

D118

Trichoderma reesei NBRC31329 のセルラーゼ成分の解析と
セルロースからの D-グルコース生成反応への応用

(東工大院)O園田 正徳・Liew Wei Jin・(正)浅見 和広・(正)太田口 和久*

緒言

近年、地球温暖化への懸念により環境負荷の少ないバイオエタノールへの関心が高まっている。バイオエタノールの原料であるグルコースは、従来はセルロースからは酸加水分解法で獲得されていたが、環境への負荷を低減させるため近年では酵素糖化法が注目されている。

本研究では、セルラーゼ高生産性糸状真菌 *Trichoderma reesei* NBRC31329 が分泌生産するセルラーゼの構成成分であるエンドグルカナーゼ(Endo-G)、エキソグルカナーゼ(Exo-G)、 β -グルコシダーゼ(β -Gs)の組成と細胞増殖期との関係について先ず実験解析を行った。次に不用紙製品モデルとしてろ紙を用い、セルロースから D-グルコースへの変換を促すためのセルラーゼ成分の調製法を検討し応用技術について考察した。

1. 実験方法

(1)使用菌体

セルラーゼ生産菌である *Trichoderma reesei* NBRC 31329 を用いた。

(2)培養方法

セルラーゼ粗酵素液は、前培養(菌体調製用)後の本培養(酵素液分離用)より獲得した。両培養とも酵素活性を高めるためろ紙(セルロース)を基質として菌体を増殖させた。前培養を 1,2,4,7d 間、本培養を 1,2,4,7d 間行った後、本培養液を菌体分離することで粗酵素液を得た。

(3)測定

菌体濃度は、Lowry 法により菌体内の全タンパク質の質量濃度を測定しこれに比例する量として評価した。セルラーゼ活性、Endo-G 活性、Exo-G 活性、 β -Gs 活性はそれぞれ基質をろ紙、CMC、Avicel、Cellobiose とし、これに粗酵素液を作用させグルコース生成量を DNS 法で測定し定量化した。

2. 実験結果および考察

(1)菌体増殖期の決定

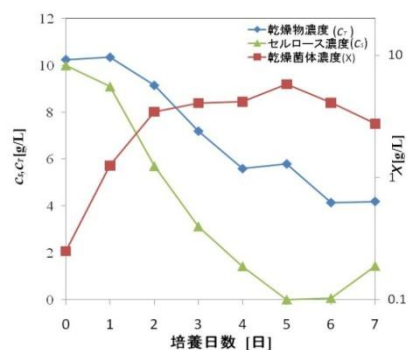


Fig.1 *Trichoderma reesei* NBRC 31329 の回分増殖過程

Fig.1 より対数増殖期(0-2d)、対数増殖後期(2-3d)、停止期(3-5d)、死滅期(5-d)を決定し、培養 1、2、4、7d 目をそれぞれ対数増殖期、対数増殖後期、停止期、死滅期のサンプルとして使用した。

(2)増殖期の進行に伴う酵素活性の変化

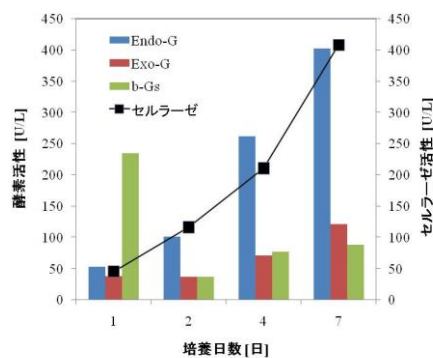


Fig.2 停止期菌体(前培養 4d)の回分増殖に伴う粗酵素活性の変化

Fig.2 より培養日数により酵素活性が変化していることが分かる。停止期菌体を本培養した時のセルラーゼ活性は、主に任意の結合を切る Endo-G 活性に依存していることが分った。

* ohtaguchi.k.aa@m.titech.ac.jp