

セルロース分解酵素セルラーゼについて On cellulases

都甲 由紀子・駒城 素子

Yukiko TOGO and Motoko KOMAKI

(お茶の水女子大学ライフサイエンス)

1. はじめに

古代から人々はビールやパン作りに酵素を経験的に利用してきたが、実体が化学的に研究されるようになってきたのは250年ほど前からのことである。この間に活発な研究が展開され、酵素学は著しい発展を遂げている。現在では、食品加工、洗剤、医薬品、繊維加工などのいろいろな分野で酵素が用いられている。

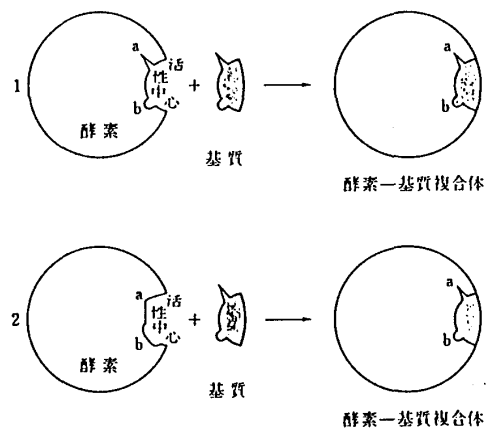
2. 酵素

酵素とは、生物の体内で起こる化学反応における非常に効率の良い触媒で、基質特異性をもつタンパク質であり、分子の形状はほぼ球形、大きさは約 $0.01\mu\text{m}$ 、分子量は一万から数十万に及ぶ。

生物は、そのほとんどが生命を維持するために、酵素を必要としている。それは、体内での穏和な条件における化学反応に対して、反応の活性化エネルギーを低下させることにより、その反応速度を高める作用を酵素が持つためである。その化学反応の種類によって、酵素は次のように分類される。酸化還元酵素、転移酵素、加水分解酵素、脱離酵素、異性化酵素、合成酵素の6種類である。

酵素は、ある特定の物質(基質)に作用して、特定の反応を進行させる。これが「酵素の基質特異性」という性質である。酵素反応は、必ず酵素-基質複合体(以下E-S体)を介して起こる。基質と接触して

触媒作用をするのは、酵素分子全体ではなく、酵素タンパク質中の活性中心とよばれる部分だけである。〈Fig. 1〉¹⁾は、活性中心での酵素と基質の反応模式図である。この中で1は、ドイツの化学者フィッシャー(E. Fischer)によって提案された「鍵と鍵穴説」である(1894年)。すなわち、基質と活性中心を鍵と鍵穴の関係に例えて説明し、基質と活性中心は互いに相補うような相補的な構造をもっていると考えたのである。



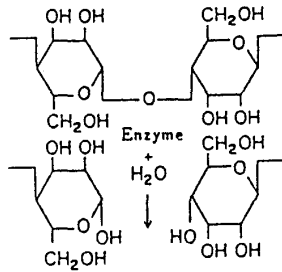
〈Fig. 1〉 酵素の基質特異性、酵素と基質の結合モデル

しかし、その後の研究から、酵素の活性中心の構造は、かなりの部分で基質と相補的な構造をとっているが、相補的な構造をしていない部分もあることがわかり、「誘導適合説」が提案された。このような場合でも、酵素が基質と結合すると、その情報によって酵素の活性中心構造が変化し、基

質に適合するようになるというものである (<Fig.1> の 2) 。 いずれにしても、このように基質と活性中心とが結合して初めて E-S 体となり、定められた反応がすばやく起こって副反応を生じないと考えられている。

3. セルラーゼの反応機構

セルラーゼは、セルロースの β -1,4 グルコシド結合を加水分解する酵素の総称である。この働きを <Fig.2>⁵⁾ に示す。



<Fig. 2> β -1,4 グルコシド結合の酵素による切断

セルラーゼは、エンドグルカナーゼ (EG)、エキソセロビオヒドロラーゼ (CBH)、 β -D-グルコシターゼの 3 種類に分類されるが、そのそれぞれが酵素の反応に関与していると考えられている。これらの作用機構を <Fig.3>⁵⁾ に図示する。

