

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科
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 : 毎年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, 徳恵

処理できない稲わら

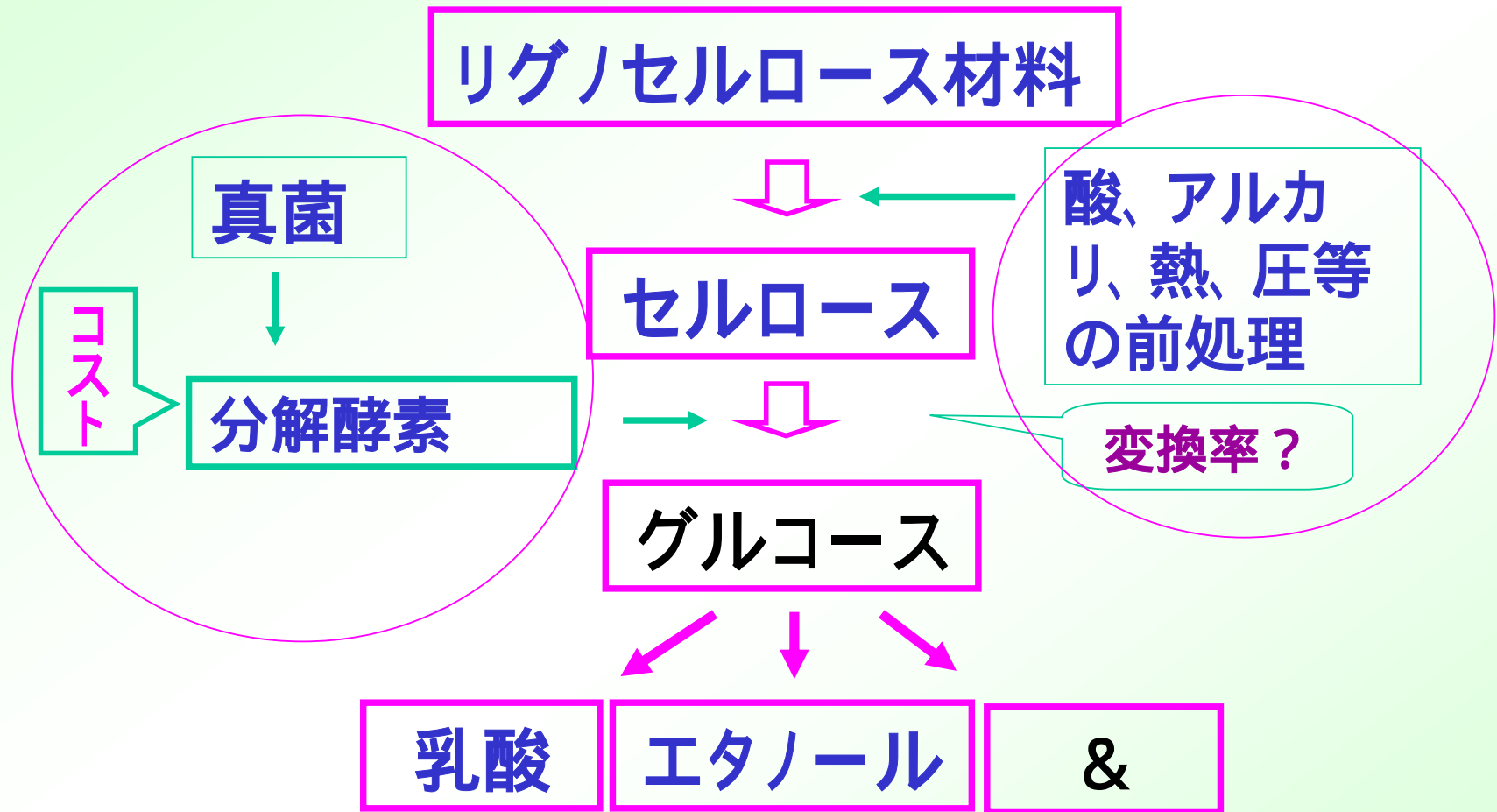


2004年11月, 绥化

A photograph showing a large fire burning in a field of dry wheat straw. The fire is intense, with bright orange and yellow flames rising from the straw. The background is a clear blue sky. The text "処理できない小麦のわら" is overlaid on the bottom half of the image.

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

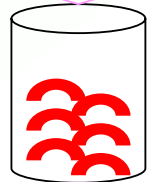
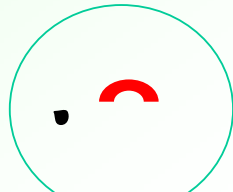
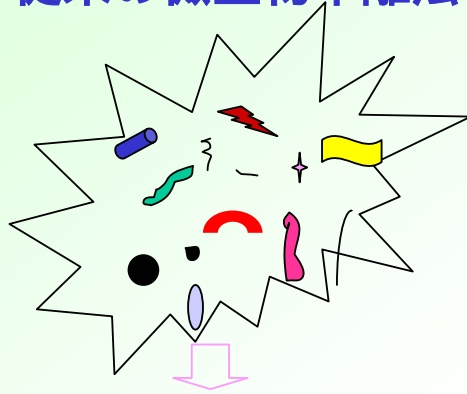


