

リグノセルロースの分解及び利用

崔宗均

中国農業大学農学与生物技术学院
有機廃棄物資源再利用研究センター

五十嵐 泰夫

東京大学大学院農学生命科学研究所
応用生命工学専攻応用微生物研究室

中国の未利用リグノセルロース資源

1 作物のわら : 每年6.5 ~ 7億トン

2 農産物加工廃料

3 木材加工廃料

処理できないトウモロコシのわら



2004年11月，德惠

処理できない稲わら

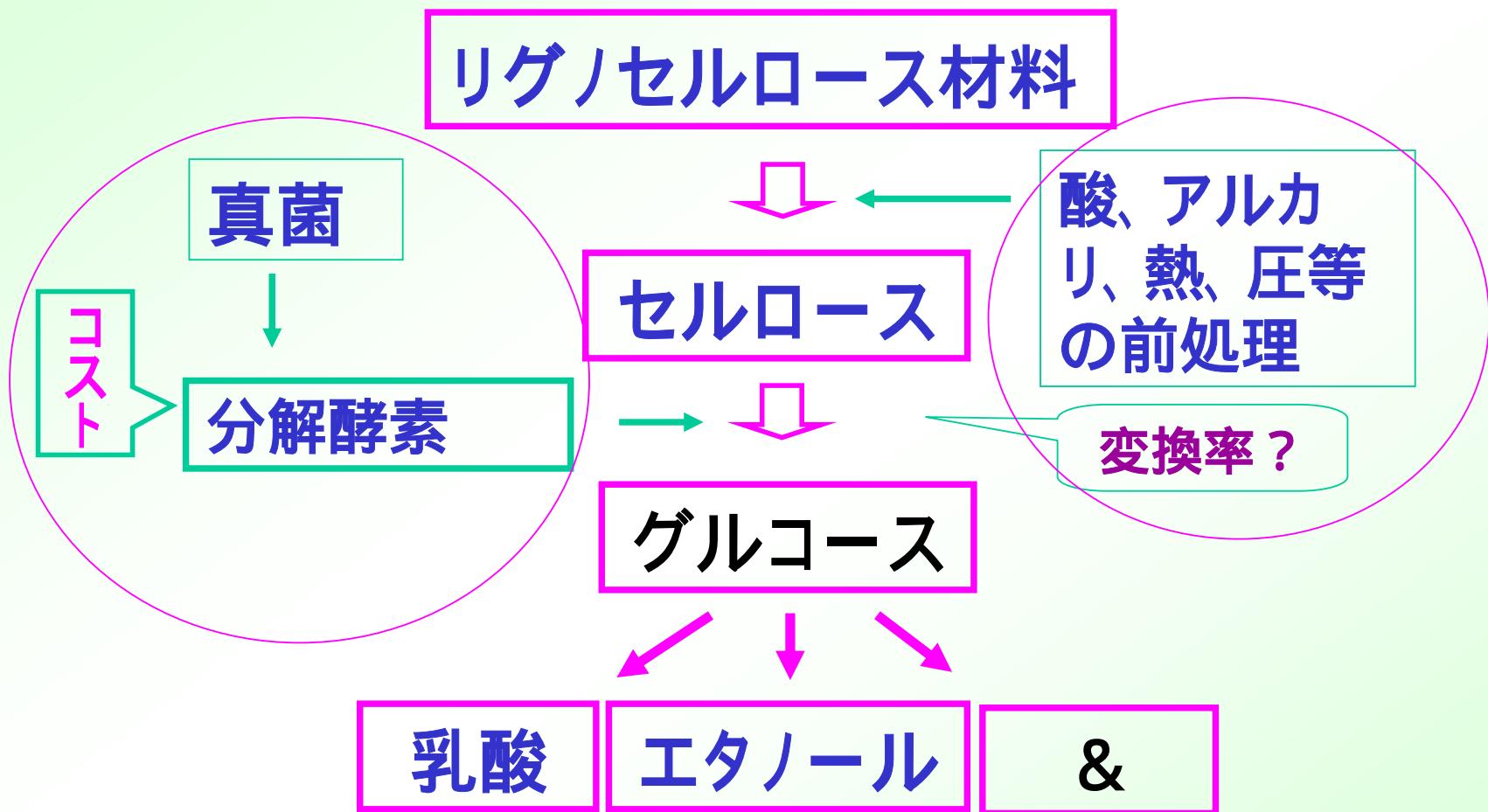


2004年11月，绥化



処理できない小麦のわら

従来のリグノセルロース分解経路



細菌のセルロース分解能力

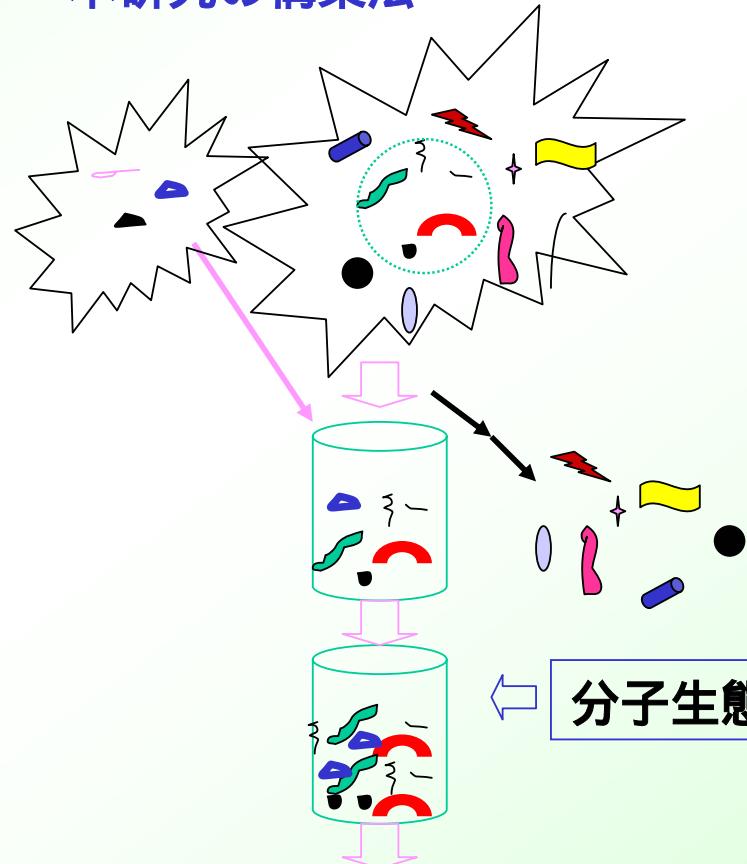
1. 自然界で(堆肥)セルロースは細菌によって大量分解している
2. 細菌は独特な集団を形成して機能を発揮している

