

研究課題 (テーマ)	セルラーゼ製品原料微生物 <i>Trichoderma reesei</i> がセルロースを分解するとき生ずる自己作用性セルラーゼ誘導物質の同定		
研究者	所属学科等	職	氏名
代表者	生物工学科	講師	奥直也
分担者	長岡技術科学大学・工学部・生物機能工学専攻・生物生産工学講座	助教	志田洋介
研究結果の概要			
<p>セルラーゼは食品や繊維の加工剤、洗濯洗剤の配合成分などとして幅広い産業用途を持つ酵素である。本酵素は糸状菌 <i>Trichoderma reesei</i> の発酵生産により製造されるが、その生産はセルロース・セロビオース・ソホロースで誘導され、ブドウ糖で抑制されるため、安定生産のためには高価な高純度セルロースのみを炭素源として与える必要があり、コスト高の一因となっている。</p> <p>近年、バイオマスエタノールが地球温暖化を招かない次世代の燃料として注目を集めている。しかし原料として、でんぷん作物であるトウモロコシが利用されており、投機の対象となり価格の高騰が構造化している。セルラーゼが安価に製造できれば、端材など非食性植物バイオマスが原料として利用できるようになり、食料価格の安定のみならず、未利用資源の有効活用とバイオマスエタノールの更なる普及に役立つ。</p> <p>近年、セルロースの可溶性等価基質であるセロビオース存在下でセルラーゼ生産性が強化された <i>T. reesei</i> PC-3-7 株の表現型解析から、セルロース・セロビオース・ソホロースに続く第四のセルラーゼ誘導物質の存在が示唆された。本物質は、セロビオースをグルコースに分解する菌体内グルコシダーゼ BGLII の副反応で生じる糖転移産物と考えられるが、どのような物質か全く明らかにされていない。そこで本研究では、未知セルラーゼ誘導物質の単離と構造決定を通じて、セルラーゼ誘導メカニズムの全体像の解明に資することを目的とした。</p> <p>分担者は PC-3-7 株より更にセルラーゼ生産性を高めた変異株 SNP BGLIIV409T を作出したが、これをセロビオース中で培養して得た培養液を材料とした。まず培養液中の糖転移産物を同定するため、これをアセチル化して UV 吸収性を付与し、同様に調製した 10 種類のアセチル化糖標品と逆相 HPLC 分析にて比較した。その結果、本来の主産物であるグルコースのほか、五糖までのオリゴ糖が糖転移産物として生産されていることが判った。次に培養液を活性炭-セライトカラム中、水及び含水エタノールで段階溶出し、5 画分に分けたところ、重合度ごとに糖類が分画できたことが確認できた。</p>			
今後の展開			
<p>重合度とセルラーゼ誘導活性の相関関係を明らかにするため、活性炭-セライトカラムで得た画分の各セルラーゼ誘導活性を分担者が評価する予定である。第 4 のセルラーゼ誘導物質が含まれると予想される画分をアミノシリカ HPLC で分離精製し、どのオリゴ糖がそれに該当するか、追及していく。</p>			