

# セルロソーム生産菌によるバイオインターフェイスとバイオリファイナーへの応用

岡崎 文美<sup>1</sup>・田丸 浩<sup>2</sup>

難分解性の高分子多糖であるセルロース，特にリグノセルロース系バイオマスの組成は，植物の種類やその部位ごとに千差万別である。Clostridium属細菌は，植物細胞壁多糖の組成を察知し，さまざまな酵素を組み合わせながら“セルロソーム”と呼ばれる植物多糖分解活性がきわめて高い高分子複合体を構築する。筆者らのグループが研究してきたClostridium cellulovoransは，多種多様な基質特異性を有するノンセルロソームな分泌型酵素との相乗効果によりソフトバイオマスを効率的に分解していることが，ゲノム解析から推察されている。そのため，C. cellulovoransのセルロソームおよびノンセルロソーム酵素群を詳細に調べることで，ソフトバイオマスを完全糖化する方策を見つけ出せると考え，各種バイオマスに適したデザインブルバイオインターフェイス（デザインブルセルロソーム）の構築を目的とした研究開発が国内外で進められている。

本稿では，セルロソーム生産菌によるバイオマス認識機構解析の現状とデザインブルバイオインターフェイス構築の展望について紹介する。

## セルロース系バイオマス

再生可能資源である植物バイオマスを原料としたバイオ燃料やバイオ化学品を生産するバイオリファイナー技術は，地球温暖化やエネルギー問題に対する解決策として期待されており，特に食糧と競合しないセルロース系バイオマスの利活用が求められている<sup>1)</sup>。しかしながら，セルロース系バイオマスは，主要構成成分としてセルロースおよびヘミセルロース，ペクチン，リグニンを含み<sup>2)</sup>，これらが複雑に絡み合っていることから，微生物が利用可能な単糖への酵素糖化は容易ではない。そこで，微粉碎処理，爆砕処理，高压熱水処理，酸アルカリ処理などのさまざまな前処理方法が検討されてきたが，環境負荷やコスト面での課題が多い。さらに，これら構成成分は，バイオマスの種類はもちろんのこと，産地や季節によっても変動することから，効率的な酵素糖化のためには，それらに合わせて糖化酵素の構成成分を調整する必要がある。

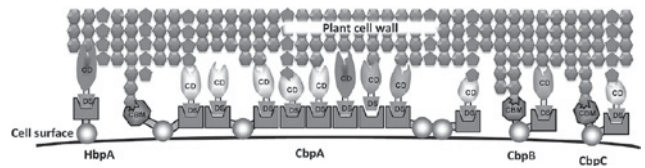


図1. C. cellulovoransセルロソームのモデル<sup>3)</sup>。植物細胞壁表面と微生物細胞表面がセルロソームというバイオインターフェイスで接続される。

## セルロソーム生産菌

Clostridium属細菌は，グラム陽性の嫌気性細菌であり，自然界に普遍的に存在するバイオマスの分解者として，古くから研究されてきた<sup>3)</sup>。これらのうち，中温菌であるC. cellulolyticumおよびC. cellulovorans，高温菌であるC. thermocellumなどのいくつかの種は，セルロソームと呼ばれる高分子酵素複合体<sup>4)</sup>および複数種類のノンセルロソームな分泌型酵素<sup>5)</sup>を生産し，これらの組合せにより，植物細胞壁を効率的に分解することが知られている(図1)。このうち，C. cellulovoransは，セルロースのみならずキシラン，フルクトース，ガラクトース，マンノースなどのヘミセルロース構成成分およびペクチンなど，多様な基質を資化可能である<sup>3)</sup>。ゲノム解析結果より，セルロソーム関連遺伝子は57種類，セルロソームを構成しないノンセルロソームな分泌型の糖質分解酵素は168種類であることが明らかになっている<sup>3,6,7)</sup>。他のセルロソーム生産性Clostridium属細菌と比較して，ノンセルロソームな分泌型の糖質分解酵素の数が多いため，セルロソームと多様なノンセルロソーム酵素を組み合わせると，多種類のソフトバイオマスを効率的に分解することが推定されている<sup>7)</sup>。

## バイオマス認識機構

Clostridium属細菌におけるバイオマス認識機構に関する研究は広く行われており，C. cellulolyticumにおいてはセルロースの利用可能性をカタボライト抑制機構により，キシランを二成分制御系にて認識していることが報告されている<sup>8,9)</sup>。一方，C. thermocellumでは，セルロー

著者紹介 <sup>1</sup>三重大学大学院生物資源学研究科生物圏生命科学専攻(助教) E-mail: okazaki@bio.mie-u.ac.jp

<sup>2</sup>三重大学大学院生物資源学研究科生物圏生命科学専攻(教授) E-mail: ytamaru@bio.mie-u.ac.jp

ス結合モジュール (cellulose-binding module: CBM) を有するアンチシグマ因子により細胞外のセルロースの存在を認識していることが報告されている<sup>10)</sup>。これらのことは、*Clostridium*属細菌において、種ごとに多様なバイオマス認識機構が存在することを示している。

