

# 木質バイオマス分解微生物の単離と リグニン分解酵素活性評価

B(生命・人間・ロボティクス)部門

奥田裕暁\*1、松村吉信\*2

(\*1院生) (\*2化学生命工学部 生命・生物工学科 教授)

## 研究概要・成果

### 概要

木質バイオマスとは、木材からなる再生可能な有機性資源で、その主成分であるセルロースはプラスチック原料や繊維製品の原料として利用可能である。また、糖化処理によりバイオエタノール産生の原料ともなる。しかし、植物の細胞壁には芳香族高分子化合物のリグニンが多量に含まれ、木質バイオマスからセルロースを得る際の脱リグニン工程で、環境負荷の高い処理や大規模な処理施設が必要であることが問題となっている。そのため当研究室では、この脱リグニン工程に、微生物細胞を利用する環境負荷の低い手法の開発を目指しており、本研究では、自然環境中からリグニン分解能を持つ白色腐朽菌を単離し、リグニン分解酵素の一つであるラッカーゼ(Lac)活性の高い菌株の選出を目的とした。

### 成果

#### 1. 環境中からリグニン分解候補菌株の分離

リグニン分解能が高いことで知られる白色腐朽菌の単離のために腐朽木材や子実体を23サンプル採取した(Fig. 1)  
分離源：枚方市、関大高槻キャンパス、  
関大千里山キャンパス、高槻市摂津峡

#### 2. 分離源試料からの単離とその分解能有無の評価

分離培地：PDA培地、Peptone-Glucose-リグニン培地  
木粉培地、0.2%リグニン入りBSM培地  
培養条件：25℃、1週間静置培養  
⇒**46菌株の糸状菌が生育、PDA培地で単離した(Fig. 2)**

#### 分解能評価：

- (1) guaiacolの褐変反応
- (2) Remazol Brilliant Blue R (RBBR)の青色脱色反応

使用培地：0.1%guaiacolまたは0.03%RBBRを添加したリグニン寒天培地  
培養条件：25℃、2週間静置培養  
⇒**15菌株で褐変反応または青色脱色反応が観察され、これらをリグニン分解真菌候補株とした(Fig. 3)**

#### 3. 単離菌株の培養液上清中のラッカーゼ(Lac)活性測定

Lacを指標としてリグニン高分解能を持つ菌株の選出を行った  
使用菌株：リグニン分解真菌候補株  
培養条件：MA培地、25℃、120 rpm  
粗酵素液：培養液上清からアセトン沈殿法で回収  
反応条件：NaOAc buffer (pH 5.0)、ABTS(基質)、30℃  
1 U : 1分間に1 μmolのABTSを変換可能な酵素量  
比較対象：Lac高生産標準株(NBRC株)

⇒**リグニン分解真菌候補株 15菌株中  
→2菌株で分譲株より高いLac活性  
→5菌株で分譲株と同程度のLac活性**

#### 今後の方針

- ・リグニン分解評価系構築と分解産物の確認
- ・リグニン分解酵素の精製
- ・木材からセルロースの分離

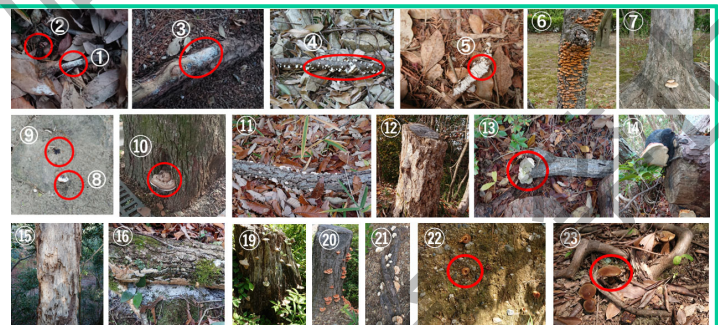


Fig. 1 分離源試料  
(枚方市(①~③、⑱~⑳)、関大高槻キャンパス(④、⑤)、  
関大千里山キャンパス(⑥~⑩)、高槻市摂津峡(⑪~⑰))

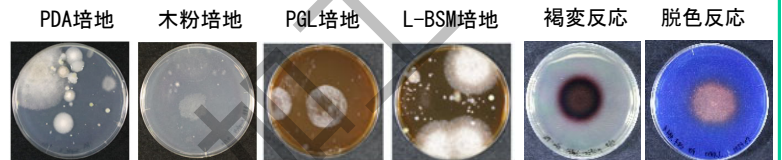


Fig. 2 分離培地での培養結果一例

Fig. 3  
分解能評価の一例

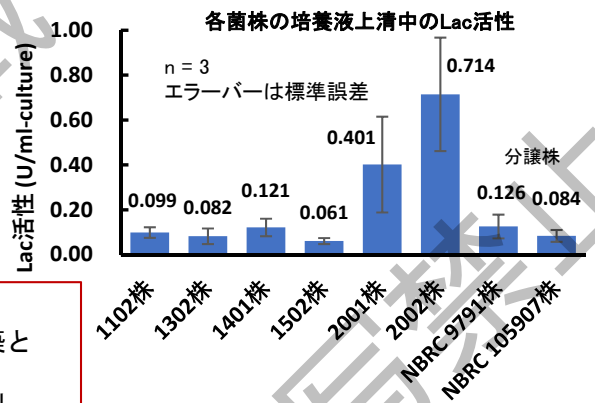


Fig. 4 高Lac活性を示した菌株

## 応用分野、実用化可能分野

木質バイオマスの低環境負荷処理法の構築  
木材成分を原料としたプラスチック様製品の創生

問合せ先：関西大学 化学生命工学部 松村吉信 E-mail:yomatsu@kansai-u.ac.jp

関大ORDIST

先端科学技術推進機構

社会連携部 産学官連携センター、知財センター、イノベーション創生センター