

## 演題

ミミズ由来の低温適応能を有する新規な糖質加水分解酵素の酵素化学的性質とバイオエタノール生産への利用

## 発表者氏名

上田 光宏、中澤 昌美、宮武 和孝、坂口 実<sup>1</sup>、井上 國世<sup>2</sup>

## 所属

阪府大院生環科、1阪薬大薬、2京大院食生科

## 要旨

先進諸国や開発途上国による化石燃料の大量消費に起因する大量のCO<sub>2</sub>の放出が種々の深刻な環境問題を引き起こしている。加えて、化石燃料の枯渇とも相俟って、太陽光、風力や再生可能な資源に基づく低炭素社会への移行は喫緊の課題である（京都議定書、福田ビジョン、鳩山イニシアチブ）。再生可能資源である植物由来バイオマスからバイオエタノールやバイオディーゼルを生産する研究の重要性は高い。バイオマスを糖化する際、低温で糖化する方が糖化プロセスにおける投入エネルギーを節約でき、CO<sub>2</sub>発生量も抑制できることから、低温での糖化が望まれている。デンプンの場合には、上田誠之助ら（1963年）によって黒コウジ菌の酵素を用いる無蒸煮アルコール発酵法が考案され、工業的アルコール生産に応用された。本方法の問題点としては、*Rhizopus* sp. をはじめカビ由来の酵素の能力が低温では低いことである。我々は、従来の酵素の欠点を改善でき、かつ工業的利用価値の高い酵素をスクリーニングしたところ、ミミズ（シマミミズ、*Eisenia foetida*）に目的に合う生デンプン分解酵素（ $\alpha$ -アミラーゼ）を見出した<sup>1</sup>）。ミミズは、地球上に4億年前から生息している環形動物門・貧毛綱に属する動物の総称で、低温に適応する能力が高く地球上のかなり広い領域に生息している。また、高い繁殖能力に加え、枯葉や小枝などの有機物を分解する能力が高いことから、近年、食品廃棄物のコンポスト化に利用されている。ミミズから精製した生デンプン分解酵素は、1. 低温下でも酵素活性を維持している（低温適応酵素）；2. 熱に安定（50~60℃）；3. 最適pHが酸性側にある（微生物汚染の心配が少ない）；4. 化デンプンのみならず生デンプンをよく分解するという特徴を持っている。さらに、5. 酵母の生育しやすい条件下（pH 5付近、25℃）で生デンプンを糖化し、酵母によるエタノールの生産を行ったところ、エタノールを微生物汚染させることなく生産できる事を研究室レベルで確立した。次にミミズ由来の木質バイオマス分解酵素活性を検討した。ミミズ破碎後の粗抽出液中に結晶性セルロースやヘミセルロースに対する分解能力が高く、しかも低温下でも高活性を示す酵素の存在を見出した。まず可溶性セルロース分解酵素（Carboxymethyl cellulase, CMCase）を精製し、その酵素化学的性質を調べた<sup>2</sup>）。その結果、本酵素は、1. セルロソーム様の複合体を形成し、その複合体は少なくとも $\alpha$ -グルコシダーゼと $\beta$ -1,3-グルカナーゼを含むこと；2. ミミズ由来CMCaseは従来法では高い活性を得ることが困難な低温（20℃）でも高い活性を示すことを見出した。今後、低温条件で植物バイオマスを効率良く分解するためにミミズ酵素を中心とした酵素カクテルを調製し、低温糖化・低温発酵システムの構築を試みる予定である。本技術は低炭素社会構築において有用な技術になると考えている。1) M. Ueda et al., *Comp. Biochem. Physiol. part B*, 150, 125-130, 2008. 2) 後藤貴裕, 上田光宏ら, 2009年度日本農芸化学会大会・講演要旨集, P. 41