細菌のセルロース分解能力

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



機能？

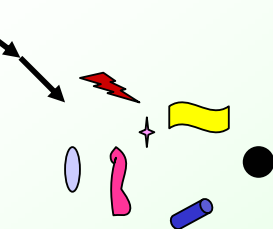
安定性？

環境耐性？

応用

環境処理には利用できない

本研究の構築法

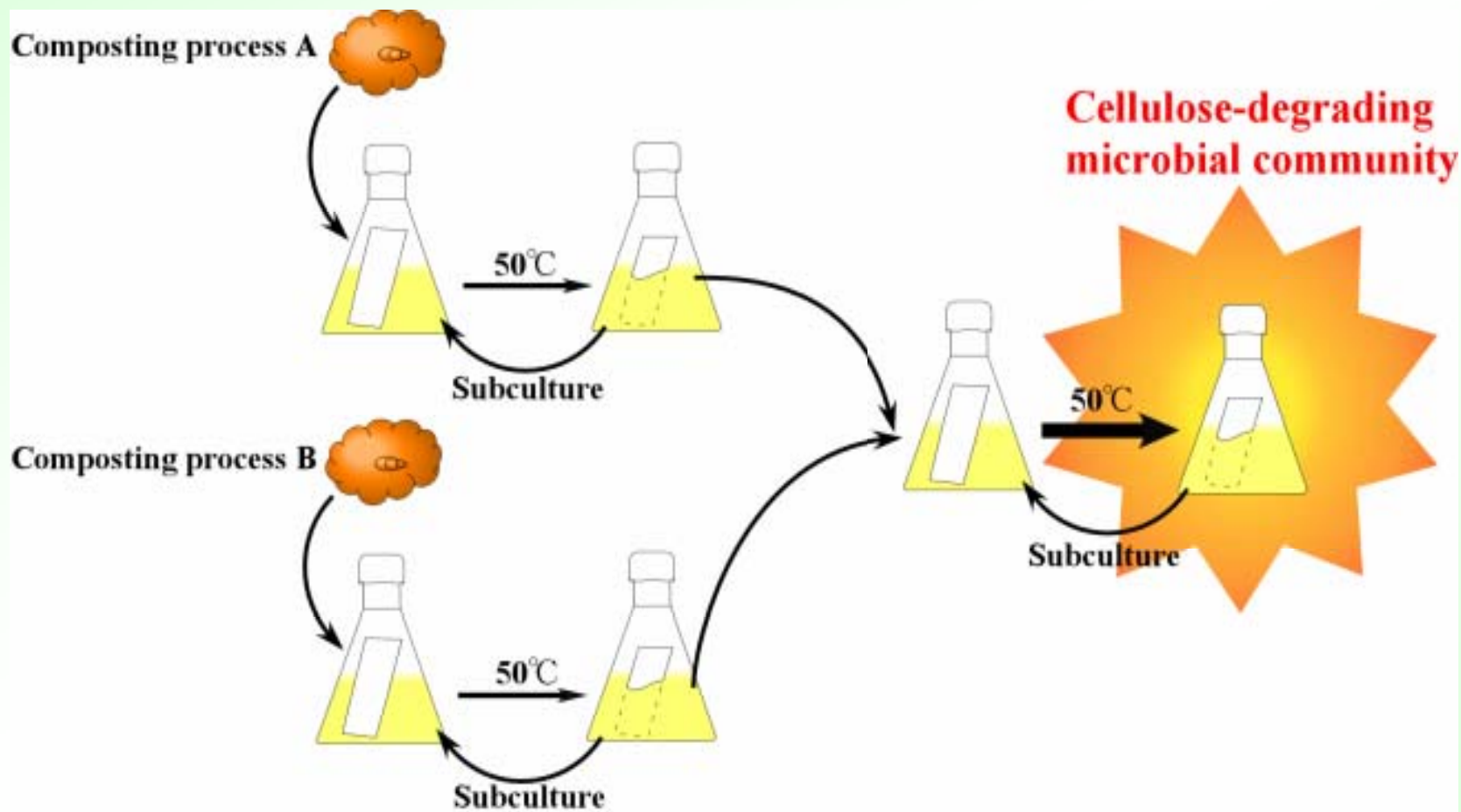


分子生態手法

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

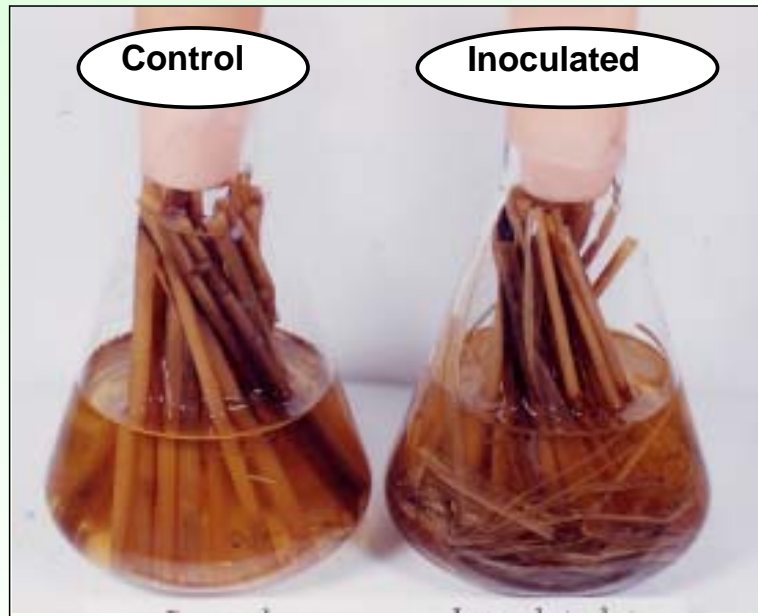
M1-6 AB039335

M1-7 AB039336

CUI zongjun et al.

