

「糸状菌が生産する新規樹木成分の分解酵素の探索とその利用」

北海道大学 大学院地球環境科学研究院
准教授 堀千明

＜研究の背景や目的＞

微生物セルファクトリーを用いた有用物質生産において、環境負荷の低い植物資源（植物バイオマス）から炭素源を供給することが今後のライフサイエンス産業分野において期待されている。植物バイオマスとである植物細胞壁は、多糖類（セルロースやヘミセルロース）やリグニンといった複雑なポリマーの集合体である。したがって植物バイオマスから微生物資化可能な糖を得るためには、樹木成分の分解の速度と効率を高める必要がある。本研究では、環境中で植物を効率的に分解する木材腐朽菌から、これら樹木成分の分解に関与する新規酵素を発見することを目指した。

＜研究の方法や結果＞

① 種々の樹木成分を培地に添加した際に生産される細胞外タンパク質のプロテオーム解析

担子菌の中でも針葉樹分解能力が優れている *Phlebiopsis gigantea* について、木粉培地やセルロース培地を用いて培養した。得られた細胞外タンパク質について、LC-MS/MS を用いたプロテオーム解析を行い、菌体外に分泌されたタンパク質を網羅的に同定した。その結果、セルロースやヘミセルロースを分解することが知られている既知のセルラーゼやヘミセルロース以外に顕著に誘導されたタンパク質を 12 個選抜した。

② 同定された機能未知タンパク質の機能解析

12 個のタンパク質をコードする遺伝子をクローニングにより取得した。得られた遺伝子を発現ベクターに導入し、小麦胚芽由来の無細胞タンパク質合成系によって、リコンビナントタンパク質を網羅的に調整した。得られたタンパク質を 14 種の多糖類と各々反応させた。反応後、DNS 試薬によって還元糖

の増加を測定した。この際に、Empty ベクターから得られた合成タンパク質と反応させた吸光度をコントロールとして差し引いた。その結果、一部の機能未知酵素に活性が見られた（図 1）。

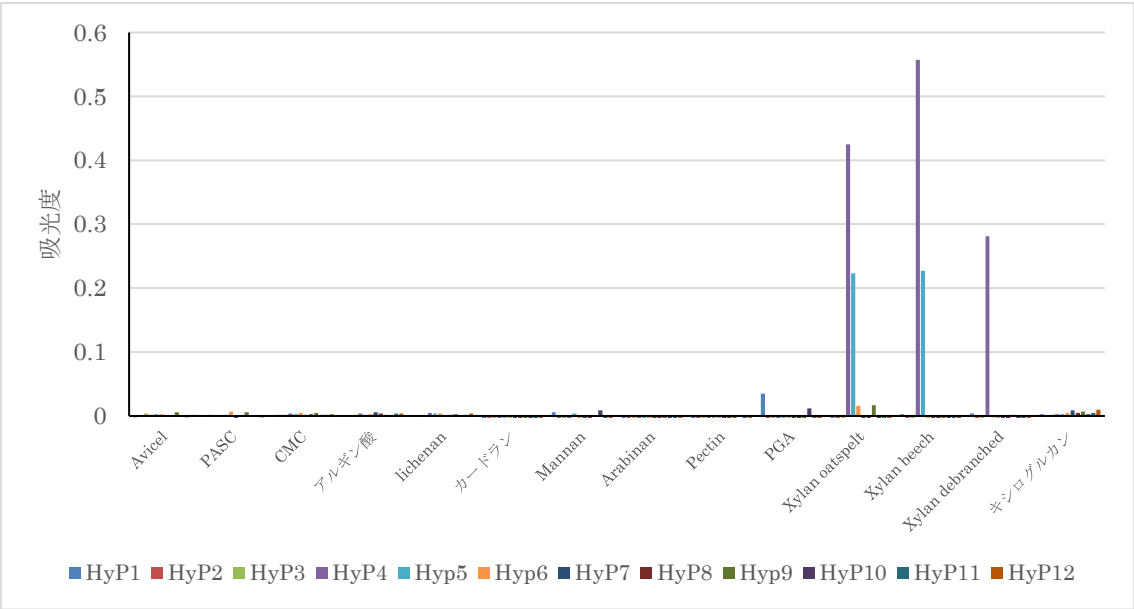


図 1. 機能未知タンパク質 (Hyp) 1-12 における 14 種の方糖分解活性測定結果. Avicel 微結晶セルロース、PASC リン酸膨潤セルロース、CMC カルボキシメチルセルロース、アルギン酸、Lichenan リケナン、カードラン、Mannan マンナン、Arabinan アラビナン、Pectin ペクチン、PGA ポリガラクトuron酸、Xylan oat spelt オートスペルト麦由来キシラン、xylan beechwood ブナ由来キシラン、xylan debranched 直鎖キシラン、キシログルカン

以上、見出した新規酵素の酵素学的特徴を解明しバイオマスの酵素分解性を向上させる予定である。

＜謝辞＞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援を頂きました一般財団法人・杉山産業化学研究所様に心より御礼申し上げます。ありがとうございました。

以上