

# バイオマス利活用の現状と課題 ～酵素糖化のブレークスルー～

特集によせて

森川 康

環境上からの化石資源の使用抑制や原油価格の高騰からバイオマスの利用が叫ばれて久しい。そのバイオマスもサトウキビやコーンのような糖/デンプン系のバイオマスの利用はバイオエタノール生産のように進んでいるものの、食糧との拮抗など大きな課題を抱えており、非食糧系バイオマス（セルロース系バイオマス）の利用が待ち望まれている。セルロース系バイオマスの酵素糖化は、バイオ燃料生産だけではなく糖の生産ひいては化学物質生産（バイオリファイナリー）の基本的技術として今後とも非常に重要となる。しかし、セルロース系バイオマスの酵素糖化にはデンプン糖化のアミラーゼに比べて糖化酵素（セルラーゼ）が大量に必要で、そのコストが高く実用化がすすまなかった。また、酵素糖化には次に述べるように多数の課題が有り、酵素糖化の実用化にはこの解決が重要である。

ここでは、セルロース系バイオマスの酵素糖化の課題をどう解決して、酵素使用量の低減を計るかを目的とした研究開発の進展を特集した。なお、この内容は、NEDOバイオマスエネルギー先導技術開発（加速的先導技術）の中での「酵素糖化・効率的発酵に資する基盤研究（2008-2012年度）」で行われた研究開発で得られた成果の一部である。

## セルロース系バイオマスの酵素糖化

セルロース系バイオマスは、セルロース、ヘミセルロースおよびリグニンを主要構成成分として、これら3者が複雑に絡み合った構造をとっている。

このうちセルロース分解にはセルラーゼと総称される多数の酵素（成分酵素）が必要であり、セルロースの結晶領域を分解できるセロビオヒドロラーゼ（CBH）、セルロースのアモルファス（非結晶）領域のみを分解するエンドグルカナーゼ（EG）、およびCBHやEGの分解産物であるセロビオースやセロオリゴ糖をグルコースにまで分解するβ-グルコシダーゼ（BGL、セロビアー

ゼとも呼ばれる）の3種に大別される（図1）。しかも、CBH、EG、BGLそれぞれに何種類もの同様な酵素が存在する。また、これら3種の酵素以外の酵素/タンパク質もセルロース分解に関与することも明らかになっている。

ヘミセルロースはβ-グリカンに側鎖のついた複雑な多種類の構造を持つ。これらを分解するヘミセルラーゼは、キシラナーゼ、β-キシロシダーゼ、α-アラビノフラノシダーゼなど多数の酵素の総称で、これらにもそれぞれに多種類の酵素が存在する。

上記のように、酵素糖化は複雑な多数の酵素群によってなされており、ここでは、糖化に関わる全体の酵素群を酵素、あるいは糖化酵素と表現し、このうちの一つの酵素のみはCBHやBGLなどの酵素名あるいは成分酵素と表現した。

## 酵素糖化の課題

酵素使用量低減には、糖化反応そのものを解析して酵素使用量を低減させる方策（高効率糖化）と、糖化酵素の機能を向上させて少ない酵素量で糖化させる方策があり、それぞれを独立させてあるいはお互いに密接に関連

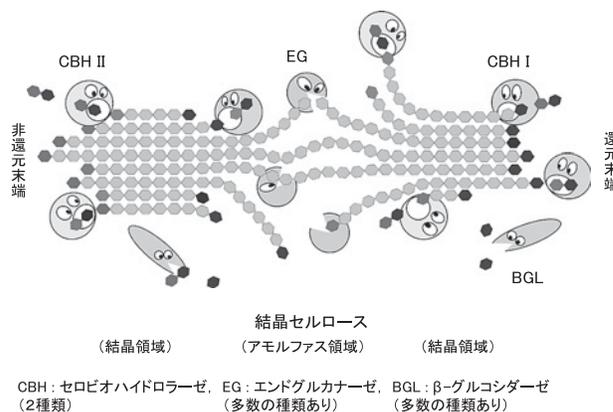


図1. セルロース分解機構の模式図

させて進めなければならない。

## 1) 高効率糖化の課題

### 1-1 固液反応とセルラーゼのバイオマスへの吸着

セルロース系バイオマスの糖化は、通常の酵素反応と異なり、セルラーゼのほとんどは固形分(最初はセルロース)に吸着し反応初期に上清中には存在せず、反応が進むと一部上清中に戻ってくるが、残渣に吸着して上清には戻らない酵素も多い。バイオマスは反応後期まで固形物として残り、溶液中に出てくるのは加水分解された単糖およびセロビオースやキシロビオースを含むオリゴ糖ではない。また、吸着の問題は酵素の回収・再利用と直結しており、以下に述べる「頭打ち現象」との関連も深い。