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

細菌複合系MC1の稲わら分解



day 0

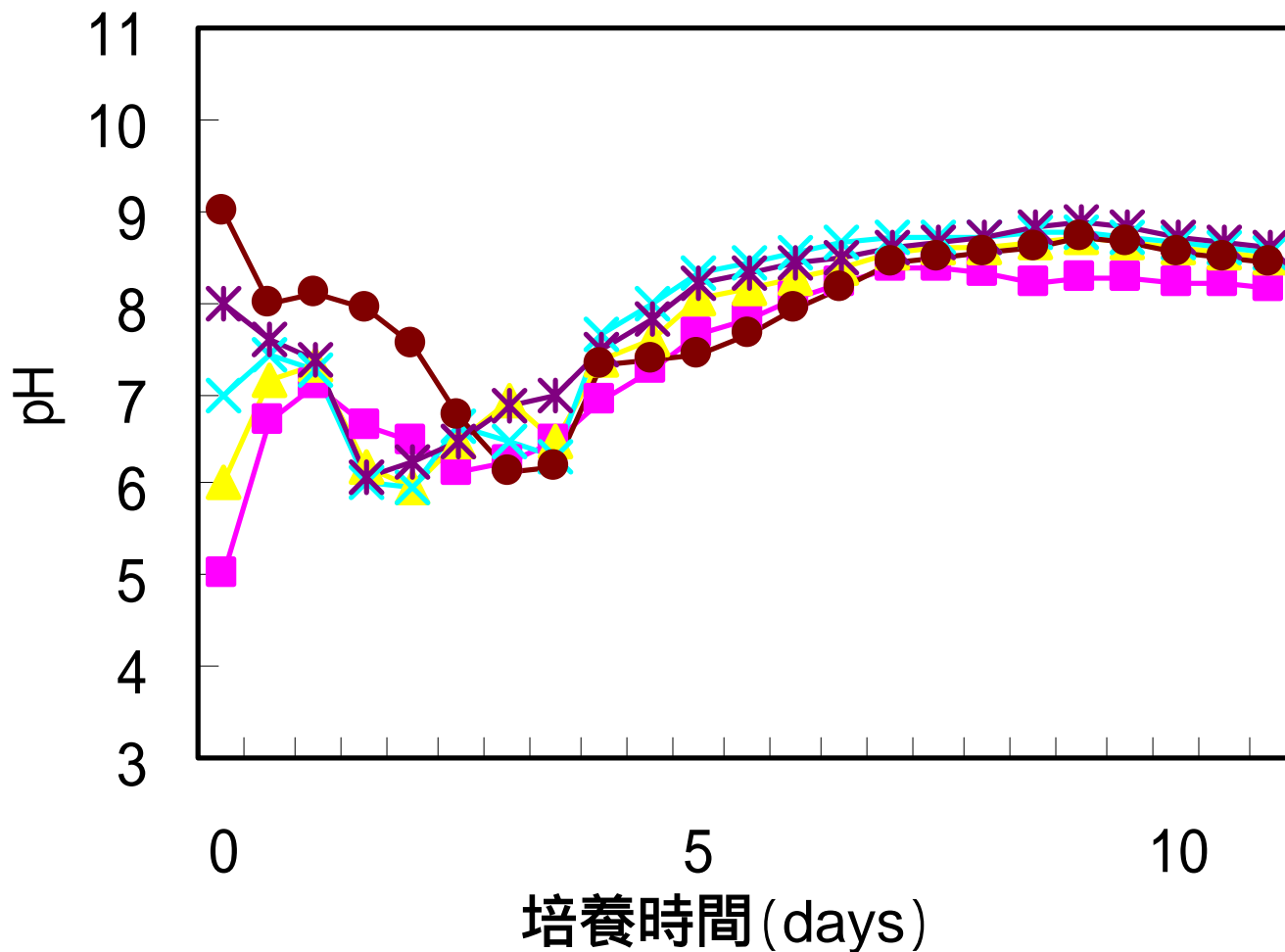


day 8

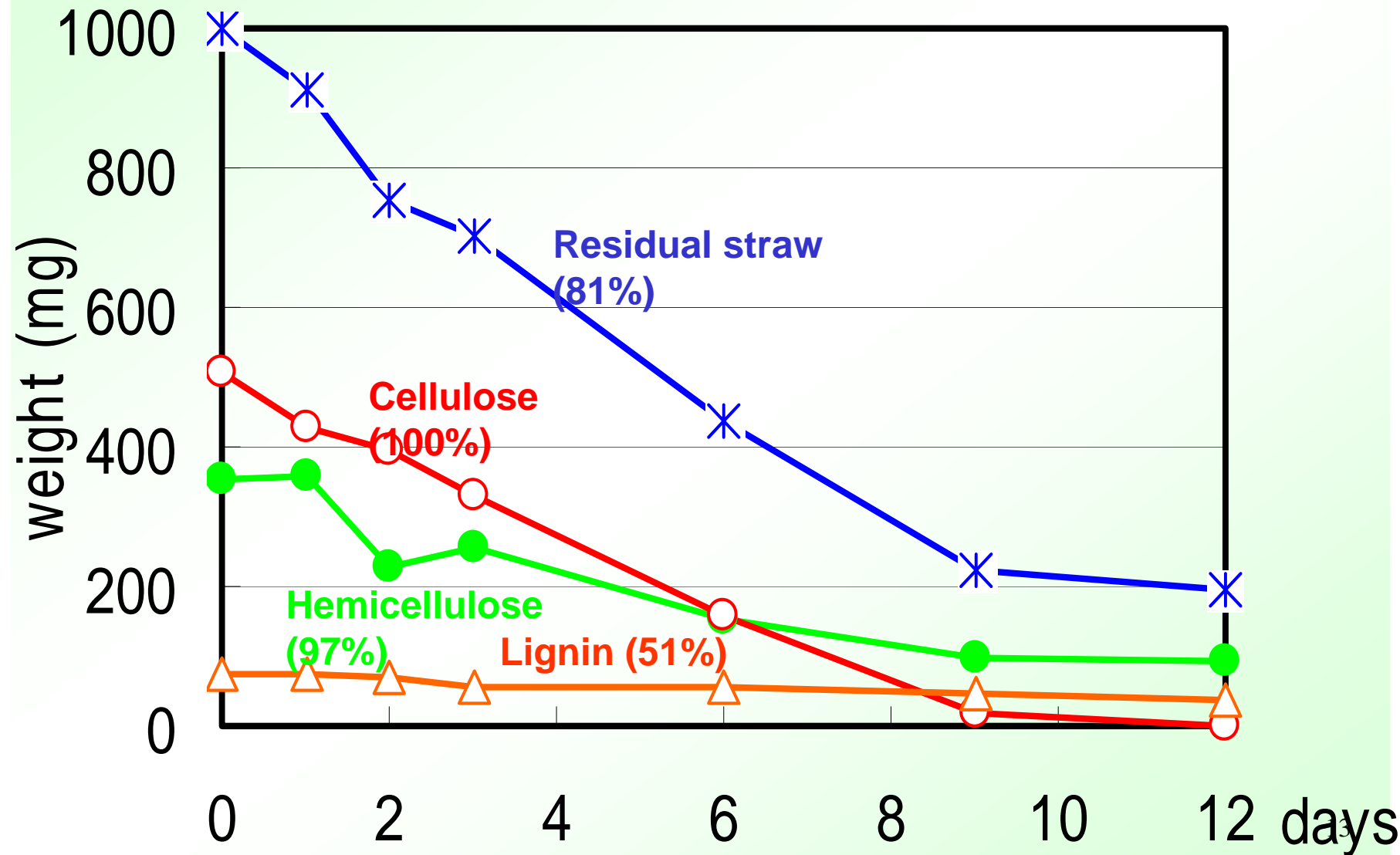
特性:

