



2015年12月10日

報道関係各位

東京理科大学

ウシ唾液によるセルロース分解促進効果について

東京理科大学 研究推進機構 総合研究院 教授 坂口謙吾 等の研究グループは、難分解性のセルロースを酵素分解する際に、ウシの唾液を添加することによりこの酵素分解を促進することを見出しました。化石燃料の代替となる持続可能なエネルギー資源として、非可食性セルロースからの糖生産法の確立が求められており、その分野への貢献が期待されます。

*本論文はオープンアクセスの査読付き Web 版科学雑誌「PLOS ONE」に9月下旬に掲載されました。

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0138902>

【背景】

環境に対して安全でかつ持続可能なエネルギー技術の開発は、これからの社会の発展にとって重要な課題です。なかでも、バイオマス資源を利用した技術は環境への負荷も小さく、地球温暖化への影響がある二酸化炭素排出量も少ないクリーンなエネルギーとして期待されています。地球上で豊富なバイオマス資源のひとつにセルロースバイオマスがありますが、その結晶構造に起因する難分解性により、この技術の実用化が遅れている現状があります。セルロースを効率的に糖に分解する方法が確立できれば、新たなクリーンエネルギー資源としてセルロースバイオマスが広く活用されることが期待されます。

【要旨】

研究グループは、セルロースを主成分にする牧草からエネルギーを得る草食動物に注目し、ウシの唾液のセルロース分解促進効果を検討しました。

その研究過程で、ウシの唾液中に含まれるタンパク質が非酵素的にセルロースの分解を促進している事が示唆され、当該タンパク質は、セルロースへの吸着及び界面活性作用によってセルラーゼの不活性化を抑制し、セルラーゼのセルロースへの吸着、分解及び脱着の一連の分解プロセスの速度が促進されるというメカニズムが考察されました。結果として、セルロースの酵素分解において、ウシの唾液を用いることで活性が促進され、酵素使用量の低減ができる可能性が見出されました。酵素コストは、エネルギー源としてのバイオマスの実用化を遅らせている主要因のひとつですが、本研究はその酵素コストを低減する有望な方法を提示したものです。

【研究の概要と成果】

セルロースを分解すると有用物質であるグルコースが得られますが、その反応は主にセルロースを分解するセルラーゼと呼ばれる酵素を用いて行われます。難分解性であるセルロースを効率的に分解するため、セルラーゼの改良、粉碎やアルカリを用いた物理・化学的な前処理の検討、高活性な新規セルラーゼの探索、セルラーゼ活性促進物質など様々な観点から研究が行われておりますが、今のところそれらの技術が工業的に応用されるに至っておりません。研究グループはセルロースを主成分にする牧草からエネルギーを得る草食動物に注目しました。草食動物は主に胃でセルロースを化学的に分解していますが、その前の咀嚼及び反すうの段階においてセルロースを分解しやすくさせていると考えられます。この時に分泌する唾液がセルロースに何らかの影響を与えているのではないかと考え、ウシの唾液がセルロースに及ぼす影響について調査しました。

セルロースの分解産物である還元糖の濃度を測定し、その影響を調査した結果、ウシの唾液単独ではセルロースの分解に影響を与えませんでした。しかし、ウシの唾液とセルラーゼを混合させることで、ウシの唾液によってセルラーゼによるセルロースの分解はおよそ 2.9 倍促進される結果が得られました(図 1 a)。さらに酵素添加濃度や酵素反応時間を検討した結果、セルラーゼの濃度が低い程ウシの唾液によるセルロース分解促進効果は顕著であり(図 1 b)、短い反応時間ほど大きな促進効果が見られました(図 1 c)。また、ウシの唾液の添加量を上昇させると、セルラーゼ分解促進効果は上昇し、ウシの唾液が全体の約 4%を超えるとそれ以上の促進効果は出なくなりました。実際の工業応用に検討されているセルロース系バイオマスはセルロースの他にヘミセルロースやリグニン等の混合成分であり、これらを基質にしたウシの唾液のセルロース分解促進効果も検討しました。その結果、1.2 倍のセルロース分解促進効果があるという結果が得られました。