分解微生物複合系の構築

従来の微生物単離法



本研究の構築法



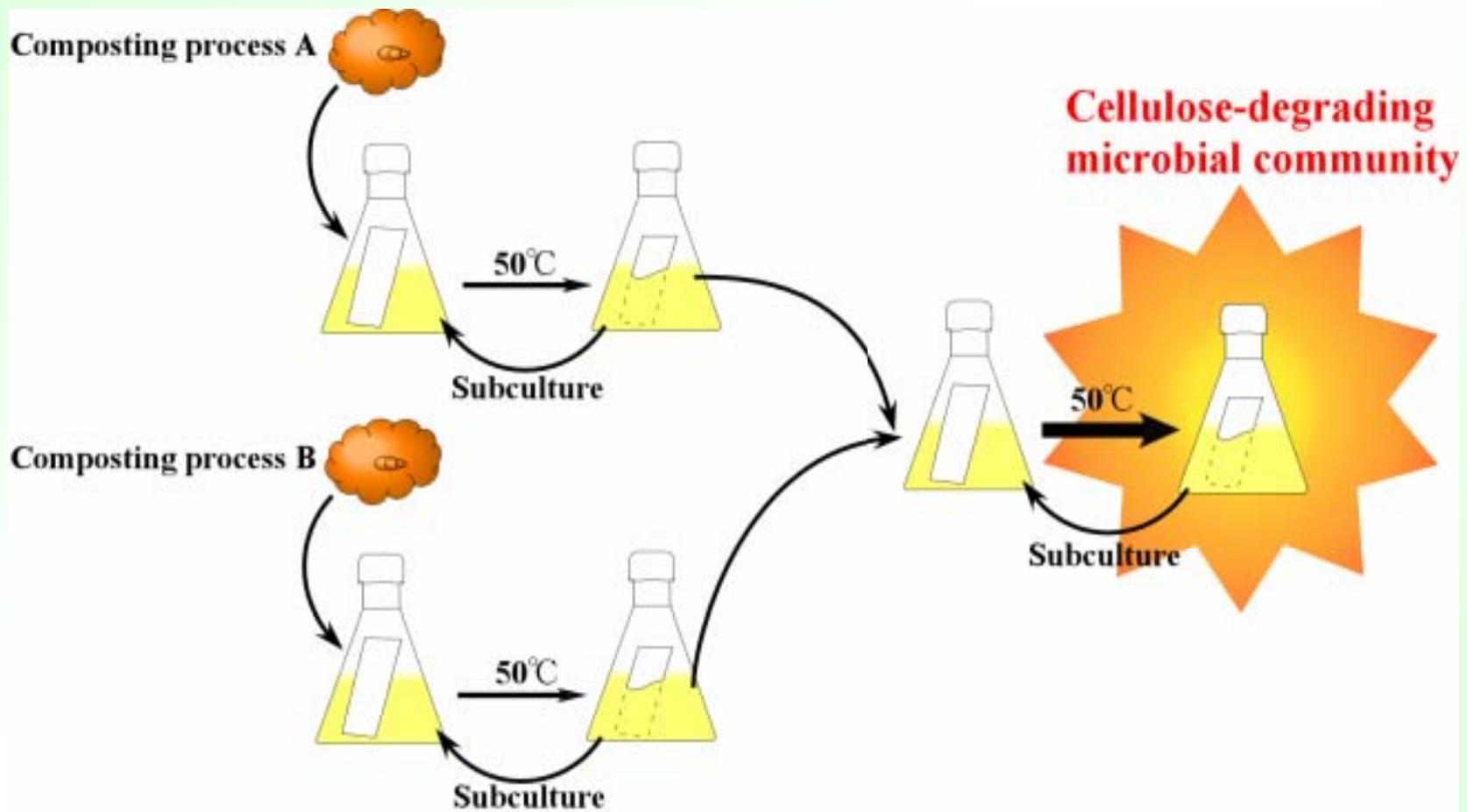
応用

環境処理には利用できない

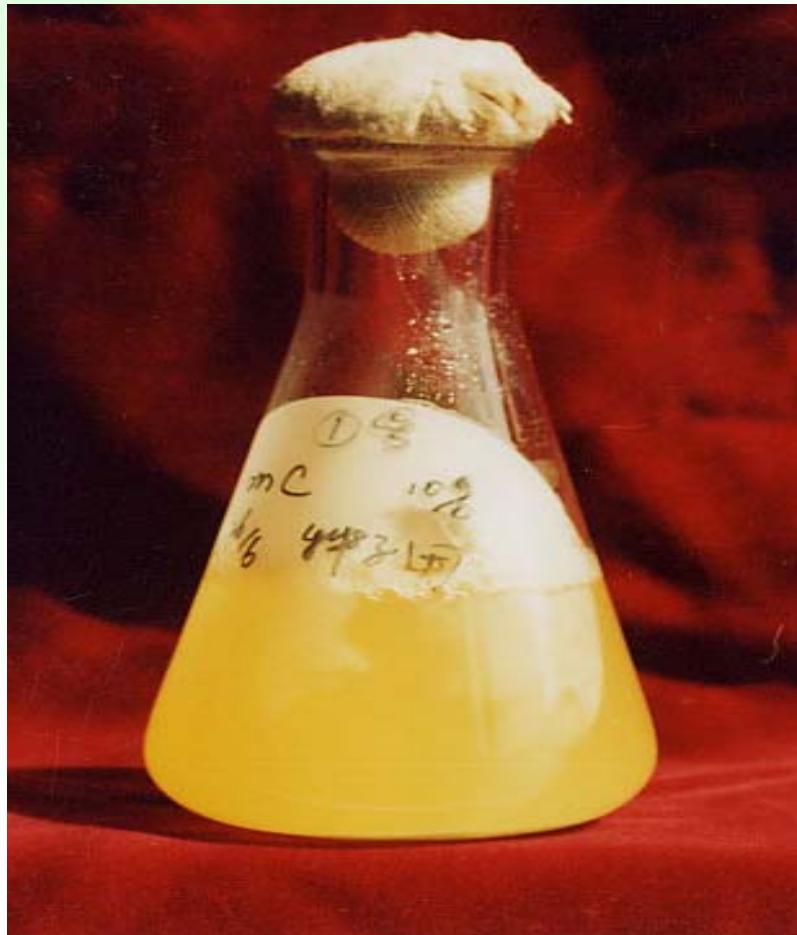
高効率、安定な分解菌複合系

環境処理で役割を発揮

セルロース分解微生物群集の構築



セルロース分解菌複合系MC1のろ紙分解



24 hoers

MC1構成菌

BLASTでの
登録番号

CSK-1

FG4

M1-1 AB039328

M1-2 AB039329

M1-3 AB039330

M1-4 AB039331

M1-5 AB039334

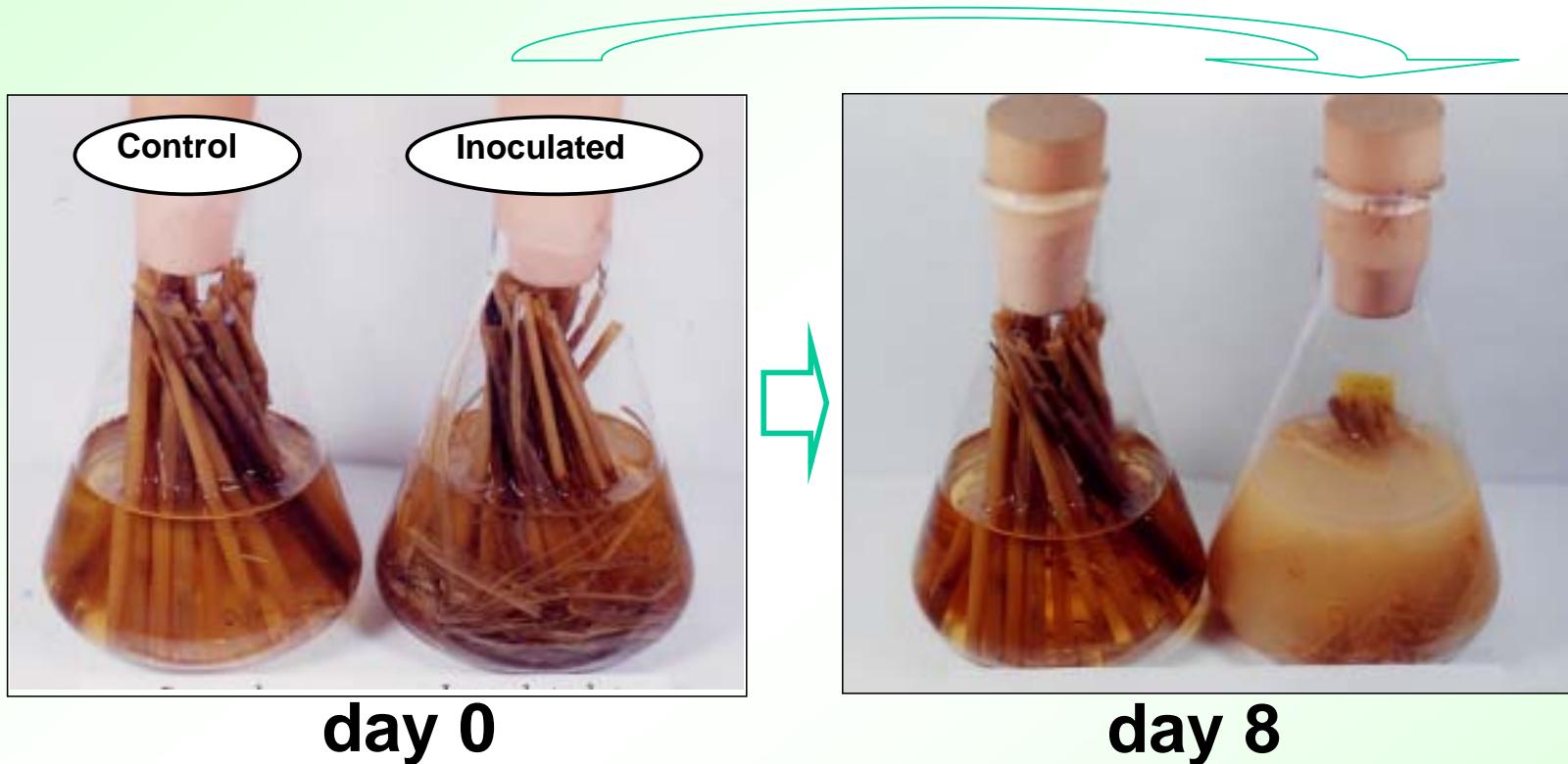
M1-6 AB039335

M1-7 AB039336

CUI zongjun et al.