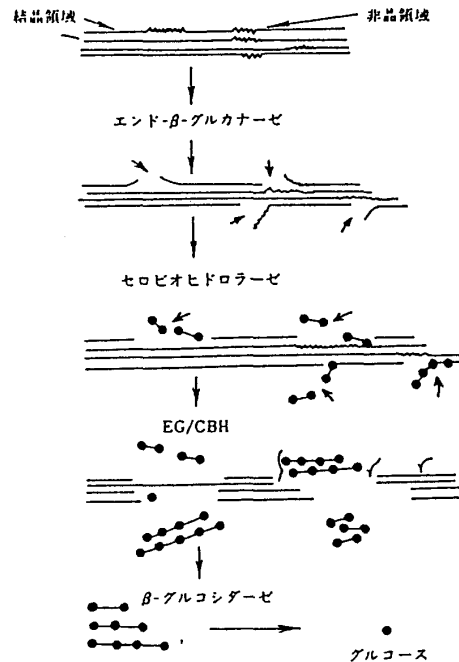
(1) まず、エンドグルカナーゼがセルロースの非結晶領域だけでなく結晶領域にも作用して切れ目 (nick) を入れる。

(2) 次に、これによって生じた非還元末端にエキソ型であるセロビオヒドロラーゼが作用する。

(3) 切れ目が大きくなると、さらにエンドグルカナーゼも作用しやすくなり、このような機作で相乗作用的に結晶セルロース

が分解される。

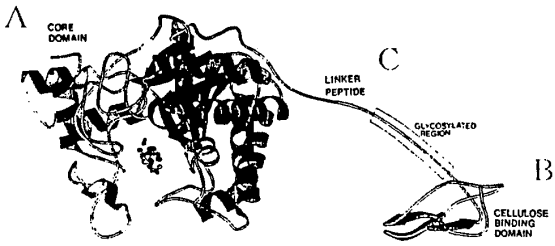
(4) 得られたセロピオースなどのオリゴ糖は、 β -グルコシターゼでグルコースにまで分解される。



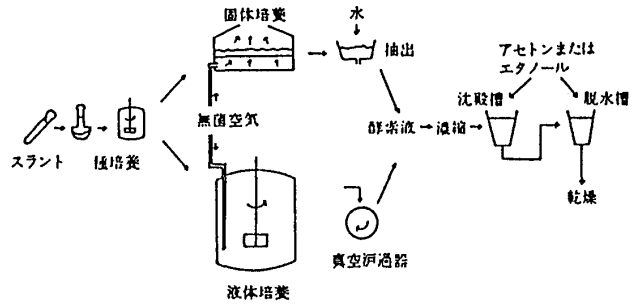
<Fig.3> セルラーゼの作用機構

4. セルラーゼの構造

1つの微生物から、何種類ものセルラーゼが作られる。ほとんどのセルラーゼが、実際に触媒反応を起こす領域 (コアドメイン) とともに、セルロースに結合する領域 (セルロース結合ドメイン; CBD) を持っており、この2つのドメインがリンカーと呼ばれる領域でつながれている (それぞれ <Fig.4>⁸⁾ の A, B, C)。CBD は酵素反応率を高めるために重要なドメインなのであるが、これを持たないセルラーゼも存在する。また、遺伝子組換えで触媒部位のみで構成されているセルラーゼを作ることできる。



<Fig.4> *Trichoderma reesei* 由来 CBHIII の三次構造想定図



<Fig.5> カビのセルラーゼの生産

5. セルラーゼ生産の原料

セルラーゼは、カタツムリの消化管から初めて発見され、それ以来、動物、植物、微生物界に広く存在することが知られてきた。ただ、動物のセルラーゼは、研究が進むに従い、その起源は動物体内に生息する微生物によることが明らかにされてきた。細菌、放線菌、糸状菌、嫌気菌、好熱菌など、いろいろな菌株がセルラーゼを生産する。これらの中でセルロースを強力に加水分解するセルラーゼを生産するものは、*Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Pellicularia*, *Acremonium*, *Humicola* などの糸状菌が多い。また、嫌気性細菌の中にも強いセルラーゼ生産菌が知られている。

6. 酵素の生産とモノコンポーネント

酵素の開発

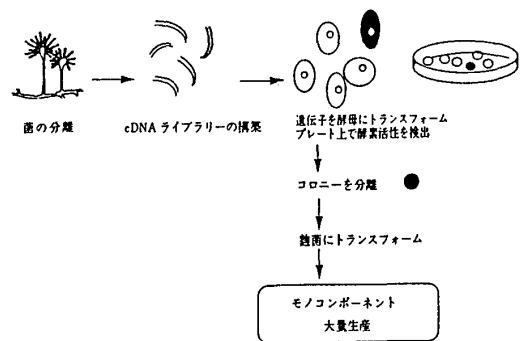
工業用酵素の生産には、カビやバクテリアが用いられてきたが、このような製法で作られた酵素製品は、生産条件によっては一度に複数の成分を含む酵素として得られる場合がある。このような酵素をマルチコンポーネントと呼んでいる。一般に、多成分の酵素は活性が高く、その機作は未解明の場合が多い。カビによるセルラーゼ生産の過程を、<Fig.5>³⁾に示す。