@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



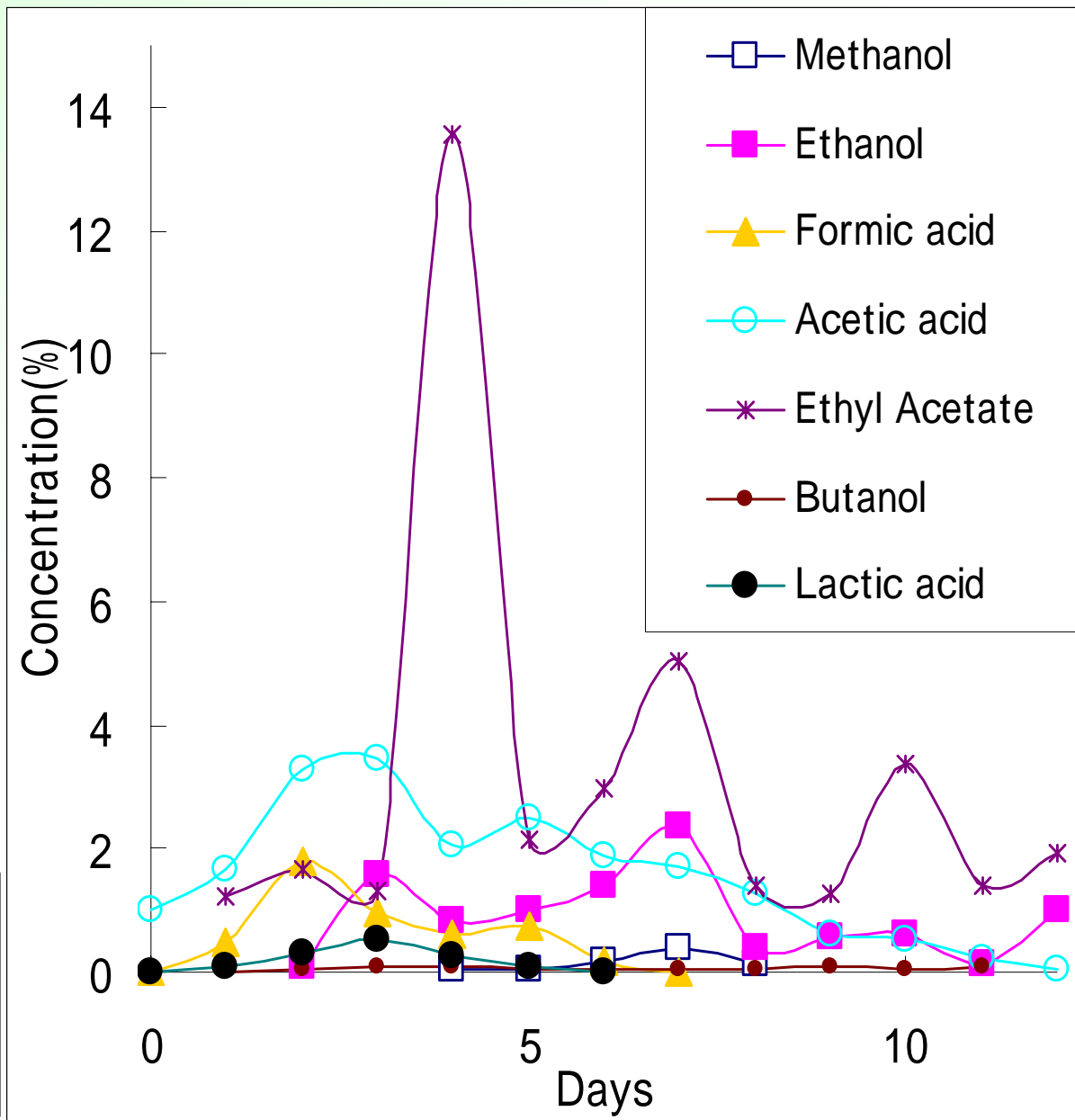
MC1の稲わら各成分の分解



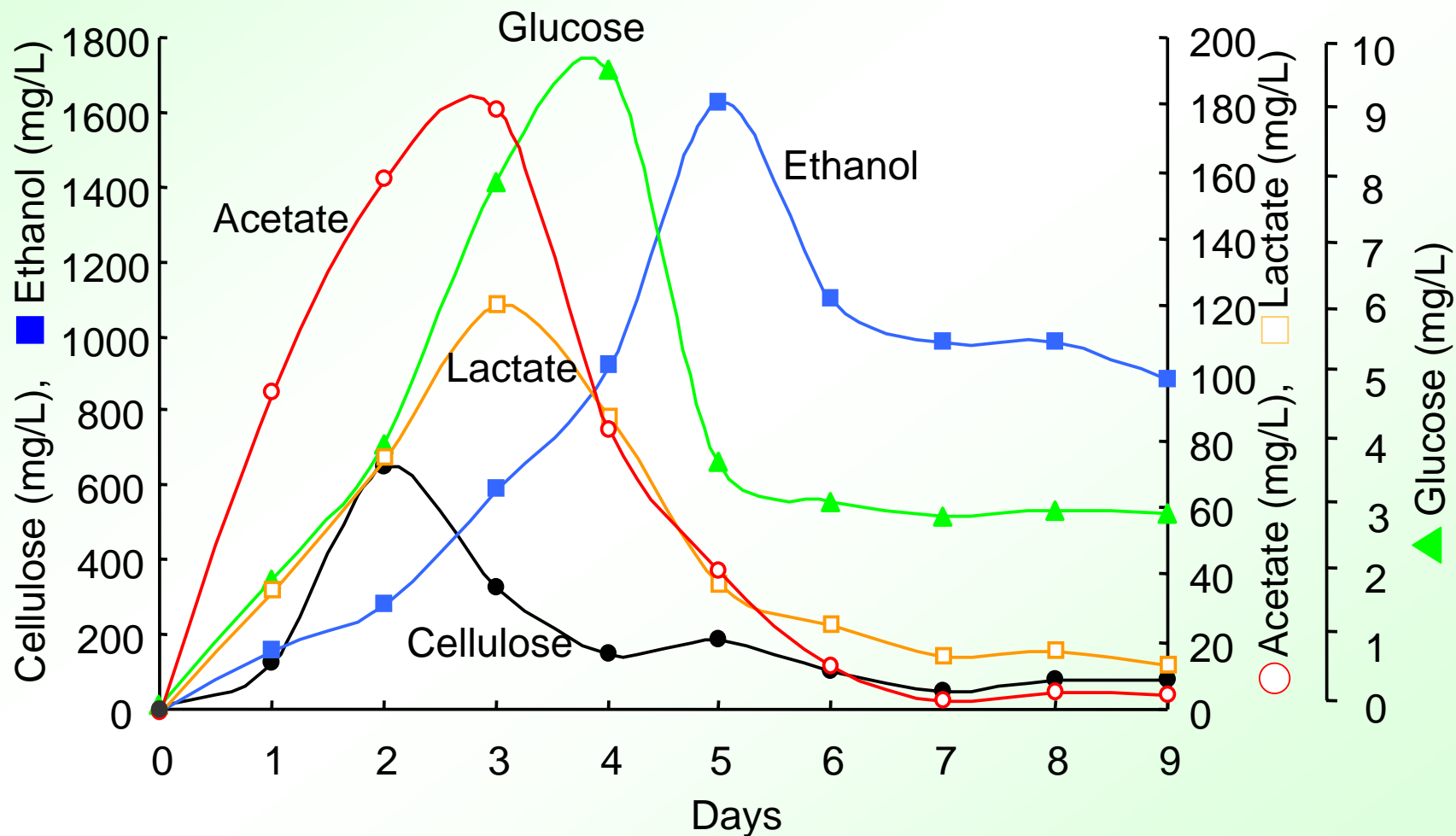
稲わら分解生成物

培養条件:

PCS培地, 400ml,
50 , 稲わら4g



稲わら分解生成物

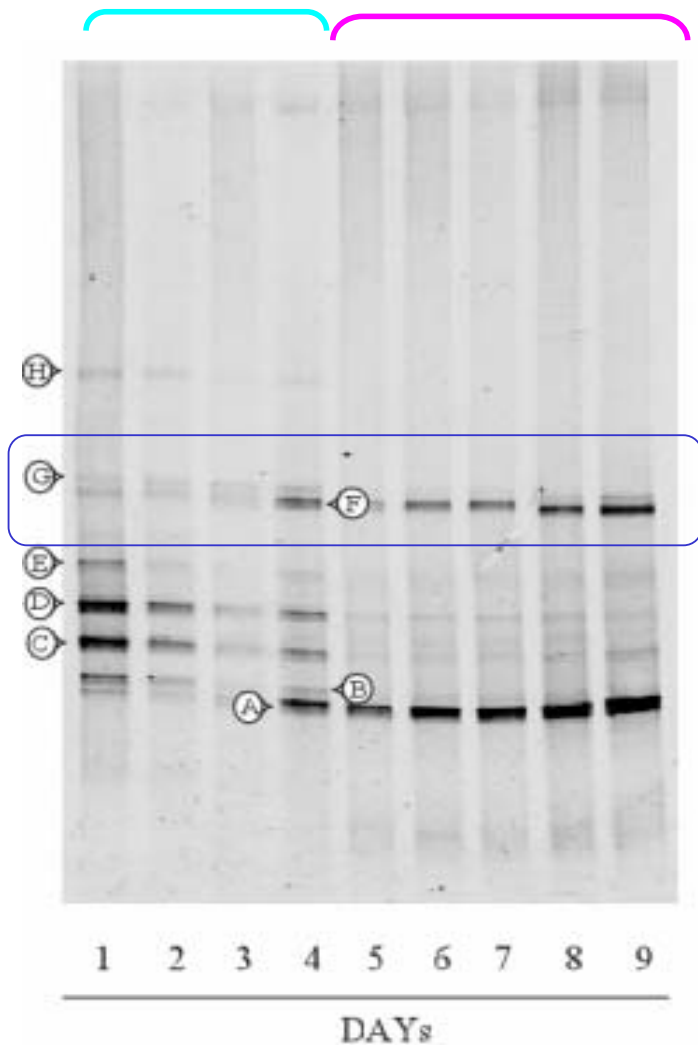


MC1菌種構成



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 pantothenicus</i>
---	------	------------------------------------

H	M1-1	<i>Bacillus licheniformis</i>
---	------	-------------------------------

G	CSK-1	<i>Clostridium</i> sp.
---	-------	------------------------

F	FG4	<i>Clostridium thermosuccinogenes</i>
---	-----	---------------------------------------

