

目的別テーマ：新規バイオファイバーの産生

15年度研究テーマ

15-2-4：セルロース生産微生物による機能性セルロースの創製
 -セルロース合成における高次構造制御-

ABSTRACT

We tried to investigate various carbohydrates and cellulose degrading enzyme activity in the culture broth of cellulose producing microorganism, *Acetobacter xylinum* to clarify the role of cellulase for cellulose production. Carboxymethylcellulose (CMC) degrading activity and various sugars in addition to cellulose were detected in the culture broth after one day culture. These sugars increased gradually and were identified to some kinds of β -linked disaccharides such as gentiobiose and cellobiosaccharides. It is assumed that these were the degrading products from water soluble polysaccharide, acetan, as *Acetobacter*-cellulase could not degrade crystalline bacterial cellulose produced by itself. Cellulase activity correlated closely with cellulose and oligosaccharides production. Furthermore cellulose morphology changed as it was cultured in the presence of oligosaccharides such as gentiobiose and cellobiose. The increases of cellulose production and cellulase activity were observed

研究目的

セルロース系のバイオマスは地球上で最大規模の生物資源であるが、この合成メカニズムは未解明な点が多いのも事実である。そこで申請者らは、セルロース系資源の分解利用ばかりでなく、その合成にも研究を進めてきている。植物系のモデルケースとして、微生物の作るセルロースの合成メカニズムについて、合成系の酵素に加えて、必ず分解酵素が必要なが分かかってきた。これらの情報をもとに、培地中の酵素活性の変動と生成物を経時的に測定することにより、セルロース合成における分解系酵素セルラーゼの役割を解明する。

一年間の研究内容と成果

酢酸菌 *Acetobacter xylinum* (ATCC23769) の培養液中に生産される糖およびセルロース分解酵素の消長を調べた。図1には、培養液を活性炭カラムで処理したときの、未吸着および吸着画分の薄層クロマトグラフィーの結果を示した。培地中にはセロオリゴ糖に加えて、種々の糖が生産されていた。特に、結合様式の異なる β -グルコ2糖類が生産されていたことから、これらを培地に加えて、培養を行った。

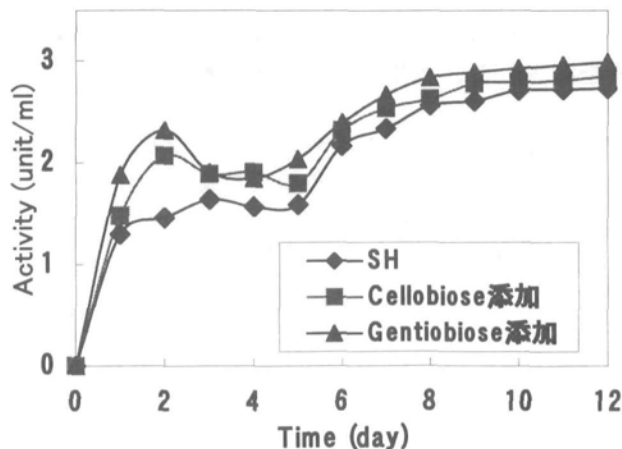


図2. 培地中のセルラーゼ活性の消長

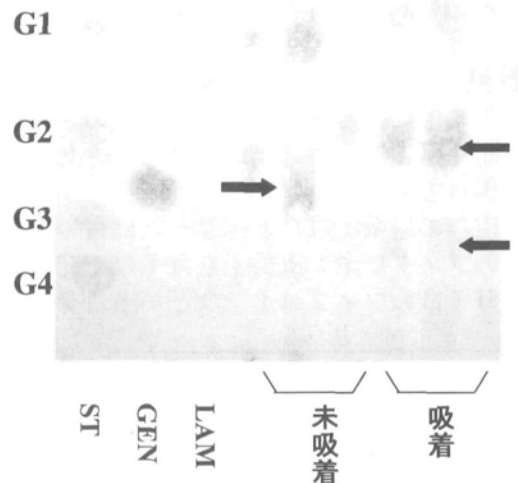


図1. 培養液中の糖成分

その結果、 β 結合した2糖類を添加することにより、セルロースの形態が変化することを見い出した。図3に示したように、弱く脆いゲル状のセルロースが、オリゴ糖を添加した培地では、強いゲルに変わっていた。これらの高次構造変化は、原子間力顕微鏡観察からも確認できた。これらの培地中に生産されるセルラーゼの活性を調べたところ、通常のSH培地のときに比較して、培養初期にセルラーゼ活性が上昇していることが解った(図2)。また、生産されるセルロースの量も、オリゴ糖添加培地において多くなる傾向が見られた。このセルラーゼは結晶性のセルロースを分解できないことから、水溶性他糖のアセタンの分解に関与している可能性が示唆された。このことは、培養液中にアセタンの構成糖であるゲンチオピオースやラムノースおよびマンノースが検出されることから支持された。よって、この水溶性多糖の分解が、セルロース鎖の合成後の高次構造形成に影響を与えるものと考えられた。

展望

酢酸菌のセルロース合成において、セルロース鎖の配列は個々の分子間の水素結合の形成に支配されると考えられるが、本年度の研究において水溶性多糖の存在がセルロースの結晶性に影響するのではないかという結果が得られた。また、この水溶性多糖の合成および分解はセルラーゼ活性の強弱による可能性が示唆されたことより、分解系酵素活性を変化させることでセルロースの高次構造を制御できる可能性が示された。この可能性を追求すると共に、セルロースの構造を詳しく分析することにより、機能性セルロースの作成法が開発される。

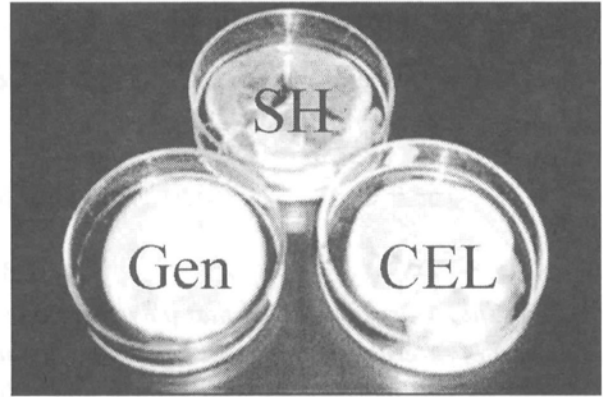


図3. セルロースの形態変化

SH : Schramm-Hestrin 培地

GEN : ゲンチオピオース添加培地

CEL : セロピオース添加培地