

B201

糖化酵素セルラーゼのリグノセルロースへの吸脱着と糖化反応への影響

(東大生研)○(学)秋本佳希*・(正)藤田洋崇・(正)藤井隆夫・(正)迫田章義*

背景及び目的 リグノセルロースからバイオエタノールを生産する上でセルロースの糖化は必要不可欠であるが、高価な糖化酵素（セルラーゼ）を量論以上に必要とすることが問題視されている。これはリグニンがセルロースへの吸着・糖化反応を阻害するためと言われている。これを解決するにはセルラーゼのリグノセルロースへの吸着特性を詳細に解明する必要があるが、通常、リグノセルロースへの吸着は糖化反応が同時に進行することから、吸着のみを定量的に扱った研究は殆ど見当たらない。そこで本研究では糖化反応が殆ど起こらない低温条件でセルラーゼのリグノセルロース（稲わら）への吸着特性を定量的に評価した。

実験 0°C、酢酸緩衝液中（0.05M, pH4.8）での回分吸着実験を行った。セルラーゼは Celluclast 1.5L (Sigma)、セルロース基質として微結晶セルロース Avicel 102330 (Merck)と Cellulose Powder (Sigma)、リグニンは Lignin, Organosolv (Sigma)、リグノセルロースは稲わらを用いた。セルラーゼ濃度測定には Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo SCIENTIFIC) を用いた。

結果と考察 まず、純粋なセルロース及びリグニンへのセルラーゼの吸着平衡を調べた。その結果を Fig.1 に示す。リグニンへの吸着量はセルロースの2割程度であり、著しく低いことがわかった。次に吸着速度 (K_{Fav})を回分実験の濃度減衰曲線の結果から式(1)、(2)を用いて算出した。(Table 1)

$$q = \frac{Kq_{\infty}c}{1 + Kc} \quad \text{式 (1)}$$

$$\gamma \frac{\partial q}{\partial t} = K_r a_v (c - \bar{c}) \quad \text{式 (2)}$$

(q は吸着量[mg/g]、 q_{∞} は飽和吸着量[mg/g]、 K は吸着平衡定数[ml/mg]、 γ は吸着剤充填密度[g/ml]、 c は溶液中セルラーゼ濃度[mg/ml]、 \bar{c} はセルラーゼ平均濃度[mg/ml])。セルロースには細孔が無く外表面のみに吸着されるため流体境膜内物質移動が総括容量係数 K_{Fav} を支配すると予測されたが、実験より求めた K_{Fav} ($2.4 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$) は推算される流体境膜容量係数 $k_{Fav}^{(1)}$ ($1.1 \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$) よりも著しく低いことがわかった。セルラーゼが糖化反応のために特異的に吸着する結合部位への移動・結合が極めて遅いことが考えられる。

次に稲わらへの吸着平衡、速度を Fig.2、Table 1 に示す。なお、前述したようにリグニンへの吸着量が著しく小さいこと、稲わらのリグニン含有量が12%程度であることからリグニンへの吸着が概ね無視できるものとし、ここではセルロース単位重量あたりの吸着量

を求めた。この結果、稲わらの場合、平衡吸着量、速度共に純粋なセルロースに比べて一層小さいことがわかった。当量以上のセルラーゼが必要な要因として、セルラーゼのアクセス可能な結合部位の減少があることはこれまでに多く報告されているが、吸着速度の低下も大きな要因である可能性があると言える。

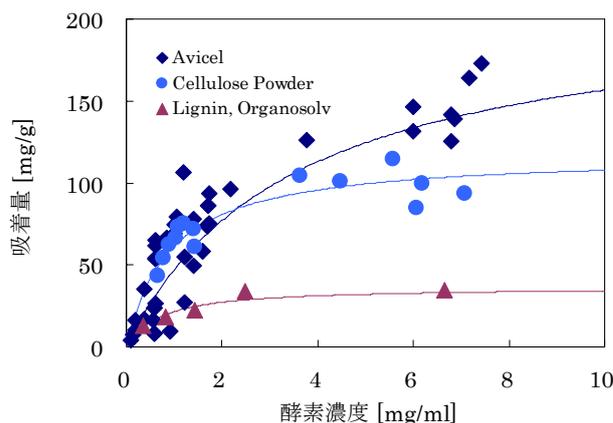


Fig.1 セルロース、リグニンへの吸着等温線 (0°C)

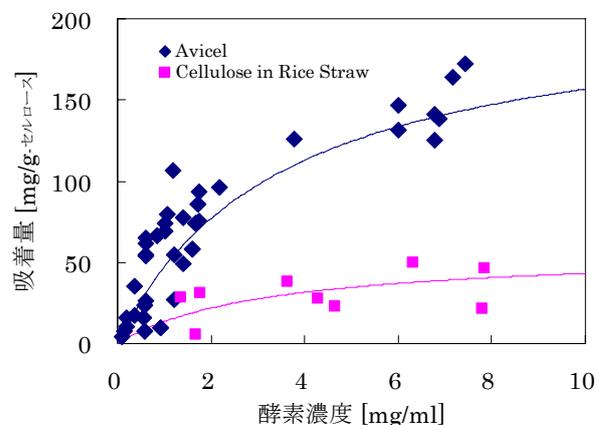


Fig.2 セルロース、稲わら中セルロースへの吸着等温線 (0°C)

Table 1 Celluclast1.5LのAvicel,稲わらへの吸着特性

	q_{∞} [mg/g]	K [ml/mg]	$K_r a_v$ [s ⁻¹]
Avicel	211.03	0.287	2.4×10^{-4}
Cellulose in Rice Straw	56.89	0.301	3.3×10^{-6}

謝辞 本研究の一部は、JST/JICA 地球規模課題対応国際科学技術協力事業の一環として行われた。

E-mail:yakimoto@iis.u-tokyo.ac.jp

⁽¹⁾ M. Suzuki, 1990. Adsorption Engineering