

## 両親媒性リグニン誘導体とセルラーゼとの相互作用

環境資源学専攻 森林資源科学講座 森林化学 山本 陽子

## 1. 緒言

液体燃料として注目されているバイオエタノールを木質バイオマスから製造するためには、多糖類、特にセルロースの糖化と発酵が重要な工程である。当研究室では、両親媒性リグニン誘導体が酵素糖化と発酵効率を高める助剤として機能することを見出している<sup>1,2)</sup>。しかし、このリグニン誘導体の機能は、分子論的には解明されていない。そこで本研究では、三種の単離リグニンから両親媒性リグニン誘導体を調製し、セルロース分解酵素“セルラーゼ”との相互作用について調べた。

## 2. 方法

①両親媒性リグニン誘導体の調製とサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 酢酸リグニン (AL)、

ソーダリグニン (SL)、クラフトリグニン (KL) を、図 1

に示すエポキシ基を持つポリエチレングリコール (PEG)

誘導体と反応させて、9種類の両親媒性リグニン誘導体を調製した。SECは、カラムに2本の Shodex KF-803L を、溶離液にクロロホルムを用いた。②酵素糖化実験 基質は針葉

樹末漂白パルプを、酵素はメイセラゼを用いた。10%のリグニン誘導体を糖化反応液に添加して、50°C、pH 4.8 条件で酵素糖化を行った。③相互作用測定 リグニン誘導体及び PEG 4000 のセルラーゼへの吸脱着挙動を Biacore® X を用いて観測した。Trichoderma reesei 由来のセルラーゼから CBHI と II、EG I を精製し、センサーチップに固定した。このセンサーチップにリグニン誘導体及び PEG 4000 のクエン酸緩衝溶液 (pH 4.8) を流入して吸着量を、その後、緩衝液のみを流入して脱着量を観測した。また、水酸基、カルボキシ基とアミノ基表面のセンサーチップも調製し、同様の測定を行った。

## 3. 結果と考察

①リグニン誘導体の分子量 SEC 測定の結果、リグニン誘導体は低分子画分のピークと高分子画分のピークを示した。試料の濃度増加に従い低分子画分が減少し、高分子画分が増大した。このことから、リグニン誘導体は濃度増加により会合することが明らかになった。

②酵素糖化実験 AL、SL、KL を原料とするリグニン誘導体を用いたところ、リグニン誘導体は酵素糖化率を向上させたが、酵素糖化率を向上させると既に報告されている PEG 4000<sup>3)</sup>にはわずかに及ばなかった。しかし、リグニン誘導体は糖化後の酵素の残存活性を PEG に比べ高く維持し、特に KL 由来の誘導体が最も高い効果を発現した。

③相互作用測定 リグニン誘導体は、CBHI と II に吸着し、EG I には吸着しなかった。また、PEG 4000 はどの酵素とも乏しい相互作用であった。この結果から、リグニン誘導体の疎水部が、EG I にはなく CBH に特有な疎水性のドメインと結合して、酵素糖化率に寄与すると推定された。加えて、このリグニン誘導体がアミノ基表面とも顕著な相互作用をすることが示されたことより、疎水結合の他に静電的な相互作用も働いていることが示唆された。

1) Uraki, Y. et al. *J. Wood Sci.* **2001**, 47, 301-307.; 2) Cheng, N. et al. *Bioresour. Technol.* **2014**, 173, 104-109.; 3) Börjesson, J. et al. *Enzyme Microb. Technol.* **2007**, 40, 754-762.

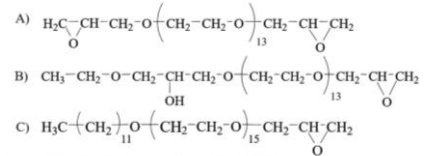


図1. ポリエチレングリコール誘導体の構造式:  
(A) polyethylene glycol diglycidylether (PEGDE);  
(B) ethoxy (2-hydroxy)propoxy polyethylene glycol glycidylether (EPEG);  
(C) dodecyloxy-polyethylene glycol glycidyl ether (DOPEG)