

# 天野良彦、神田鷹久

目的別テーマ：新規バイオファイバーの産生

## 16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

*Cerboxymethylcellulose (CMC) degrading activity and various sugars in addition to cellulose were detected in the culture broth after one day culture of Acetobacter xylinum. Cellulose morphology changed as it was cultured in the presence of oligosaccharides such as gentiobiose and cellobiose. It is confirmed that cellulose structures such as the width of microfibril and cellulose ribbon, the crystallinity, and the ratio of Ia and Ib were different from native bacterial cellulose when it was cultured in SH medium with oligosaccharides. It is proposed that cellulose production was influenced with the amount of cellulase produced in the culture broth, because the activity of cellulase produced in the medium containing with gentiobiose was higher than that in normal medium.*

### 研究目的

酢酸菌の生産するセルロースは植物由来のセルロースと著しく高次構造が異なっており、特徴的な物性を示す。我々は、*A. xylinum* 培養過程において、培地中には様々なオリゴ糖類が蓄積されていること、さらに培地中に $\beta$ -グルコ2糖を添加した時セルロースの形態が変化することを見出した。そこで、このセルロースの構造について、通常の培地で生産されるものと比較するとともに、その原因について追及することとした。

### 一年間の研究内容と成果

先の研究結果から、培地中にオリゴ糖が生産されていることから、培地にこれらオリゴ糖を添加したときのセルロース生産に与える影響を検討した。その結果、 $\beta$ -グルコ2糖類の添加が、セルロースの形態変化を引き起こすことを初めて見いだした。このときのセルロースの構造を詳細に検討し、リボンおよびマイクロフィブリルのサイズが減少すること、これにより酵素吸着性が高くなり、生分解性が高くなること、また生産されたBCシートの強度が上がることを示した。また、この時セルロースの結晶構造も変化し、ゲンチオビオース添加培地で生産されたBCはアモルファス領域が増加することが明らかとなった(図1)。この傾向は特にゲンチオビオースを添加した時に最も顕著であるが、この糖はアセタンの構成糖でもあり、培地中にも少量生産されていることが明らかになっている。さらに、ゲンチオビオース添加培地ではセルラーゼ(CMCax)の生産も高く、セルロース生産における本酵素の関与を裏付けるものと考えられた(図2)。

そこで、本菌の生産するCMCaxを精製し、その諸性質を明らかにした。この酵素は糸状菌の生産するエンドグルカナーゼに比べて、結晶性のセルロースに対しての活性が著しく低く、可溶性の基質のみに作用することがわかった(表1)。また、セロオリゴ糖に対しても、重合度5以上のものには作用を示さないエンド作用性が極めて高い酵素であった。これらのことから、本酵素のセルロース生産における役割を考察し、菌体外へのセルロースの排出および結晶化に影響を与える可能性を示唆した。

### 展望

セルロースの結晶化の過程に、分解酵素が関与している可能性が明らかになったことより、分解酵素の高い株を選抜する、または分解酵素の生産性の高い培地を用いることにより、セルロースの高次構造を変化させることができる可能性が示唆された。これらの知見をふまえて、より機能性のセルロース材料を生産できる可能性が開かれた。

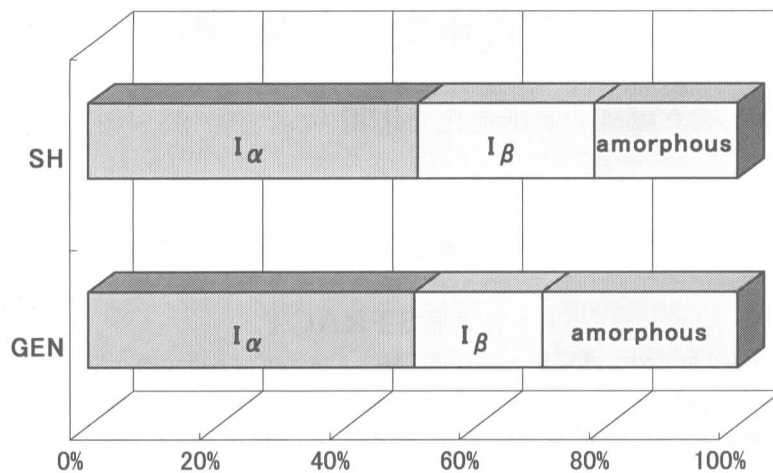


図1. セルロースの結晶系の変化

SH : コントロール培地,  
GEN : ゲンチオビオース添加培地

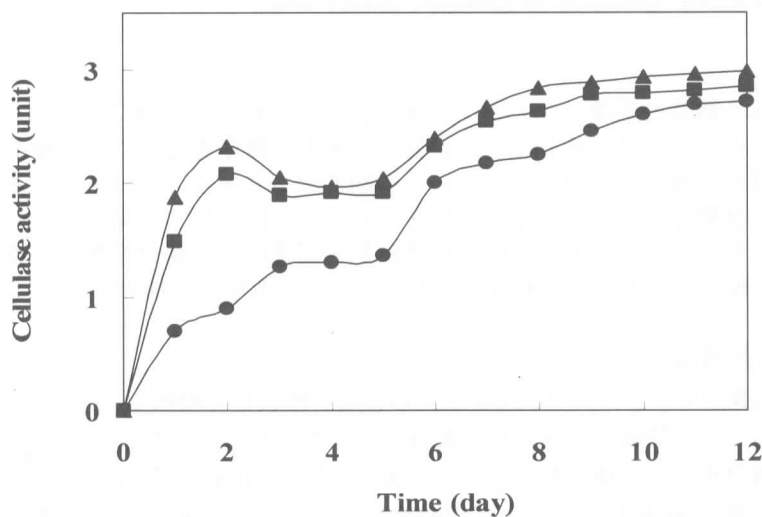


図2. 培地中に生産されるセルラーゼ活性の変化

● : コントロール培地, ▲ : ゲンチオビオース添加培地,  
■ : セロビオース添加培地

表1. 酢酸菌の生産するセルラーゼの基質特異性

基質 (水溶性)	比活性 ( $\times 10^{-3}$ unit/mg)	基質 (水不溶性)	比活性 ( $\times 10^{-3}$ unit/mg)
CMC	0.66	アビセル	0
キシログルカン	0.40	リン酸膨潤アビセル	0
OBR-HEC <sup>a)</sup>	0.68	リン酸膨潤コットン	0
pNPG <sup>b)</sup>	1.06	バクテリアセルロース	0

a) : ハイドロキシエチルセルロース, b) : p-ニトロフェニルグルコピラノシド