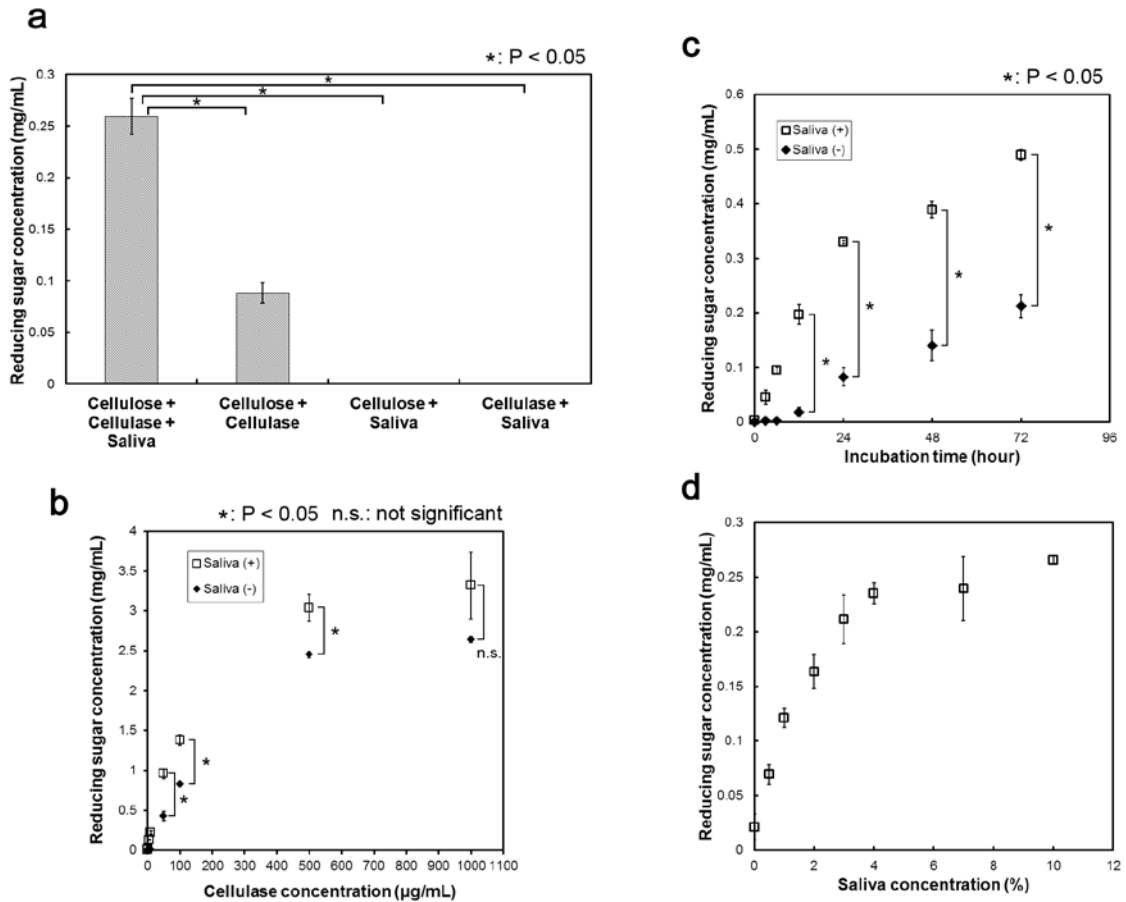


図 1 ウシの唾液によるセルラーゼ活性促進効果

次に研究グループはウシの唾液中のどの成分がセルロース分解促進効果を引き起こすのかを調査しました。ウシの唾液を透析処理（低分子化合物の除去）、オートクレーブ処理（タンパク質の熱変性）及びタンパク質分解酵素処理（タンパク質の断片化）をそれぞれ行い、それらの影響を測定しました。その結果、未処理のウシの唾液と比較して、全ての処理方法においてセルロース分解促進効果に大きな減少が見られませんでした（図 2 a, b）。このことから、セルロース分解促進効果を引き起こす成分は酵素的なタンパク質ではない高分子化合物であることが示唆されました。このことを証明するために、メタノールとアセトンを用いてそれぞれ除タンパク処理を行ったウシの唾液のセルロース分解促進効果を測定しました。その結果、ウシの唾液中に含まれるタンパク質の量が減少するに従ってセルロース分解促進効果が減少しました。

