

# コンポスト化を再構築できる2種の細菌の相互作用解析と リグノセルロース糖化前処理への応用

## 背景及び目的

セルロースは、自然界では腐朽菌をはじめとする多種多様な微生物によって分解される。その分解過程には、複数種類の微生物が関与し、その相互作用の理解は、地球上で最多の高分子であるセルロースを資源として利用する上で非常に重要である。例えば、コンポスト化はこのような微生物の働きを利用した技術であるが、一般にセルロースの分解は長期間に及ぶため、その効率的な分解が求められている。一方、最近では、リグノセルロースをエタノールなどの有用物質に変換する技術が注目されている。リグノセルロースを糖化するためには、セルロースの表面を覆うリグニンを除去する前処理が必要であるが、酸加水分解などの化学的処理では環境負荷が多く、不純物も生成し、腐朽菌による生物学的処理では、長時間を要し、腐朽菌自身が糖を資化するため収率が低下する、など問題点が指摘されている。本研究室では、水生植物を50~60℃で好氣的にコンポスト化すると、セルロースの分解が約2週間の短期間で終了することを見だし、このコンポストから、セルロース分解能をもつ好熱性放線菌 *Thermobifida fusca* を単離した。更に、本菌単独ではコンポスト化は進行しないが、*Ureibacillus thermosphaericus* を共存させれば、2種の微生物でコンポスト化反応を再現できることを示した。本研究は、これら2種の細菌の相互作用を解析し、得られた知見をリグノセルロース糖化前処理へ応用することを目的とした。

## 実験方法

コンポスト化及び糖化前処理は、オートクレーブ滅菌した水性植物（オオカナダモ）もしくはコーンコブに微生物を播種し、温度50℃、含水率50%、好気条件（10mL/minで通気）で、適宜1~2週間行った。菌数の変化は、2種の微生物それぞれに特異的なプライマーを用い、定量的リアルタイムPCRによって追跡した。セルロースの露出度は、大腸菌で発現させた *T. fusca* の endoglucanase の cellulose binding domain を蛍光標識し（F-CBD）、その結合量によって求めた。糖化率は、1gあたり40fpuのメイセラゼ（明治製菓製）をpH4.5、50℃で2日間作用させ、可溶化された全糖量から求めた。

## 実験結果及び考察

2種の細菌で再構成した水生植物のコンポスト化過程においては、*U. thermosphaericus* が反応開始後約20時間まで増殖し、その後減少するのに対し、*T. fusca* は約50時間以降に増殖した。*T. fusca* の増殖に伴ってセルラーゼ比活性は上昇し、試料のセルロース含量は減少した。*T. fusca* を単独で播種すると増殖せず、*U. thermosphaericus* にはセルラーゼ活性はなく、グルコースをはじめとする炭水化物の資化も持たないことから、2種の細菌の関係は片利共生的であり、反応初期に *U. thermosphaericus* がリグニンを分解することにより、その後 *T. fusca* が増殖可能となるという作業仮説を立てた。

この仮説を検証するため、水生植物に *U. thermosphaericus* のみを播種して6日間処理し、走査型電子顕微鏡で観察したところ、リグニン層が分解され、セルロースのマイクロフィブリル構造の露出していた。これによって糖化率とセルロースの露出度は約2倍になり、糖化率は95%に達した。以上から、*U. thermosphaericus* はリグノセルロースを解繊し、セルロース繊維を露出させる働きを持つことが明らかとなった。

*U. thermosphaericus* をリグノセルロースの糖化前処理に利用できるかどうかを検討した。コーンコブ、稲ワラは本菌による約1週間の前処理によって、糖化率が約2倍になり、コーンコブの糖化率は80%に達した。もみ殻や木質系バイオマスに対しては現在のところ、十分な効果は確認されていないが、*U. thermosphaericus* は増殖が早く、糖を資化しないことから、リグノセルロースの新規な生物学的前処理法として有望である。