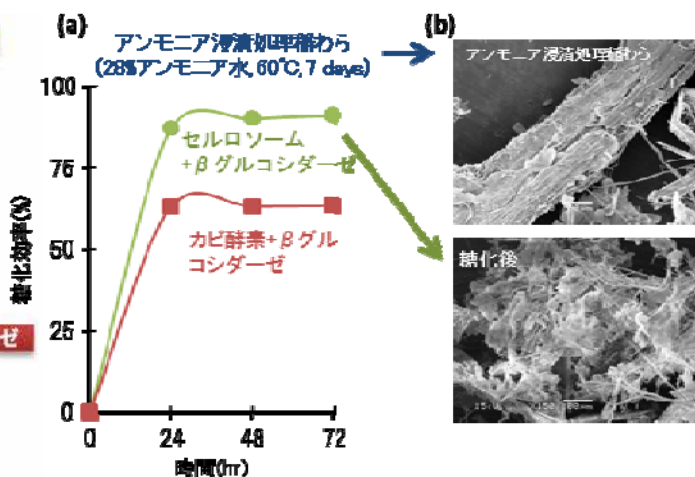


図3 セルロソームと *T. Brockii* 由来βグルコシダーゼ酵素ミックスを用いた稲わら糖化 (a)；アンモニア浸漬処理稲わらの糖化。(b)；稲わら糖化後のSEM画像。酵素はそれぞれ 1 g 基質あたり 2 mg 使用した。

[その他]

研究課題：東南アジア・バイオマス

中課題番号：A-1)-(4)

予算区分：運営費交付金 [アジアバイオマス] 農林水産省委託プロ [酵素複合体]

研究期間：2006～2010 年度

研究担当者：小杉昭彦・Chakrit Tachaapaikoon (キングモンクット工科大学)・Rattiya Waeonukul (キングモンクット工科大学)・森隆

発表論文等：

- 1) 小杉ら、特願 2008-222957「クロストリジウム属菌並びにセルロソームを含むセルラーゼ及びヘミセルラーゼの製造方法」
- 2) 小杉ら、特願 2009-277079「クロストリジウム微生物の培養方法及びセルロソームの製造方法」