

セルラーゼ活性を増強する両親媒性リグニン誘導体の作用機構の解明

森林資源科学講座 森林化学分野
及川 千皓

【緒言】木質バイオマスを原料とするバイオエタノール製造における第一段階として、セルラーゼを用いた酵素糖化が、現行の酸糖化に代わる方法として注目されている。当研究室では、両親媒性リグニン誘導体(PEGDE-AL)をセルラーゼに加えると、繰り返し使用しても高いセルラーゼ活性を維持することを見出した¹⁾。本研究では、より酵素活性を維持させるリグニン誘導体の開発とその作用機構の解明を目的とした。

【材料・方法】リグニン誘導体の

調製: 図-1 に示すポリエチレング

リコール(PEG)誘導体と酢酸リグ

ニン(AL)¹⁾を反応させて、

PEGDE-AL、EPEG-AL 及び

DAEO-AL を調製した。パルプの

酵素加水分解: 酵素はGC220(ジ

ェネンコア株式会社製)を使用し、

残存リグニン 10.4 %のスギ未漂白

ソーダパルプを基質とした。上記

の3種のリグニン誘導体をそれぞれ

基質に対し 1/10 重量加え、

50℃、pH 4.8 の条件で酵素加水

分解実験を行った。リグニン誘導体-セルラーゼ間の相互作用解析: リグニン誘導体と、

セルラーゼから単離したCBH IIとの吸着-脱着現象を、表面プラズモン共鳴に基づく

生体分子間相互作用解析システム(商品名: BIAcore X)を用いて追跡した。

【結果および考察】スギ未漂白パルプの酵素加水分解に及ぼす両親媒性リグニン誘導体の効果: 3 種のリグニン誘導体を用いて未漂白パルプの酵素分解を行った。リグ

ニン誘導体を添加することで、加水分解効率、加水分解反応後の活性残存率が向上

し、特にEPEG-ALが最も高い効果を発揮した。2007年にセルラーゼ活性を向上する

助剤として報告されたPEG4000は²⁾、高い加水分解率の向上をもたらしたが、残存活

性はリグニン誘導体より低く、リグニン誘導体が酵素の繰り返し利用に有効であること

が明らかとなった。リグニン誘導体とセルラーゼの相互作用: PEGDE-ALとCBH I及び

II間の結合の有無をNative-PAGEで評価した結果、これらの分子間で強固な結合は

形成しないことが示唆された。そこで、より弱い相互作用を観測する目的で、BIAcore

のセンサーチップ上にCBH IIを固定化し、3種のリグニン誘導体の吸-脱着現象を追

跡した。セルラーゼへの吸着量は、リグニン誘導体がPEG4000よりも高く、脱着に注目

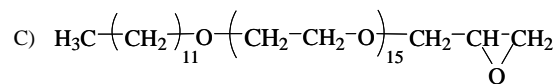
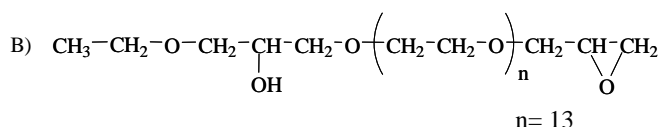
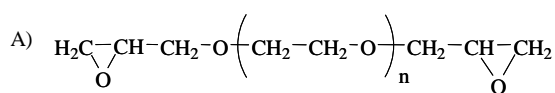
すると、DAEO-ALとEPEG-ALは、その量、速度とも小さく、酵素に安定的に吸着して

いることが示唆された。これらの結果から、リグニン誘導体は、物理的な相互作用によ

ってセルラーゼに吸着し、その活性の維持に寄与することが示唆された。

1) Y. Uraki, N. Ishikawa, M. Nishida, Y. Sano, J. Wood Sci. 47, 301-307 (2001)

2) J. Borjesson et al. Enzyme Microb. Technol. 40, 754-762 (2007).



(図-1) polyethylene glycol diglycidylether (PEGDE, A)、ethoxy-(2-hydroxy)-propoxy-polyethylene glycol glycidylether (EPEG, B)、dodecyloxy-polyethylene glycol glycidylether (DAEO, C)の化学構造式