Environmental Science,
2002, 23(3): 36-39(EI)

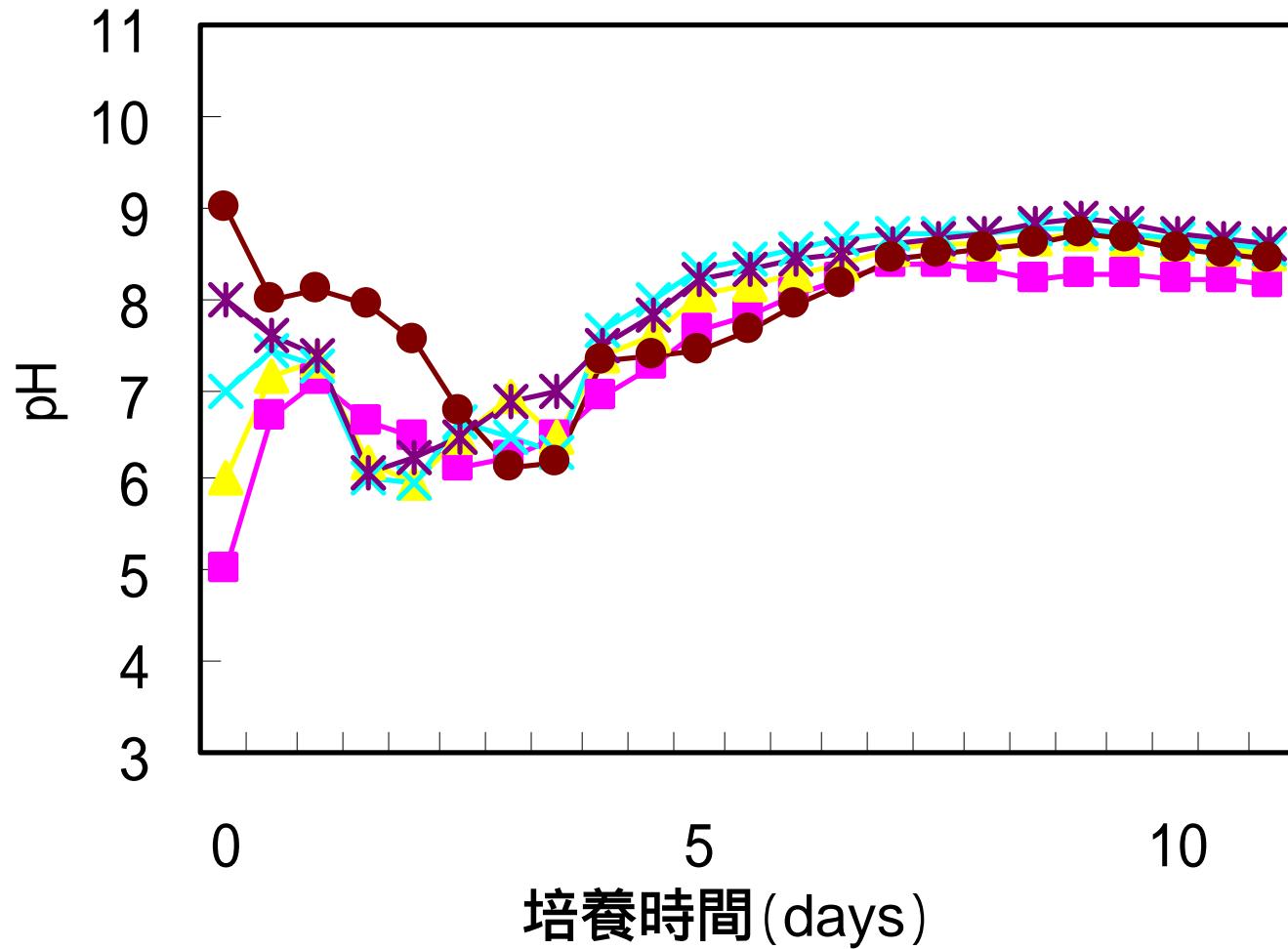
細菌複合系MC1の稻わら分解



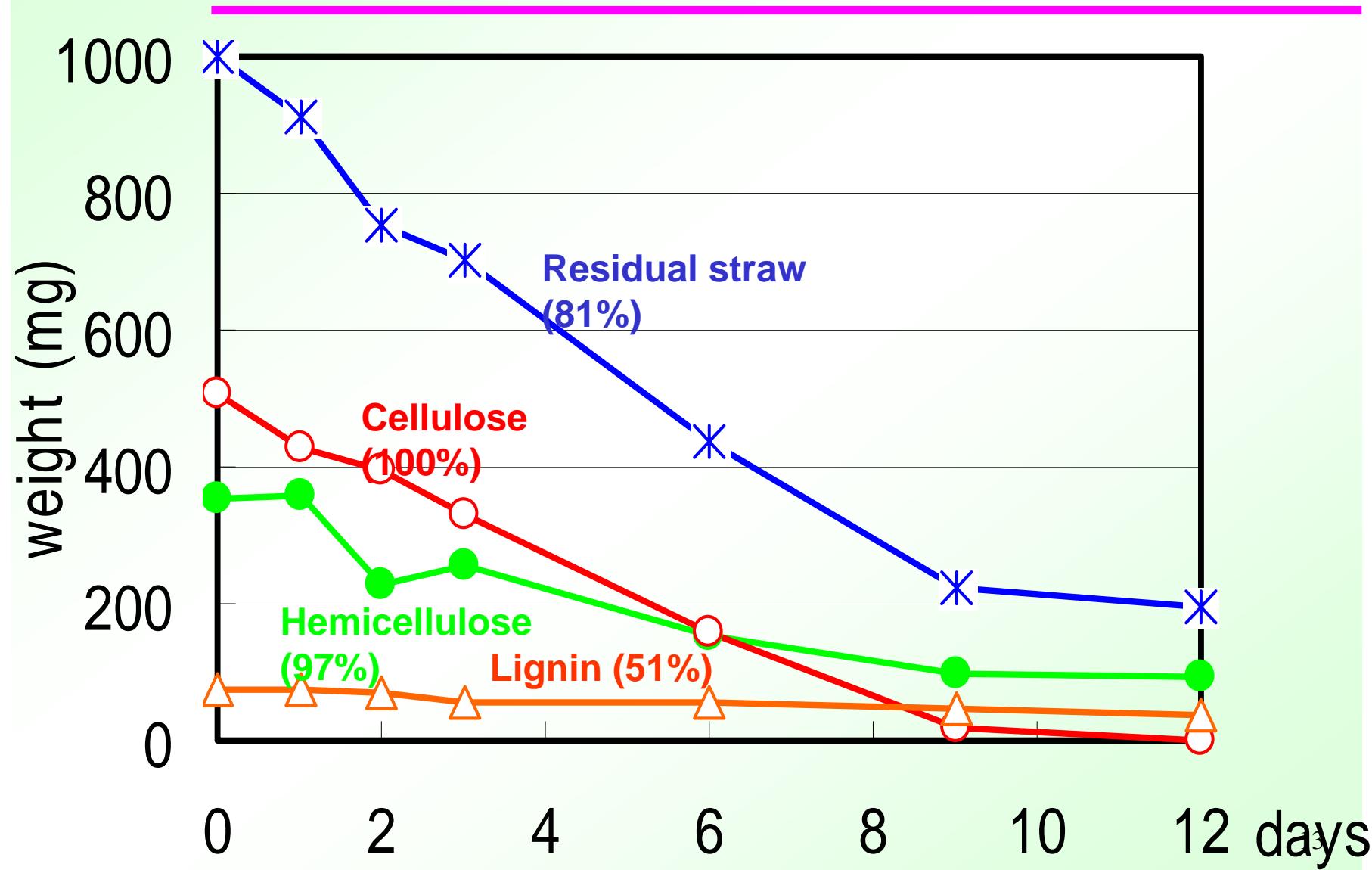
特性:

@強い分解能力; @ 安定性; @ 環境耐性強

異なるpHの培地での分解菌複合系の安定性



MC1の稻わら各成分の分解

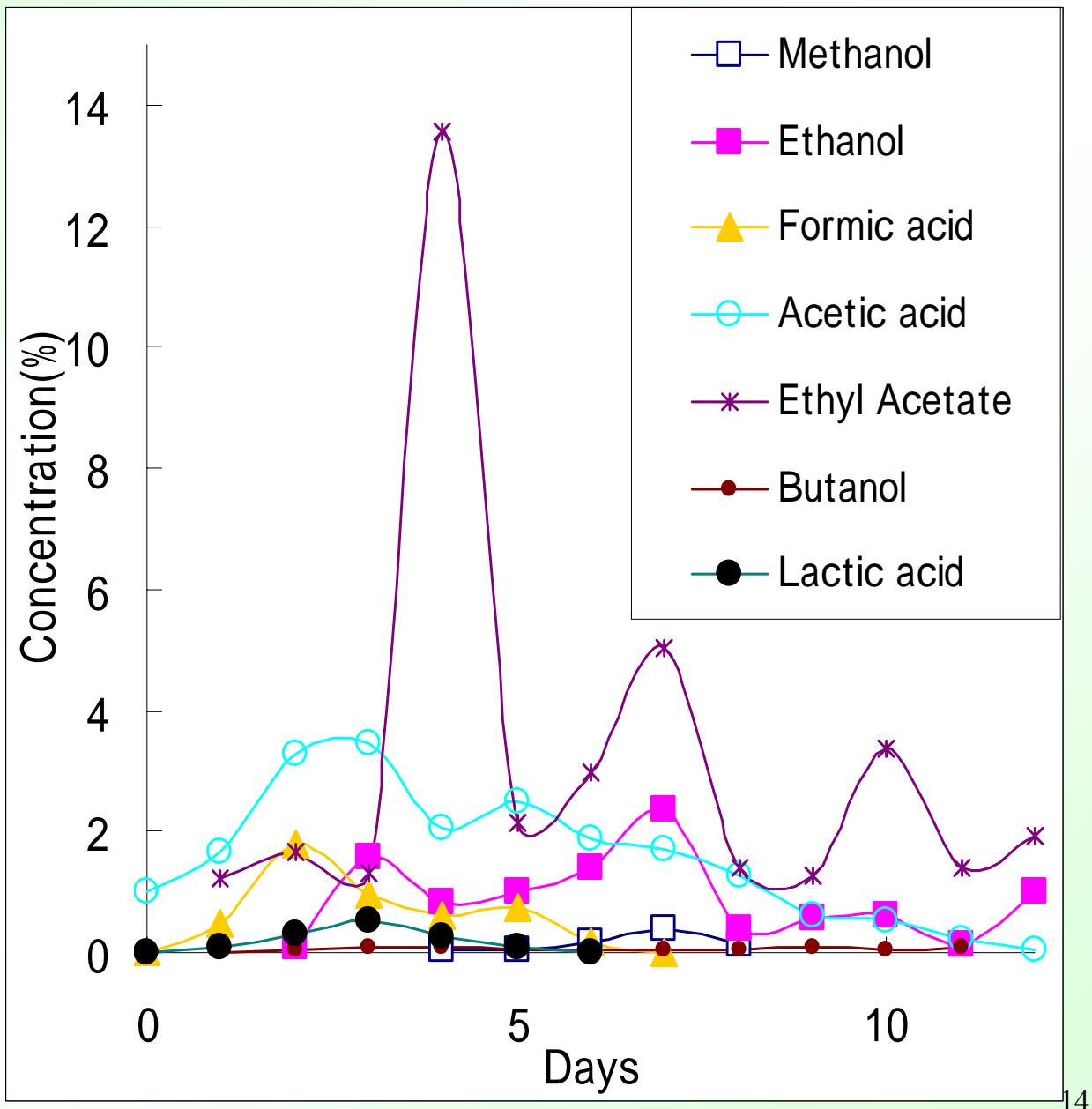


稻わら分解生成物

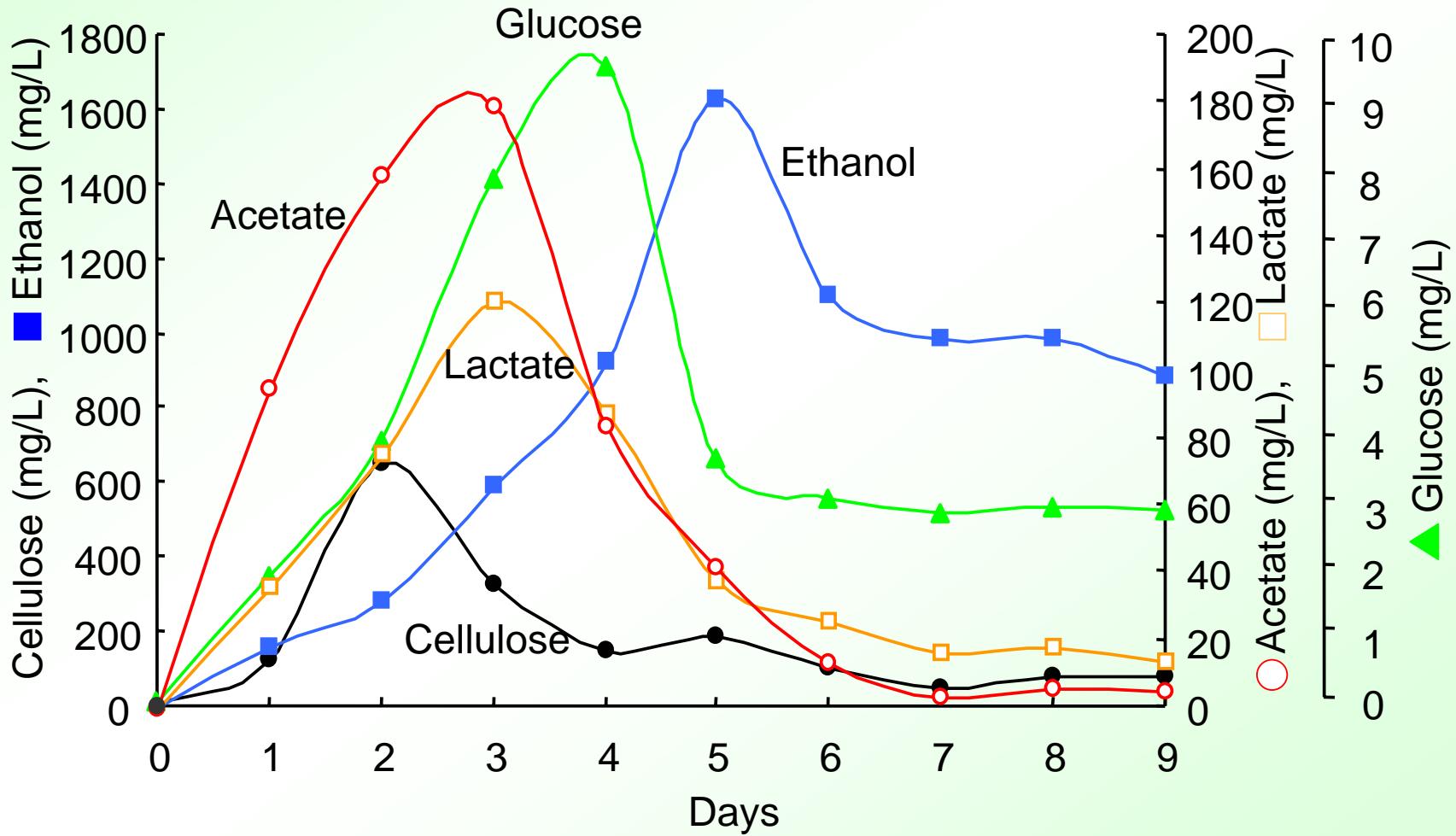
培養条件:

PCS培地, 400ml,

50 , 稻わら4g



稻わら分解生成物

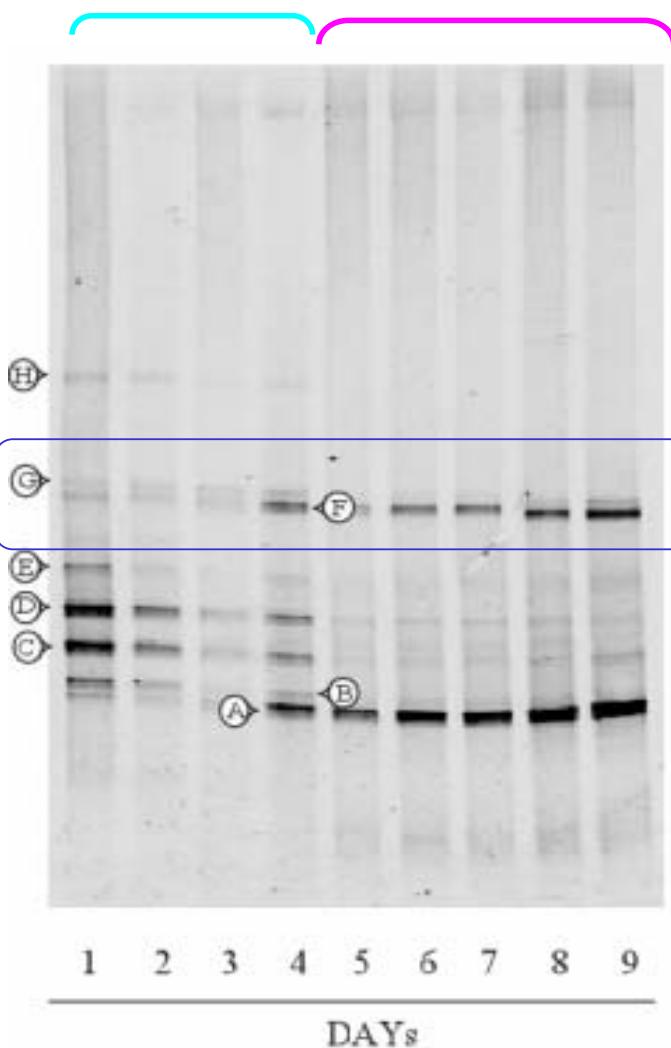


MC1菌種構成



プレートで培養できる菌株

DGGEで見たMC1構成菌種

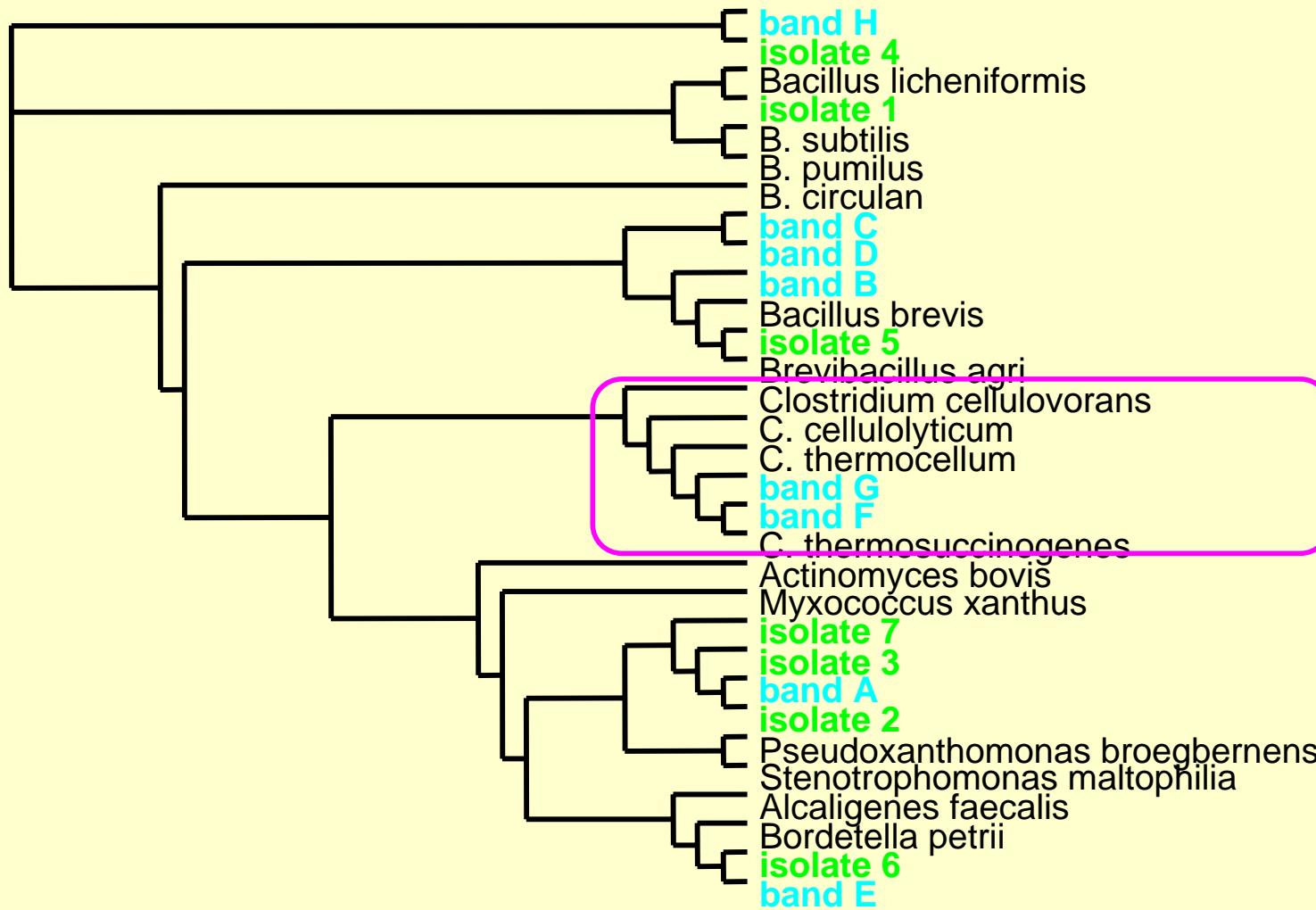


35%

Band	Isolate	Closest relative
-	M1-4	<i>Virgibacillus pantothenticus</i>
H	M1-1	<i>Bacillus licheniformis</i>
G	CSK-1	<i>Clostridium</i> sp.
F	FG4	<i>Clostridium thermosuccinogenes</i>
E	M1-6	<i>Bordetella</i> sp.
B, C, D	M1-5	<i>Brevibacillus agri</i>
A	M1-2,3,7	<i>Pseudoxanthomonas</i> sp.

50%

単離株及びDGGEバンドの16S rDNAの系統分析



嫌気性セルロース分解微生物の単離

単離源： 分解過程のわらへの付着微生物

培地： 炭素源はセルロースパウダーまたはろ紙

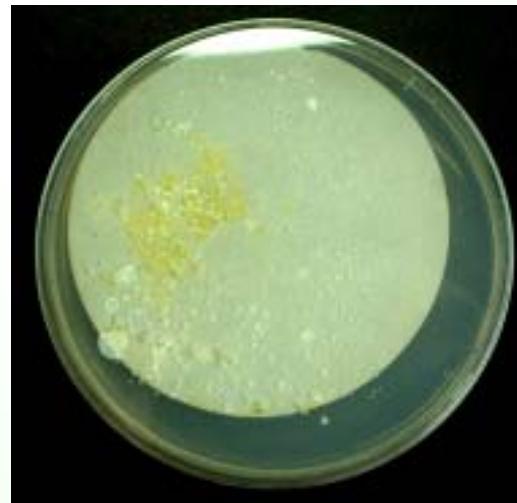
方法：

- ・嫌気条件下、液体静置培養(3~4日)
セルロースが黄変
- ・セルロース(と結合した菌体)のみを回収、植え継ぎして集積
- ・濾紙に菌接種後、寒天培地を重層し嫌気下で培養(3~4日)