*C. cellulovorans*においても、炭素源の種類によって、細胞外のセルロソームおよびノンセルロソームの酵素成分が変わることが報告されており、多種多様なバイオマスに対する認識機構が存在することが推察されている<sup>11-13)</sup>。さらに、細胞内のプロテオーム解析によりバイオマス認識機構を推定する試みがなされており、ヘミセルロース (キシランおよびガラクトマンナン) およびペクチンの認識機構が提案されている<sup>14)</sup>。また、一般的にグルコースやキシロースなどの単糖を菌体内に取り込む細菌が多いが、*C. cellulovorans*においては細胞外のオリゴ糖を認識してオリゴ糖の状態でも細胞内に取り込むと考えられ、より早く関連遺伝子群へのシグナル伝達と発現制御が可能となることで自然界における生存戦略として機能していることが推定されている。

このように、*C. cellulovorans*が細胞外の多様なバイオマスを認識する機構や、それに応じて変化するセルロソームおよびノンセルロソームな分泌型酵素の構成を解析することによって、各種のバイオマスを効率的に分解するセルロソームを効率的に菌に生産させること、すなわち、デザインブルバイオインターフェイス (デザインブルセルロソーム) の構築が可能と考えられる (図2)。

### バイオリファイナリーへの応用

*C. cellulovorans*の有する多様なソフトバイオマス分解能力をバイオリファイナリーに活用する取組みがなされ

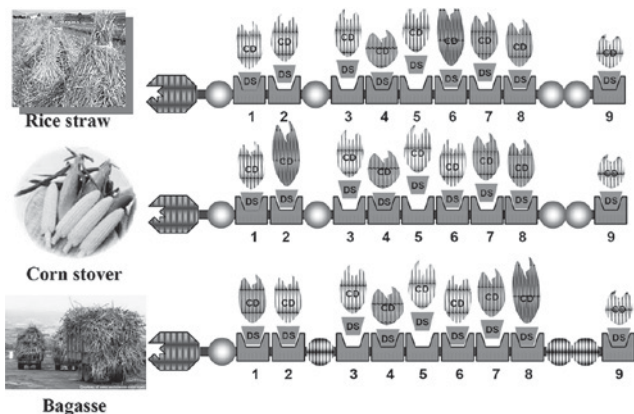


図2. デザインブルバイオインターフェイス (デザインブルセルロソーム)。

ている<sup>15,16)</sup>。さまざまなバイオマスに*C. cellulovorans*を作用させ、糖化により得られた糖から、アセトン-ブタノール-エタノール (ABE) 発酵菌である*C. acetobutylicum*により*n*-ブタノールを発酵生産させる。これらの菌は、同一タンク内での並行複発酵が可能であり、外部からの酵素製剤の添加が不要であることから、コスト的に有利である。これまでのところ、シュレッダー古紙およびペーパーラッジなどのセルロース系バイオマスの他、ミカン残渣、小豆粕、米糠などの農業系食品系廃棄物の糖化において良好な結果が得られている。このように各地域に特有の多様なバイオマスを利用できる可能性があることから、地産地消型のバイオリファイナリーに適していると考えられる。

### おわりに

セルロース系バイオマスに対する高い糖化能力を有する*Clostridium*属細菌、特に多様なバイオマスを分解可能な*C. cellulovorans*のバイオマス認識機構の研究が進展し、これまで未知であった多様なバイオマスへの適応戦略が明らかとなってきた。セルロース系バイオマスからのバイオリファイナリーにおいては、多種多様なバイオマスに適応可能な技術開発が必要であることから、これらの知見をバイオインターフェイスとして応用することが可能と考えられるため、今後の進展に大いに期待したい。

### 文 献

- 1) Hasunuma, T. et al.: *Bioresour. Technol.*, **135**, 513 (2013).
- 2) Cosgrove, D. J.: *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **6**, 850 (2005).
- 3) Tamaru, Y. et al.: *Environ. Technol.*, **31**, 889 (2010).
- 4) Felix, C. R. and Ljungdahl, L. G.: *Annu. Rev. Microbiol.*, **47**, 791 (1993).
- 5) Doi, R. H. and Kosugi, A.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **2**, 541 (2004).
- 6) Tamaru, Y. et al.: *J. Bacteriol.*, **192**, 901 (2010).
- 7) Tamaru, Y. et al.: *Microb. Biotechnol.*, **4**, 64 (2011).
- 8) Celik, H. et al.: *PLoS One*, **8**, e56063 (2013).
- 9) Xu, C. et al.: *Biotechnol. Biofuels*, **8**, 73 (2013).
- 10) Nataf, Y. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 18646 (2010).
- 11) Morisaka, H. et al.: *AMB Express*, **2**, 37 (2012).
- 12) Matsui, K. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **79**, 6576 (2013).
- 13) Esaka, K. et al.: *AMB Express*, **5**, 2 (2015).
- 14) Aburaya, S. et al.: *AMB Express*, **5**, 29 (2015).
- 15) 山本康介, 田丸 浩: 環境バイオテクノロジー学会誌, **12**, 83 (2012).
- 16) 田丸 浩: *PETROTECH.*, **38**, 51 (2015).