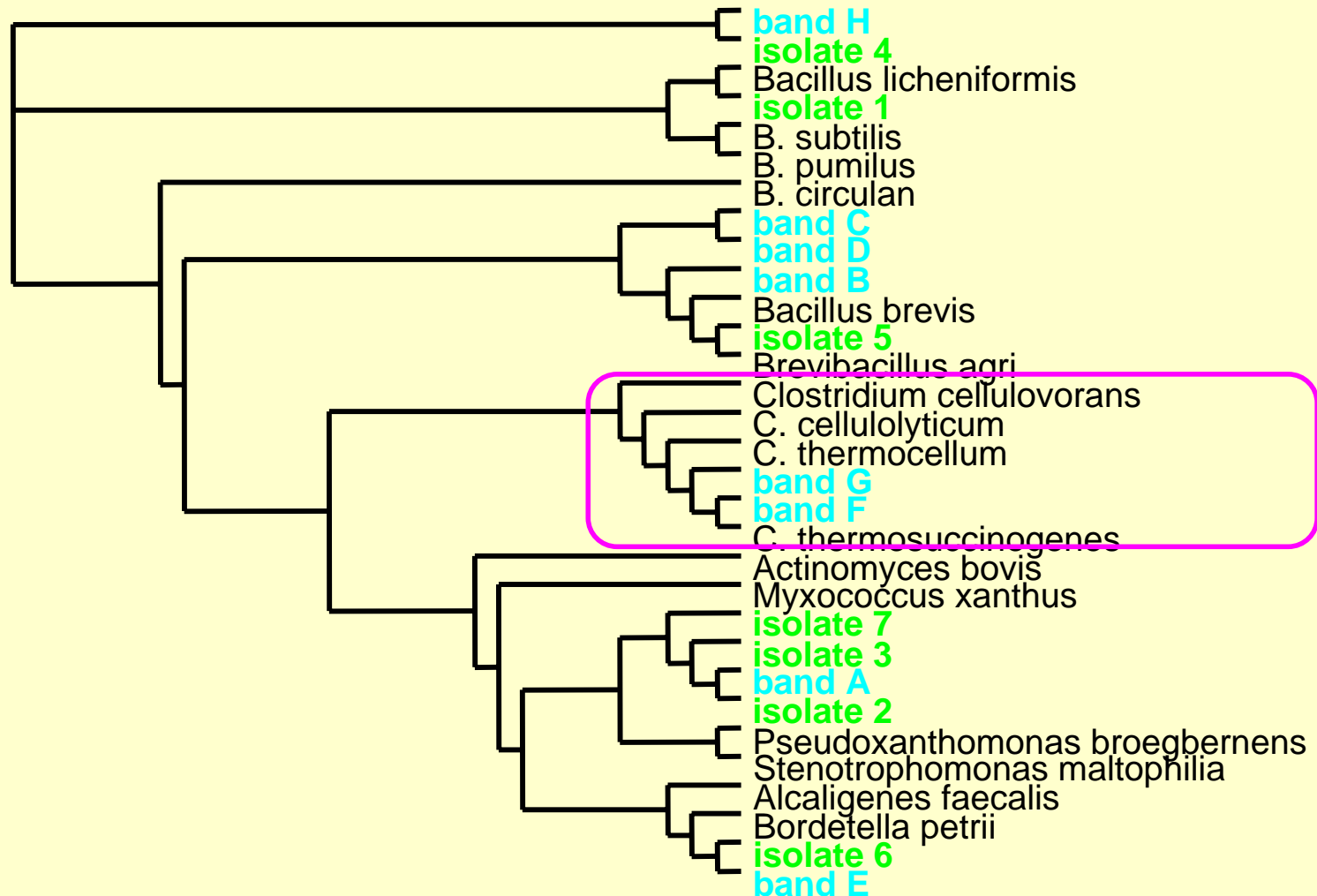
E	M1-6	<i>Bordetella</i> sp.
---	------	-----------------------

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)