### 1-2 酵素量が少ないバイオマスの糖化反応では糖化率が上昇しない(「頭打ち現象」)

通常酵素反応とは異なり、糖化反応は図2に示したように酵素量が少ない時には糖化率は頭打ちとなる。この現象は、前処理バイオマスは勿論であるが、セルロースだけでも認められるので、主要な要因はセルラーゼのセルロースへの非生産的な結合によるものと推定されるが、ヘミセルロースやリグニンも頭打ち現象を増幅させている可能性も充分ある。タンパク質や界面活性剤を大量に添加することでこの現象はかなり緩和されるが、完全に解消されるものでもない。この現象の打破は酵素使用量低減の大きな鍵を握っている。

### 1-3 糖化酵素の生成物阻害

糖化反応では生成物であるグルコースにより $\beta$ -グルコシダーゼ(以下BGL)が阻害され、セロビオースが蓄積される。セロビオースはセルラーゼ(おもにセロビオヒドロラーゼ)を阻害し、結果として糖化反応が強力に阻害されることが知られている。しかし、我々の研究で用いたBGL活性の高

い糖化酵素では、グルコースの添加によりセロビオースの蓄積が認められないにもかかわらず糖化反応がかなり阻害され、特に実用的なバイオマス濃度では大きな課題になることが認識された。

## 2) 高機能糖化酵素の創成

現在セルロース系バイオマスの実用的な糖化酵素として、世界中で *Trichoderma reesei* セルラーゼが利用されている。少なくともしばらくは組換え技術による高機能セルラーゼ生産 *T. reesei* 変異株を利用することで実用化が図られると推定される。

*T. reesei* はタンパク質分泌量が多く、そのほとんどがセルラーゼを中心とした糖化酵素であり、そこにはセルロース系バイオマスの糖化に必要な成分酵素/タンパク質がほとんど含まれている。BGL活性が弱いのが欠点であり、他由来のBGLを添加することで補われていた。

### 2-1 前処理バイオマスに適した糖化酵素

バイオマス種や前処理法によりセルロースの結晶構造およびヘミセルロースやリグニンの種類や含量が異なるので、各前処理バイオマスに最適な糖化酵素が存在することはこれまでも予測されていた。NEDO「基盤研究」では、主要な成分酵素を一つずつ欠損させた糖化酵素を作る技術を用いて、それぞれの糖化における役割を検討した結果、それぞれの前処理バイオマスに必要な成分酵素を決定することが可能となった。これにより、*T. reesei* のゲノム情報を駆使して組換えを行えば、それぞれの前処理バイオマスに見合ったカスタム糖化酵素の構築が可能となる。

### 2-2 高機能糖化酵素の構築

*T. reesei* の欠点である低いBGL活性を組換え技術で改良するとともに、高機能糖化酵素の構築を検討し、世界中で使われ始めた欧米の市販糖化酵素を凌駕する高機能糖化酵素生産菌の造成に成功し、酵素使用量削減に貢献している。この方向をさらに加速するとともに、上記高効率糖化の課題を解決するような新規な成分酵素を加えることの検討も必要である。

酵素糖化では上に述べたもの以外にも、高濃度糖化における高粘度や酵素量使用量の増大あるいは各成分酵素の問題点などを含めて多数の課題が有るが、以下に1-1~2-2までの5つの課題やその解決策について最適な方に述べていただき、今後の酵素糖化の実用化に役立てられればと期待している。

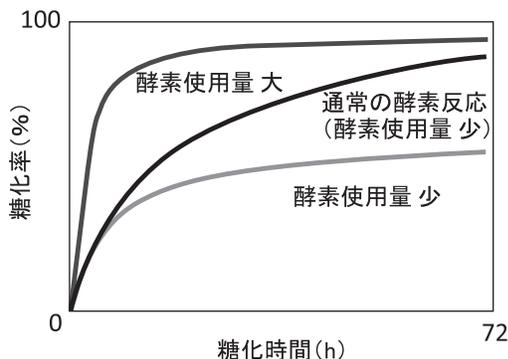


図2. 酵素糖化における頭打ち現象