【モノコンポーネントの製造技術】

—エクスペリメンタル・クロニング法—

従来のクロニング法においては、DNAプローブを合成するために、酵素タンパクの精製が不可欠であった。酵素タンパクの精製には時間がかかるため、この方法では、目的とする酵素が不安定であったりすると、よりその作業が困難となる。

それに対して、マルチコンポーネント酵素の遺伝子組み換え（エクスペリメンタル・クロニング法、ノボ ノルディスク バイオインダストリー）によって得られるモノコンポーネント酵素では、前述のような酵素単離精製の必要がない。この方法の模式図を、<Fig.6>⁴⁾に示した。



<Fig.6> エクスペリメンタル・クロニングによるモノコンポーネント酵素の製造技術

7. 酵素によるセルロース繊維の加工

繊維分野への酵素の利用は、糸を織るときに糸切れや毛羽立ちを防ぐために付けられた糊の除去に α -アミラーゼを用いたことに始まる。その他にも、絹の精練用にプロテアーゼが用いられてきた。

この十年間で、新しい分野において酵素の用途が開発され、利用されるようになってきた。セルロース繊維の加工においてはセルラーゼが利用されている。目的で分類すると主に次の2つの技術に分けられる。

1つめはバイオポリッシングと呼ばれるものである。綿や麻、あるいは、レーヨン、ポリノジック、テンセルなどの再生セルロース繊維で作られた生地に減量加工を施す。繊維表面の毛羽を切り、生地表面をなめらかにし、光沢を増加させるほか、ピリング性が向上する。さらに、生地の柔軟性を向上させ、風合いを改良、吸水性を改善させることができる。特に1992年に開発された新しい繊維テンセルに対してはこの酵素加工によって初めて衣料用に適合するようになったと言っても過言ではない。

2つめは、バイオウォッシングと呼ばれるものである。ジーンズ表面のインジゴ染料を落とす洗い加工のことをさす。従来、軽石と共に洗うストーンウォッシュという加工を施して独自の風合いを醸し出す仕上げが行われていたが、石による糸切れや、石や砂が残るといった問題があった。これに対して、ストーンウォッシュ同様の効果が得られる酵素を用いた方法では、安全性も高くなり、生産効率も向上された。

この加工において、ジーンズのブルーと白のコントラストをいかに作り出すかというのが重要な点になる。しかし、酵素を用いると染色糸のインジゴが白糸に移ること

によって白糸が青く染まる傾向がある。現在、筆者らはこの白糸汚染の原因について再現性の良い条件の下で⁹⁾研究している。CBDの有無、酵素反応の至適pH領域の相違などの異なるモノコンポーネントセルラーゼを用いて実験を行った。汚染特性は、それぞれの酵素により異なっており、セルロースに結合するドメイン(CBD)をもたない酵素では汚染が起こりにくいことを確認している¹⁰⁾。したがって、セルラーゼがセルロースとインジゴのバインダーとして存在することが白糸汚染の原因であると考えられる。今後は、セルラーゼとインジゴの複合体の形成について明らかにしていきたいと考えている。

[引用文献]

- 1) 一島英治「酵素」(東海大学出版会, 1984)
- 2) 船津勝「酵素」(講談社サイエンティフィック, 1976)
- 3) 村尾沢夫, 荒井基夫, 阪本禮一郎「セルラーゼ」(講談社サイエンティフィック, 1987)
- 4) 坂口博脩; 繊維工業における酵素利用の新しい展開, 染色工業, 43,(6),270-275(1995)
- 5) 大門浩作; セルロース分解酵素によるセルロース繊維の改質加工, 染色工業, 42,(1),19-24(1994)
- 6) 佐藤整, 大門浩作; 酵素のジーンズ洗いへの応用, 加工技術, 26,(3),43-45(1991)
- 7) 大宮邦雄, 栗冠和郎; セルラーゼの構造と機能特性, 化学と生物, 32,(6),373-380(1994)
- 8) 森川康; Trichoderma系セルラーゼの構造と作用機構, セルロース学会ミニシンポジウム講演要旨集(1998.10)
- 9) 都甲由紀子; 卒業論文「バット染色品の酵素処理と白糸汚染の関係」(1998)
- 10) 都甲由紀子, 駒城素子; 第39回染色化学討論会講演要旨集 p.53-56(1999)