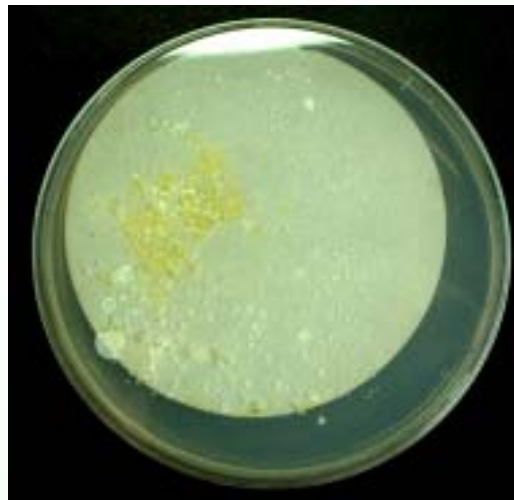
セルロースが黄変

- ・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

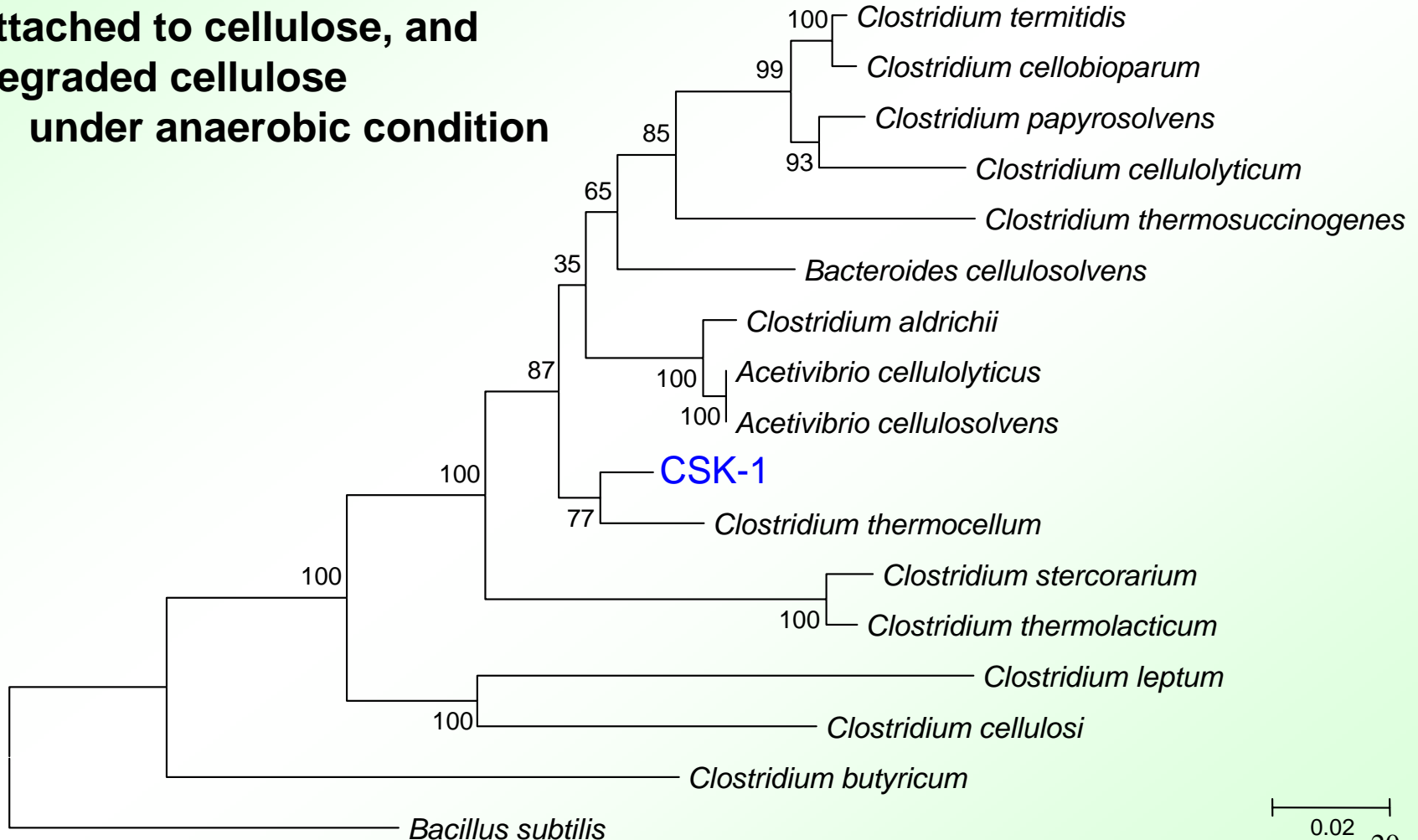


CSK-1株



Cellulose-attaching microorganism

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



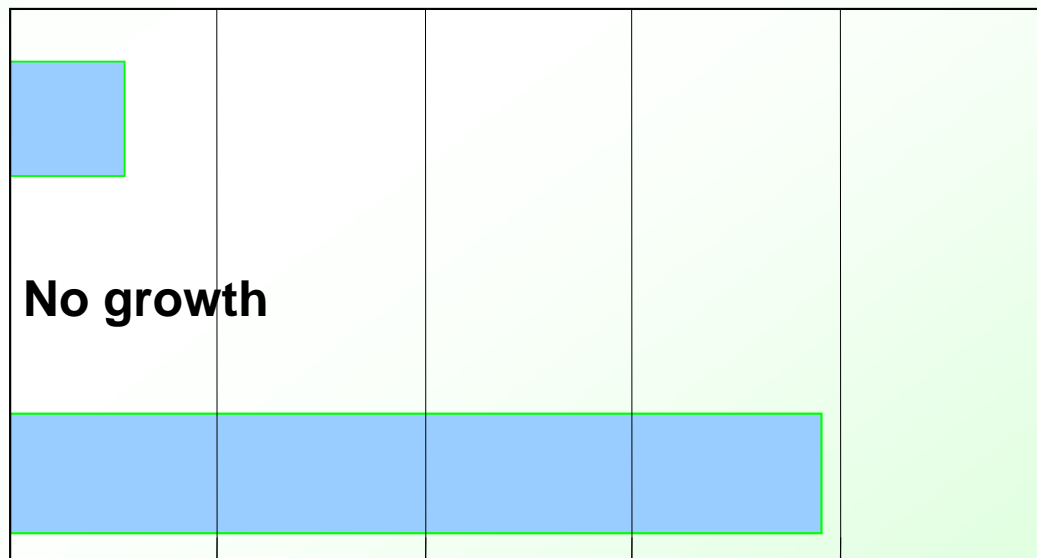
MC1の単離菌の部分性質

Strain	Closest relative	Aerobic growth	Anaerobic growth	Utilization			
				Cellulose	Cellobiose	Glucose	Acetate
S	<i>Clostridium straminisolvens</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

Filter paper degradation (%)