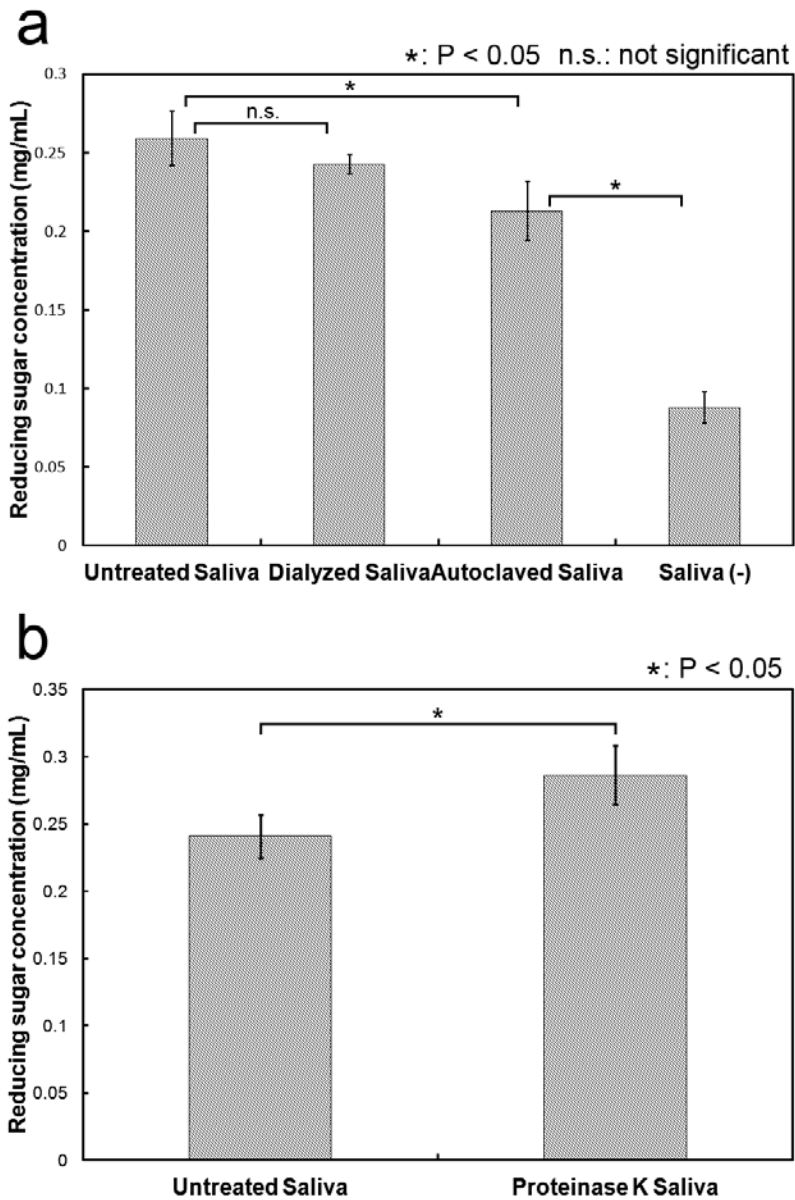


図 2 各処理によるウシ唾液の酵素活性促進効果への影響

さらに、酵素活性促進効果のあるタンパク質を特定するために、ゲルろ過クロマトグラフィーを用いてウシの唾液に含まれるタンパク質をサイズで分画し、それら分画したウシの唾液のセルラーゼ活性促進効果を測定しました。その結果、全ての分画されたウシの唾液においてセルラーゼ活性促進効果がみられました(図 3)。これらの結果から、ウシの唾液中に含まれるタンパク質が非酵素的にセルロースの分解を促進している事が示唆されました。