黄色コロニー

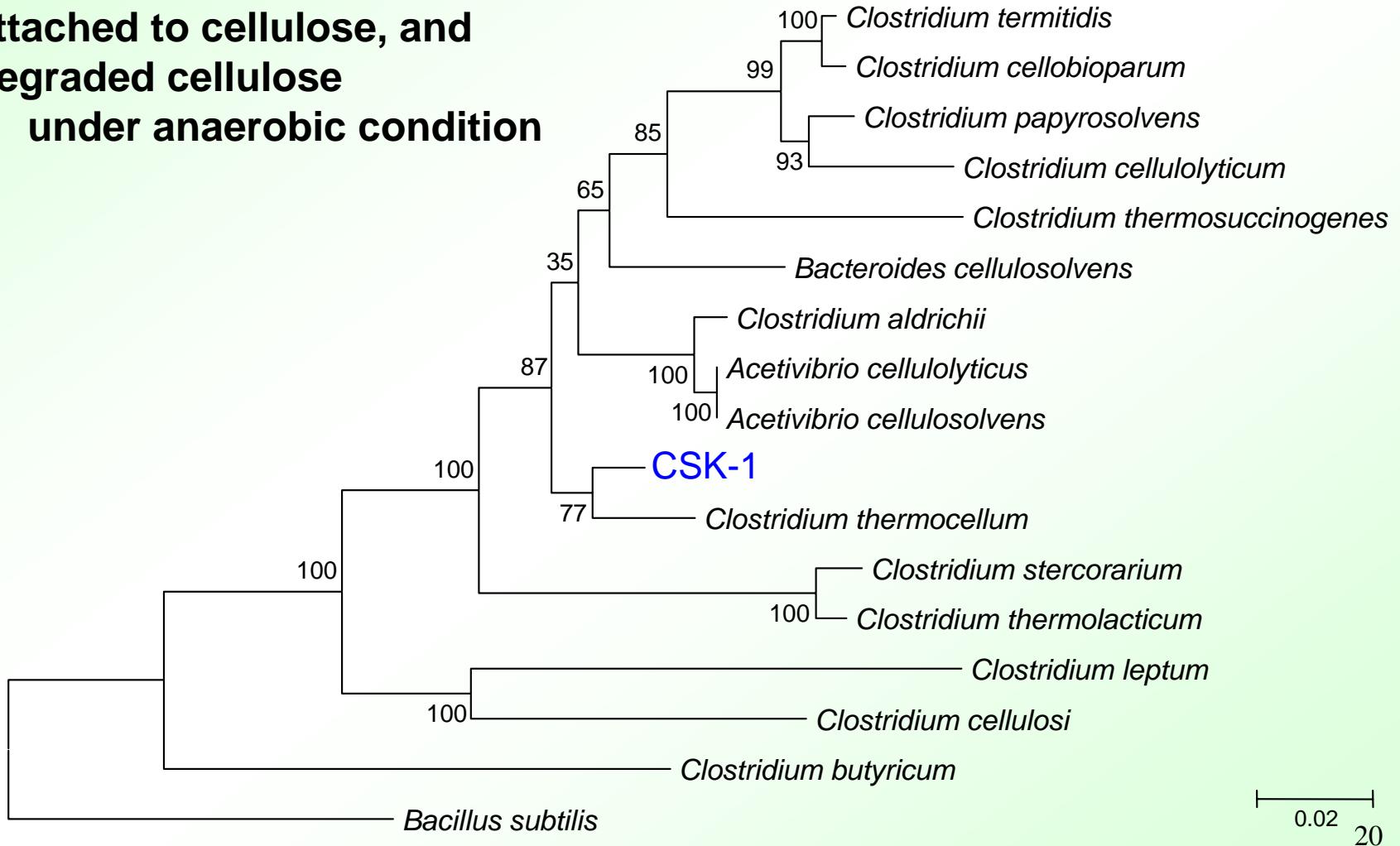


CSK-1株



Cellulose-attaching microorganism

Isolate CSK-1
attached to cellulose, and
degraded cellulose
under anaerobic condition



MC1の単離菌の部分性質

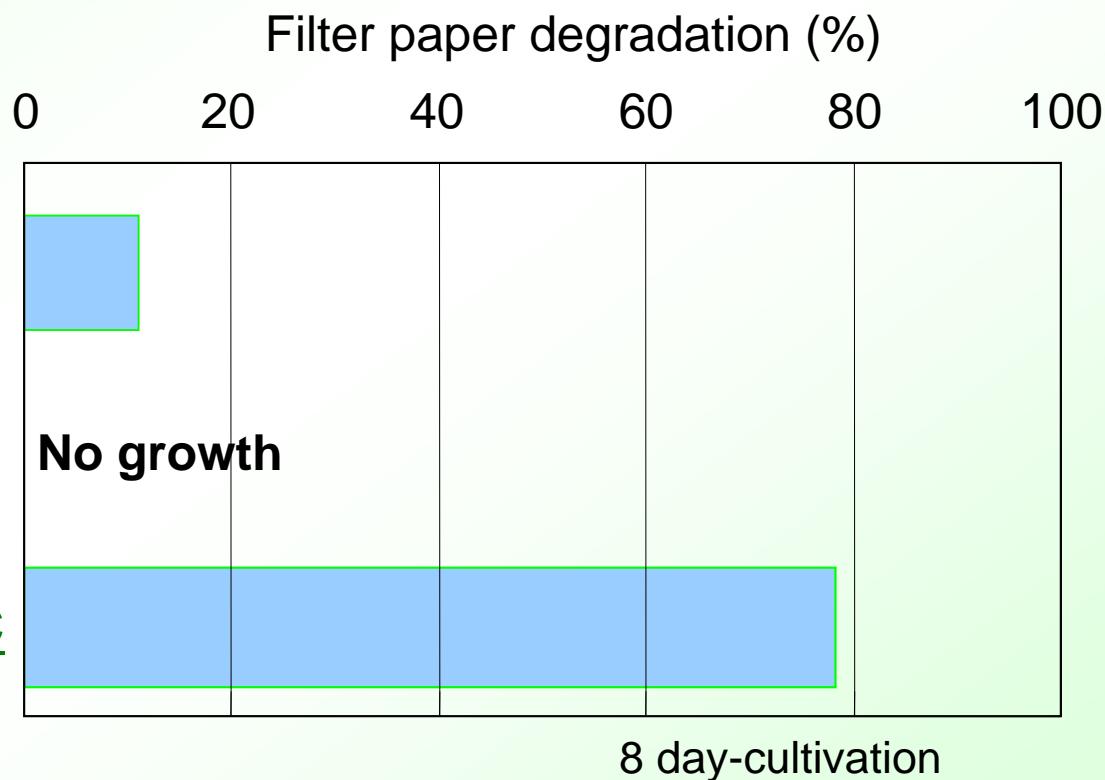
Strain	Closest relative	Aerobic growth	Anaerobic growth	Utilization			
				Cellulose	Cellobiose	Glucose	Acetate
S	<i>Clostridium straminisolvans</i>	-	+	+	+	-	-
F	<i>Clostridium thermosuccinogenes</i>	-	+	-	+	+	-
1	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	-	+	+	+
3	<i>Pseudoxanthomonas taiwanensis</i>	+	+	-	-	-	-
4	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>	+	-	-	-	-	+
5	<i>Brevibacillus agri</i>	+	-	-	-	+	-
6	<i>Bordetella petri</i>	+	-	-	-	-	-

CSK-1セルロース分解能力

CSK1/Anaerobic

CSK1/Aerobic

Community/Aerobic

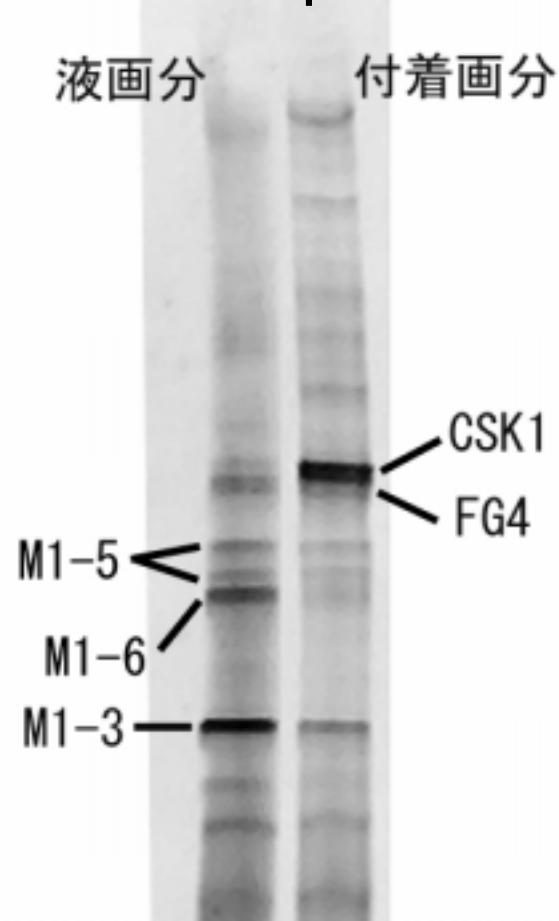


単離株の組み合わせによるセルロース分解

組あわせ	紙分解率(%)
S	0
123456	0
S 1	0
S 3	68
S 4	0
S 5	58
S 6	53
S 3 5 6	59
S 3 5 6 F	71
S 1 3 5 6	66
S 3 4 5 6	62
元の複合系	96