0 20 40 60 80 100



8 day-cultivation

CSK1/Anaerobic

CSK1/Aerobic

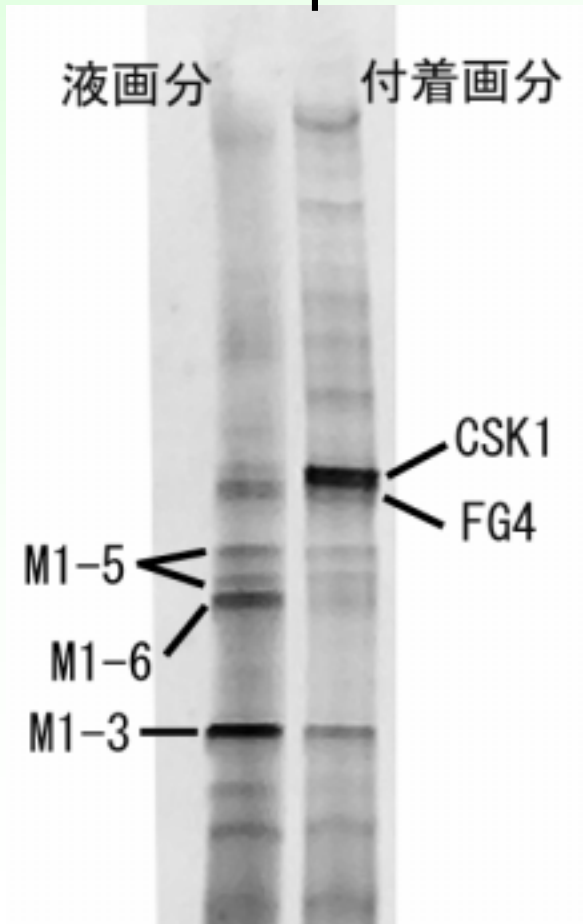
Community/Aerobic

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

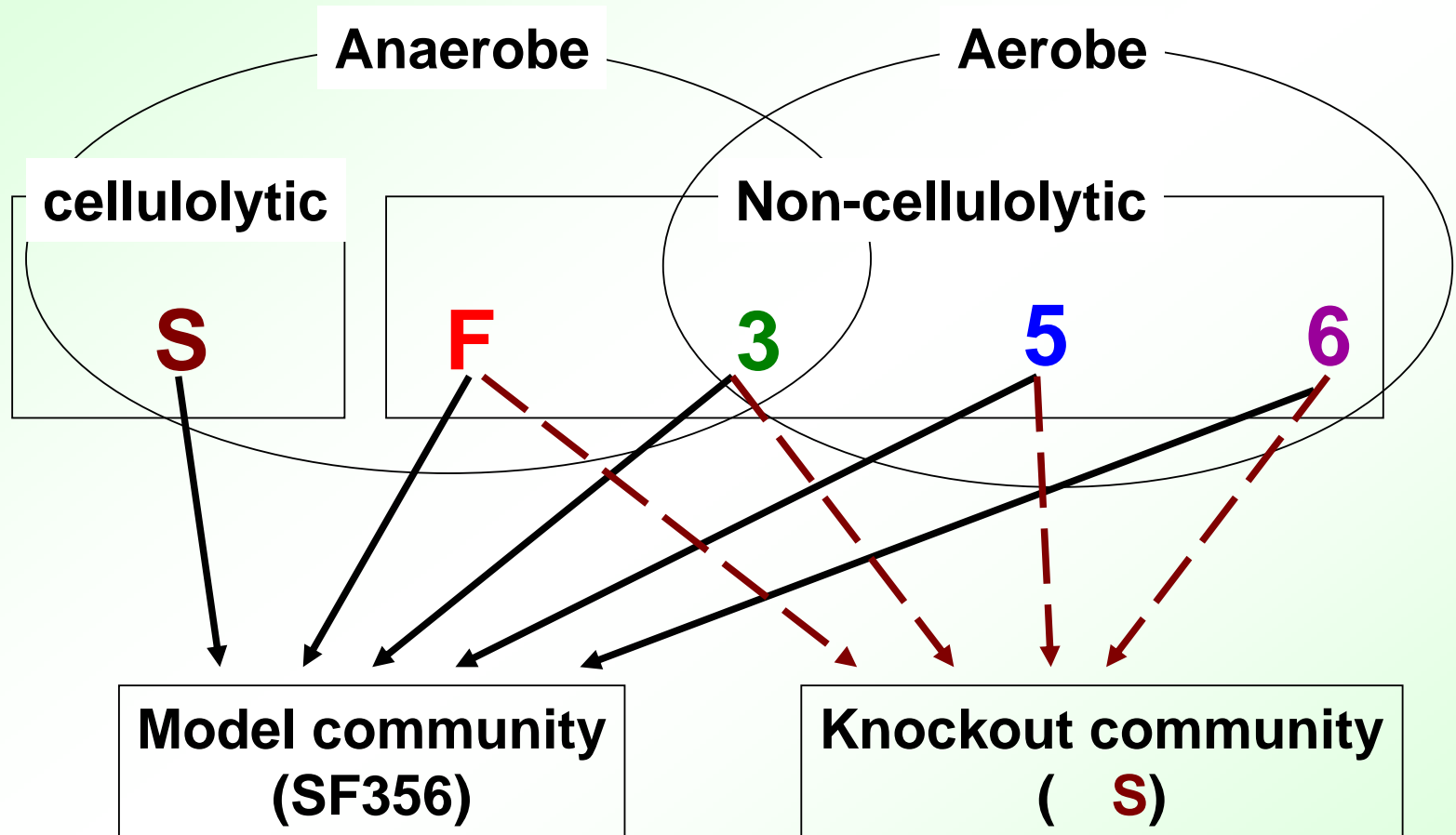
DGGE profile



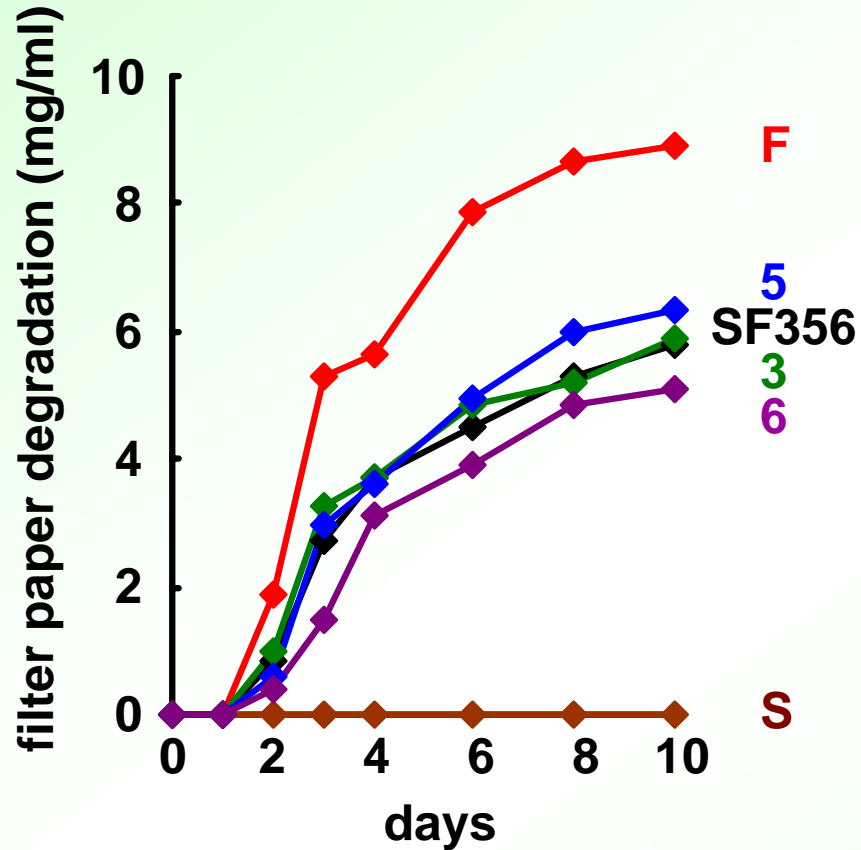
結晶セルロースへの付着性

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

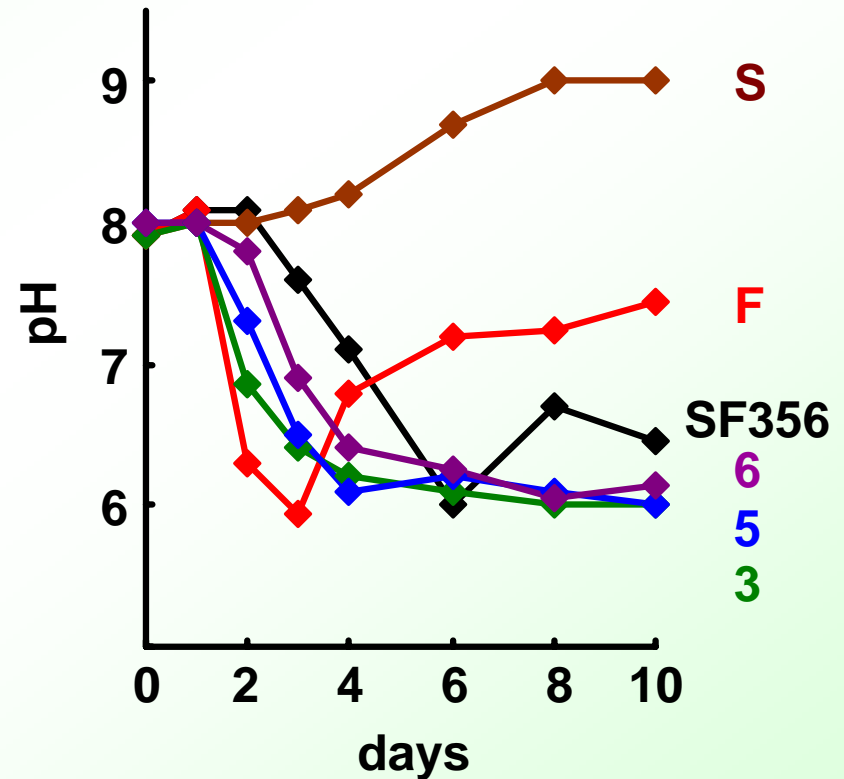
Knockout communities



