

野崎功一

目的別テーマ：バイオテクノロジーを活用した新規繊維生物の作出

15年度研究テーマ

15-2-13：難分解性物質分解に向けた酵素ライブラリーの構築
—染色剤脱色酵素の開発—

ABSTRACT

The decolorization activities of industrial dyes were investigated using extracellular enzymes produced by 21 kinds of basidiomycetes. Most of them showed decolorization activity against some dyes at acidic pH, but the ability and specificity were different. Among these, Agaricus bisporus, Armillariella mellea and Lentinus edodes showed high decolorization activities against azo, phthalocyanine and triphenylmethane dyes. Pleurotus salmoneostramineus showed strong activities for azo and phthalocyanine dyes, but triphenylmethane dyes were not changed. These fungi produced only high laccase activity without other lignolytic enzymes. From the results of the activity staining on native-PAGE gel, it was revealed that one or more laccases which had different substrate specificity were responsible for these decolorizations.

研究目的

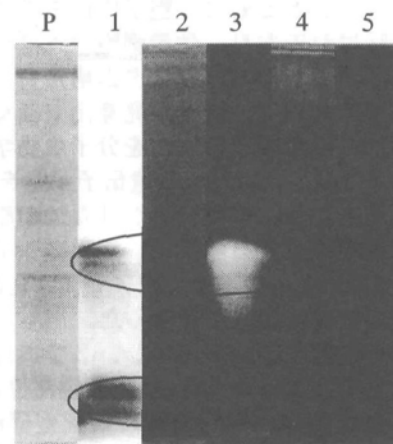
担子菌の一部には、フェニルプロパノイドを骨格とした複雑な重合体であるリグニンを分解する能力が備わっている。これに関与する酵素群は基質特異性が広く、またある種のメディエーターを介して分解反応を行う酸化還元酵素であり、リグニンのみならず人工的に作り出した多くの化合物に対しても作用することが知られている。特に、リグニンの部分構造に類似したある種の芳香族化合物に対しての分解能力は高く、これらを含む難分解性物質の分解への利用が期待されている。各担子菌の生産する酵素の基質特異性がわかれば、分解に最適な酵素を選択することができ、また生分解可能な構造を予測して化合物を設計・合成することも可能になると考えられる。本研究では、繊維工業において排出される染色剤廃液の処理に向けた酵素の利用法を開発する目的で、構造の類似した数多くの染色剤を基質とし、その分解に適した酵素群を選抜することを目的とする。

一年間の研究内容と成果

21種類の担子菌から染色剤の脱色活性を有する菌株の選抜を行った結果、大部分の菌に特定の染色剤の分解活性が確認できた。そのほとんどは、酸性域において活性が高く、リグニン分解系酵素の一部が分解に関与していると予想された。これら担子菌の中でも、ツクリタケ、ナラタケおよびシイタケの培地抽出液は、アゾ、フタロシアニンおよびトリフェニルメタン系染料に高い脱色活性を示した。また、トキイロヒラタケの抽出液は、アゾおよびフタロシアニン系染料に強い脱色活性を示すが、トリフェニルメタン系染料の脱色は確認できなかった。高い脱色活性が認められた菌株を選抜し、リグニン分解系酵素との関連性を調査した結果、ラッカーゼ(Lac)が染料の脱色に関与していることを確認した。菌株によっては、複数のLacアイソザイムが存在し、その中には幅広い基質特異性を示すものや特定の種類の染色剤に強い脱色活性を示すものなど、基質特異性の異なる多くのアイソザイムが存在することを明らかにした(図参照)。

展望

本研究により、各種染色剤の脱色に特異的な酵素が特定の担子菌に存在することを明らかとした。各種Lacアイソザイムを単離して、酵素の特異性を明らかにするとともに、染色剤分解物の構造を決定し、基質の構造と作用できる酵素の関連性を明らかにしたいと考えている。



トキイロヒラタケ培養液による各種染色剤の脱色結果

1. ABTS(Lac検出用基質), 2. 7-GI系染料, 3. 2-GI系染料, 4. フタロシアニン系染料, 5. トリフェニルメタン系染料を基質として電気泳動ゲル上で活性染色を行った. Pはタンパク質染色