5株菌の培養系中での分布

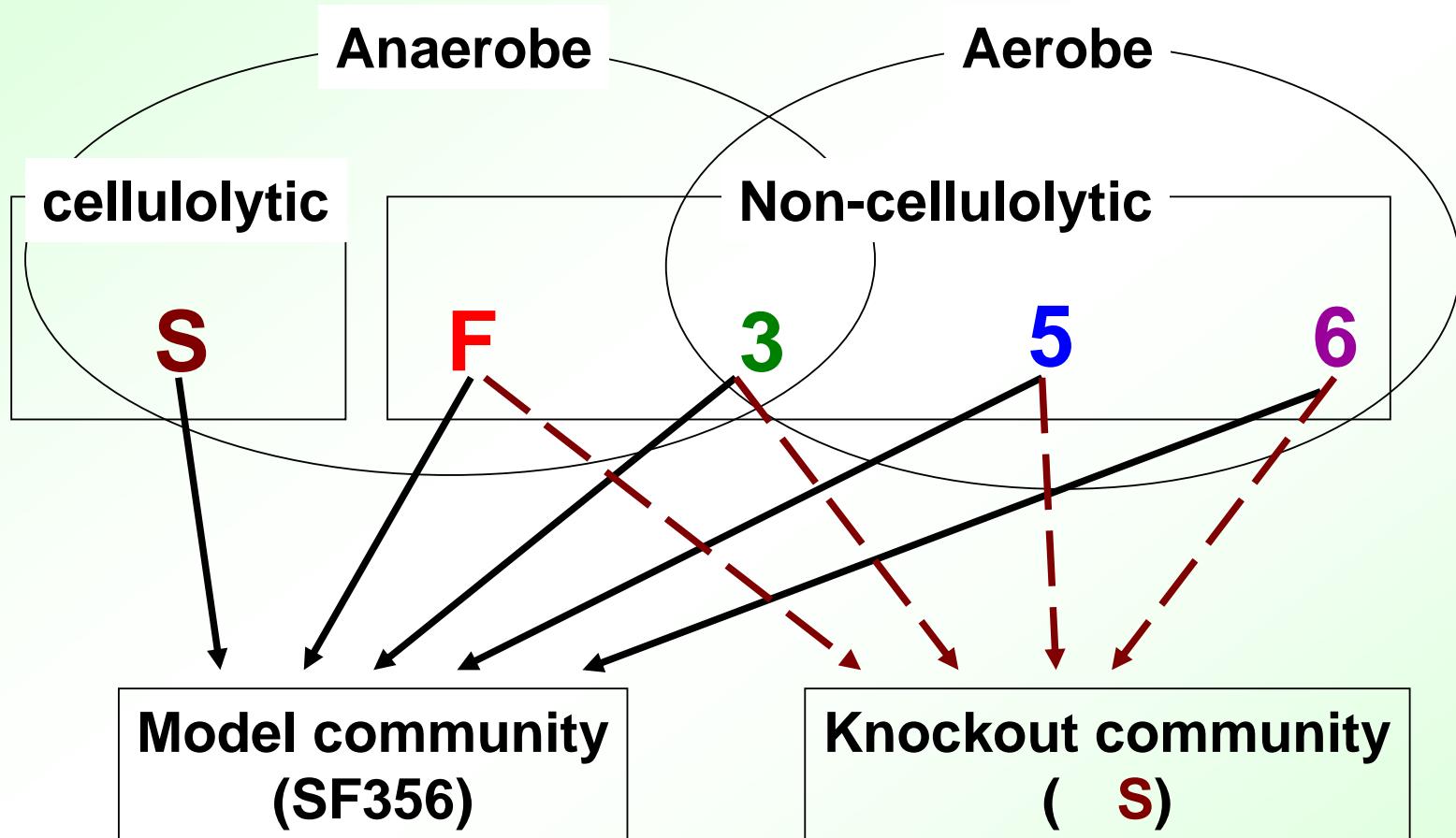
DGGE profile



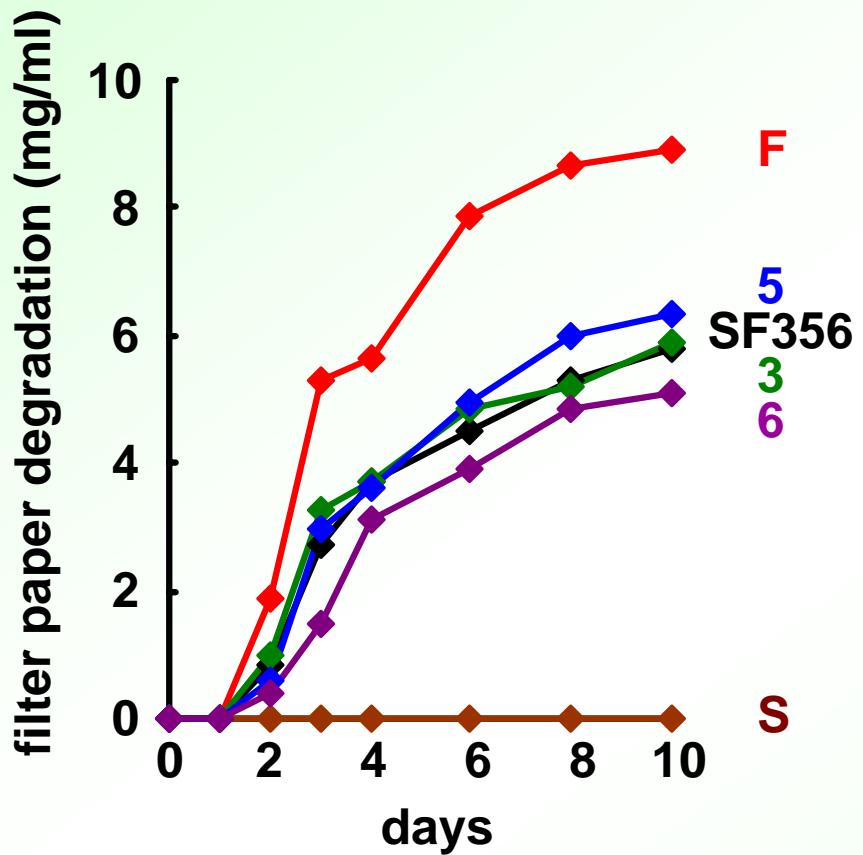
結晶セルロースへの付着性

isolate	adhesion
CSK1	+
FG4	+
M1-1	-
M1-3	-
M1-4	-
M1-5	-
M1-6	-

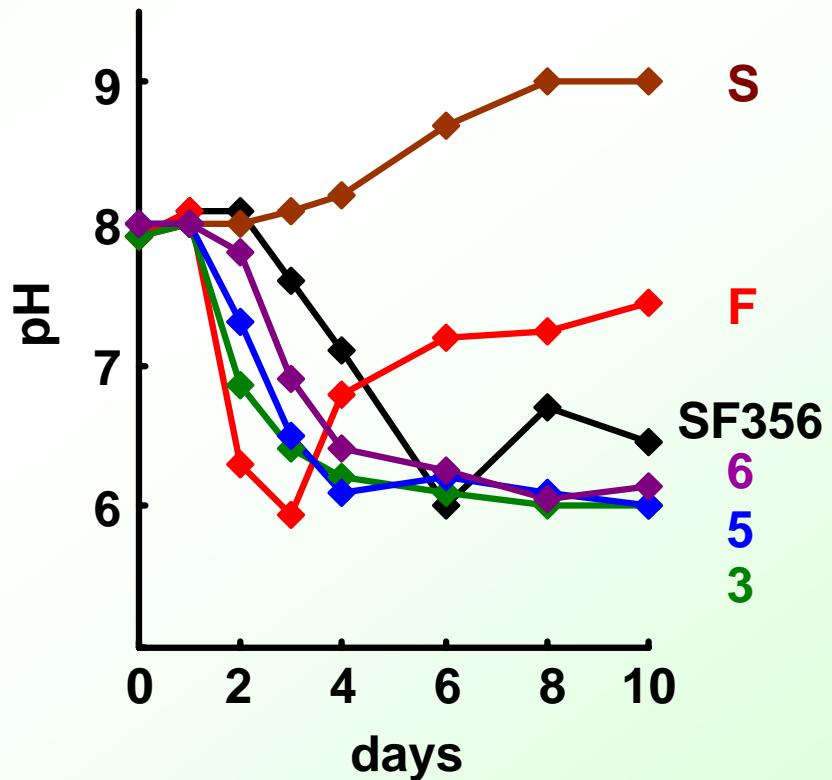
Knockout communities



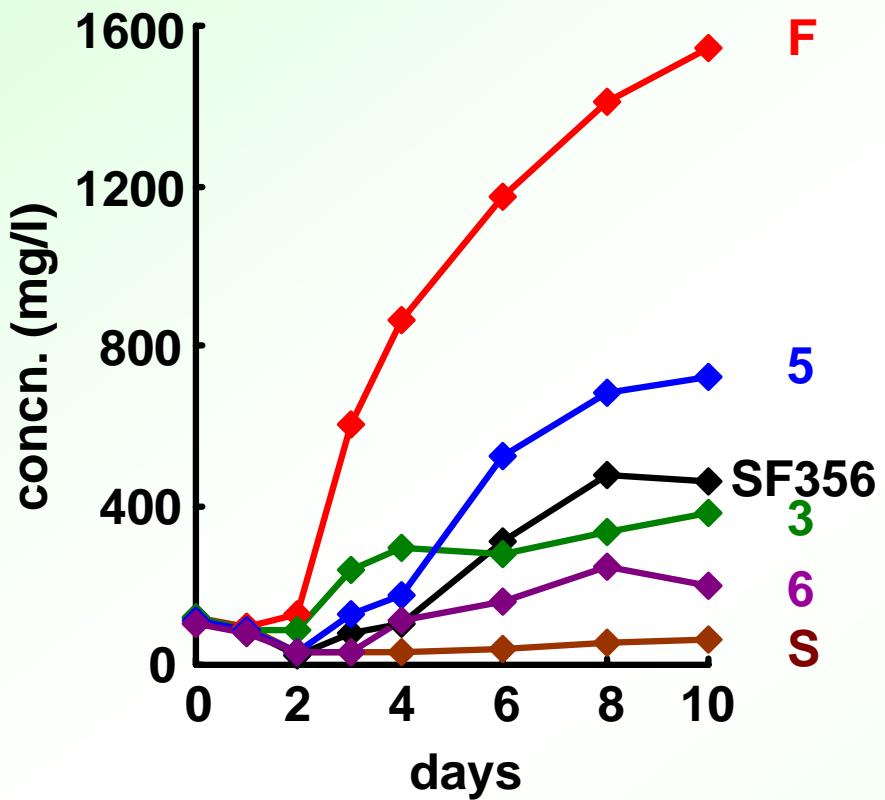
Filter paper degradation



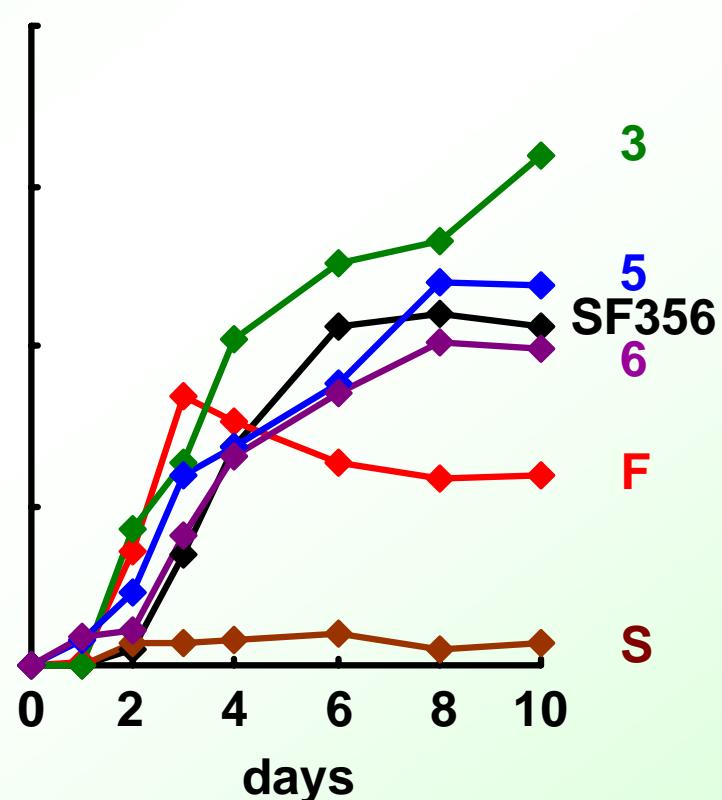
pH profile



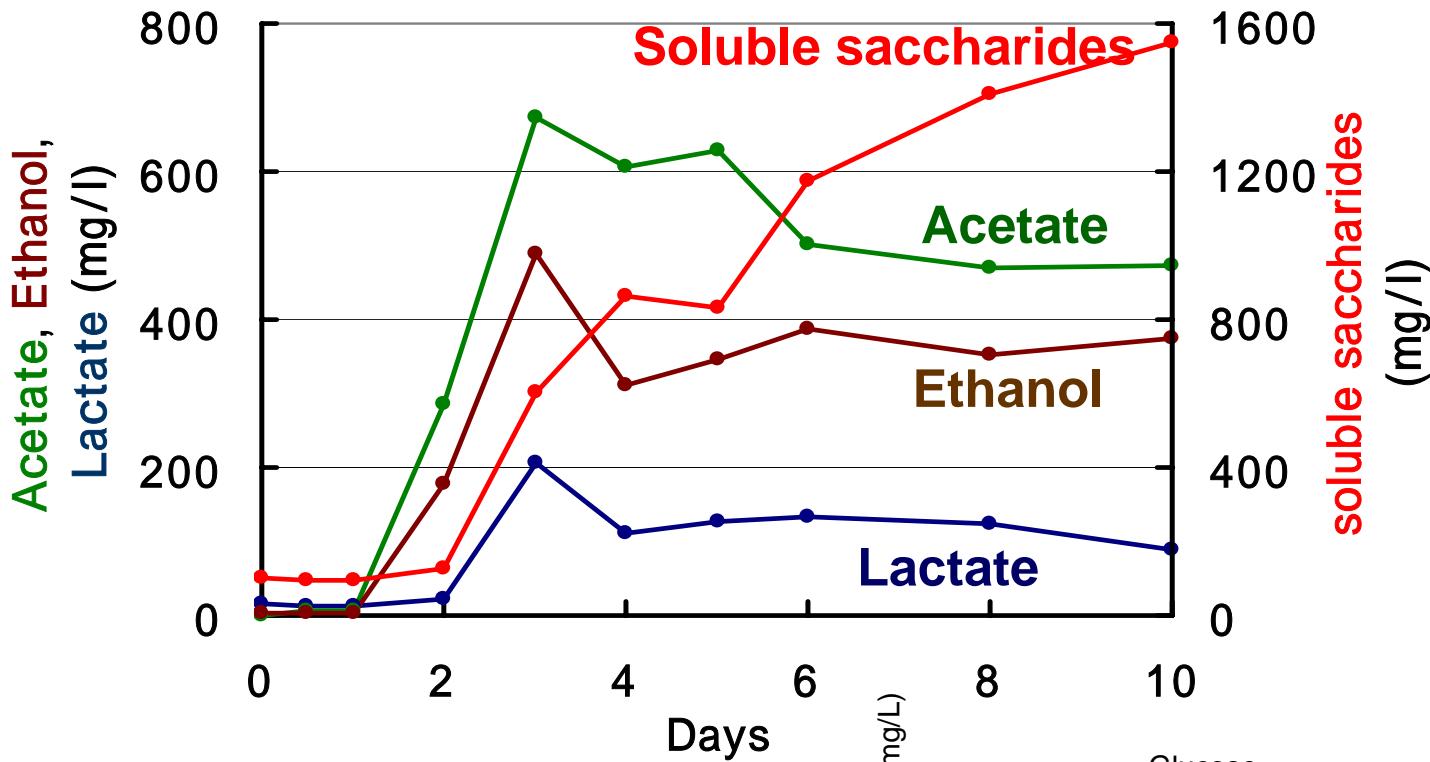