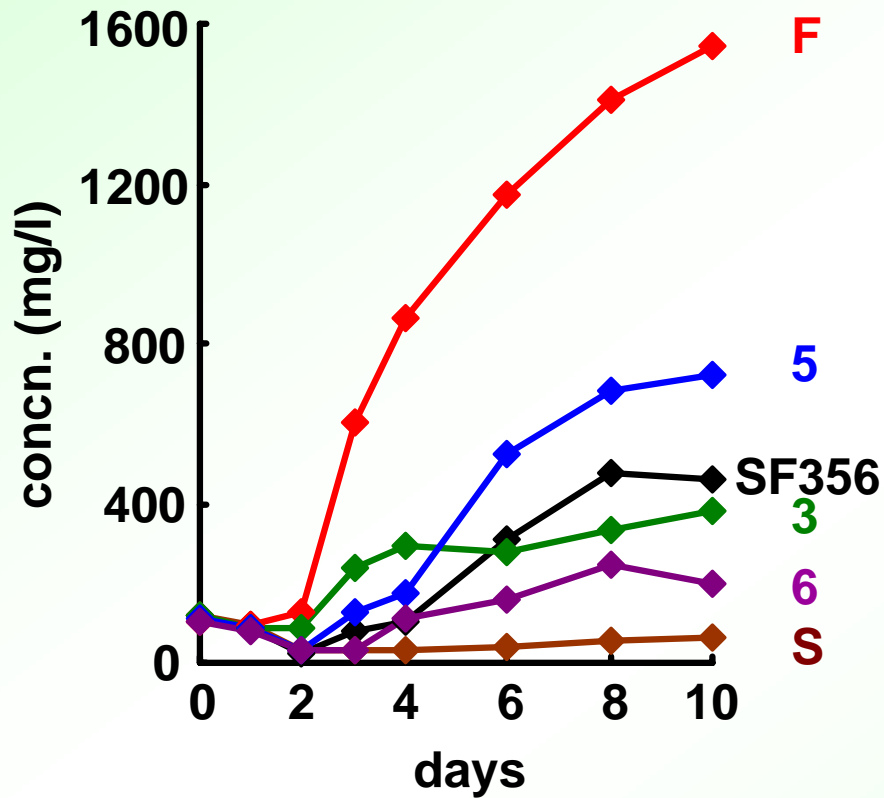
Filter paper degradation



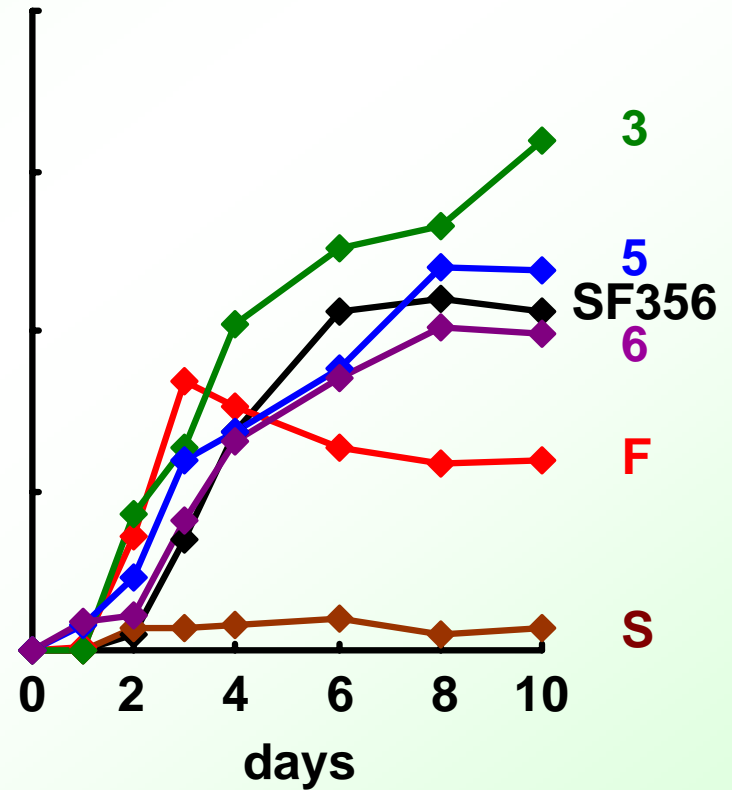
pH profile



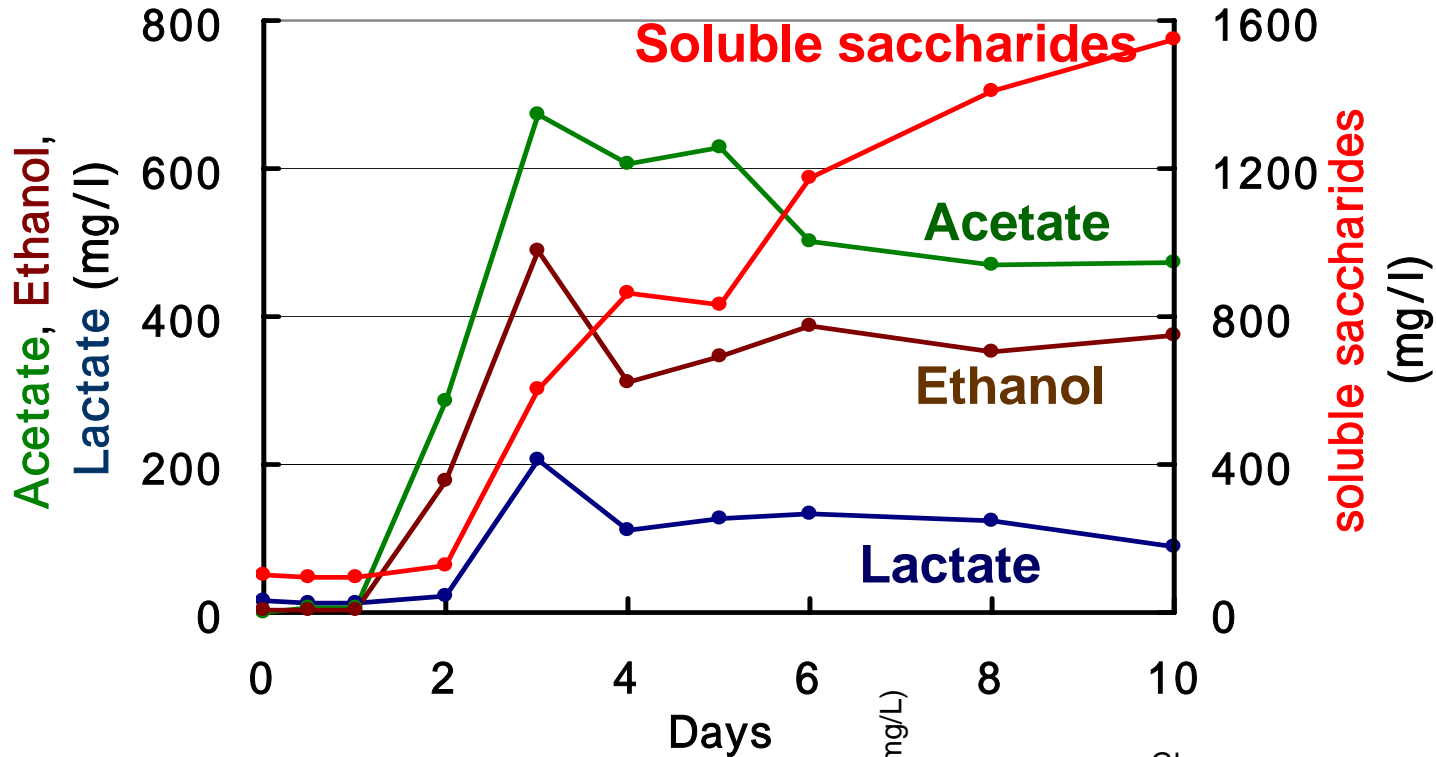
Oligosaccharides



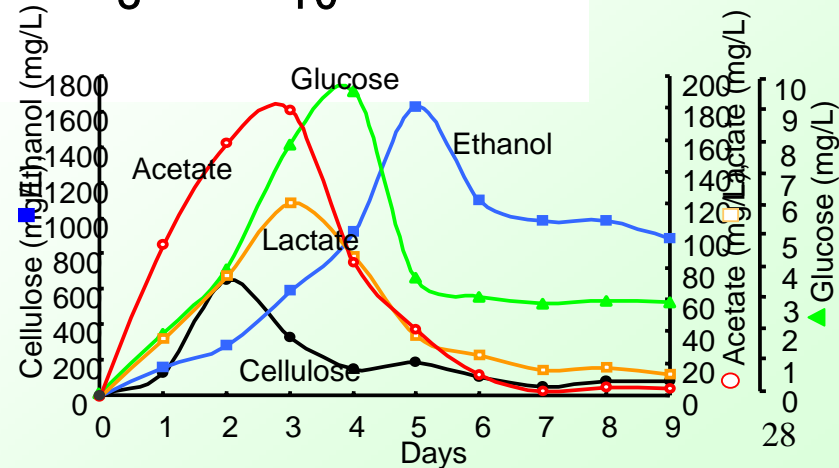
Acetate



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日間で天然稻わらを完全分解する。
- * MC1は1株のセルロース分解菌 *Clostridium straminisolvens* 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！