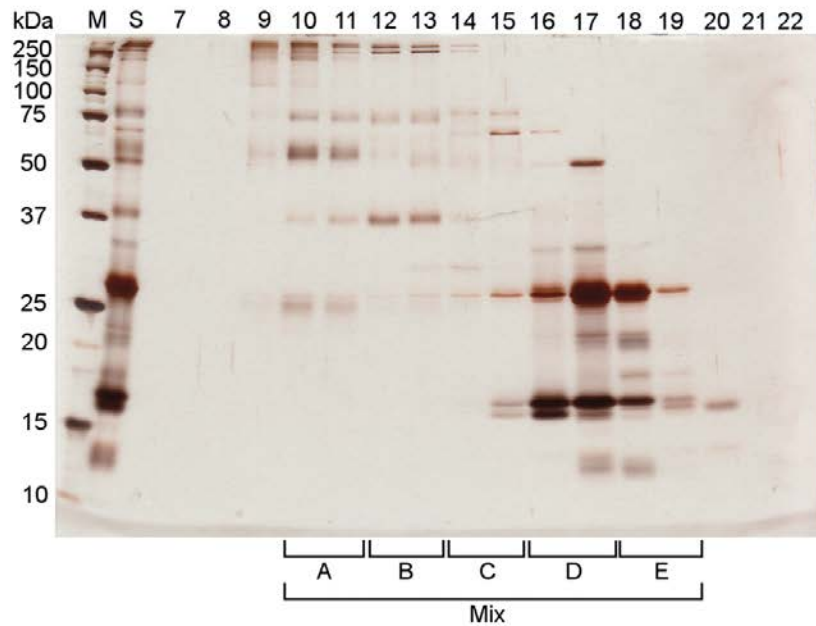
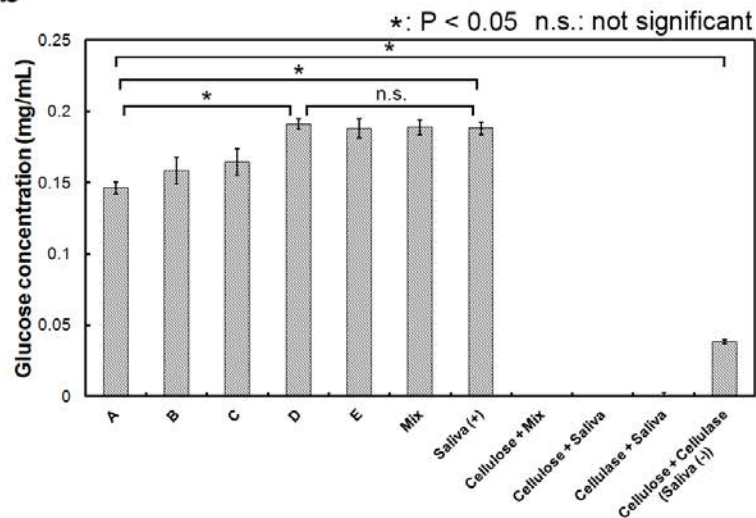
a**b**

図3 ウシ唾液中のタンパク質の分離とその酵素活性促進効果

最後に、非酵素的に働くタンパク質がどのようにセルロースの分解を促進しているのか調査したところ、ウシの唾液に含まれるタンパク質はセルロースと吸着することがわかり、界面活性剤等と同様の作用によってセルロース分解促進効果が引き起こされていることが示唆されました。これら全ての結果から、ウシの唾液中に含まれるタンパク質は、セルロースへの吸着及び界面活性作用によってセルラーゼの不活性化を抑制し、セルラーゼのセルロースへの吸着、分解及び脱着の一連の分解プロセスの速度が促進されるというメカニズムが考察されました。

【まとめ/展望】

セルロースの酵素分解において、ウシの唾液を用いることで活性が促進され、酵素使用量の低減ができる可能性が見出されました。バイオマス資源の糖化技術において、酵素コストは実用化を遅らせている主要因のひとつであり、その部分への貢献が期待されます。

また、研究グループでは、本研究と併行して、セルロースを含有した廃棄物バイオマスである牛糞をグルコースに変換する技術に関して研究開発を進めています。将来的には原料である牛糞を回収するとともにウシの唾液を回収し、両者を組み合わせて牛糞から効率的に糖を生産する方法の確立を目指しています。

～本件に関するお問い合わせ～

東京理科大学 研究戦略・産学連携センター

TEL : 03-5228-7440 FAX : 03-5228-7441

E-mail : ura@admin.tus.ac.jp