Oligosaccharides



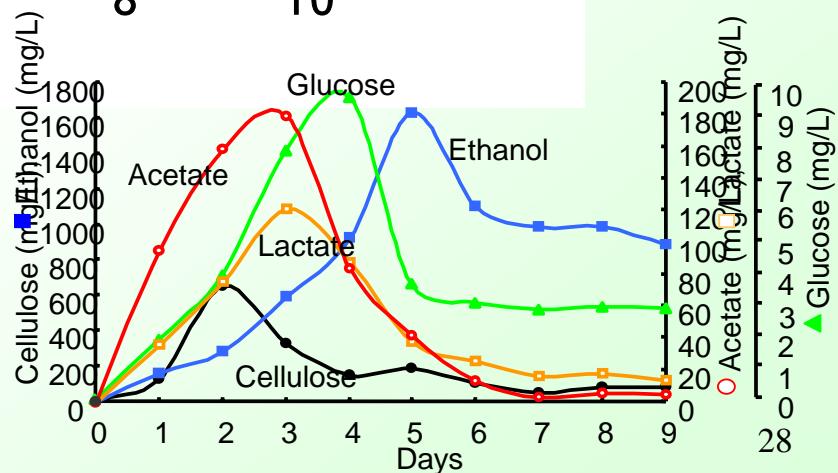
Acetate



4種混合系の生成物



MC1の元の群集に比べ…
糖類の蓄積が多い



まとめ

- * 多種の菌の組み合わせにより、強いセルロース分解力を持つ細菌複合系MC1を構築した。MC1は8日間で天然稲わらを完全分解する。
- * MC1は1株のセルロース分解菌 *Clostridium straminisolvans* CSK1と何種かの非セルロース分解菌で構成している。
- * MC1はセルロース分解過程に生成物を分解し続けるため、産物が蓄積できなく、群集自体は安定している。
- * MC1単離菌から新しく組み合わせる場合、分解力を保ちながら分解生成物の蓄積が可能になる。

ご清聴ありがとうございました

ございました！