

2026 年 2 月 6 日

国立大学法人東北大学

国立大学法人三重大学

ソルガム残渣を分解・糖化する酵素群の全容解明！ —微生物酵素による環境にやさしいブタノール製造に期待—

【発表のポイント】

- セルロース系バイオマスは環境にやさしいエネルギー源として期待されていますが、その分解・糖化には、基質特異性の異なる複数の糖質分解酵素が必要となります。
- 資源作物ソルガムの搾りかす（バガス）を対象とした嫌気性セルロソーム生産菌 *Clostridium cellulovorans* 由来の酵素群の解明を目指しました。
- 未処理と前処理をしたソルガムバガスに加えて、各種炭素源（グルコースなど）を添加した培地で誘導される超酵素複合体セルロソームとフリー酵素（ノンセルロソーム）について、プロテオーム解析で全容を明らかにしました。

【概要】

植物の細胞壁の主成分リグノセルロース系バイオマスの分解・糖化には基質特異性の異なる複数の糖質加水分解酵素の存在とそれらの相乗効果が必須です。

グリーンクロステック研究センターの Sahar Hamido 特任助教、同センター兼大学院工学研究科の田丸浩（ゆたか）教授、東北大学東北メディカル・メガバンク機構の菱沼英史助教（未来型医療創成センター兼任）、松川直美学術研究員、三重大学大学院生物資源学研究科博士後期課程3年の Mohamed Yahia Eljonaid 氏、同研究科の岡崎文美准教授の研究チームは、資源作物として注目されているソルガム（*Sorghum bicolor*）の搾りかす（バガス）の分解・糖化に有効な嫌気性セルロソーム生産菌 *Clostridium cellulovorans* 由来の酵素群のプロテオーム解析に成功しました。今後はさまざまなセルロース系バイオマスに対応した分解・糖化用酵素カクテルの開発が期待でき、バイオリファイナリー^{（注1）}によるグリーンケミカル製造の進展が期待されます。

本研究成果は、2025 年 12 月 3 日に、学術誌 International Journal of Molecular Sciences で公開されました。

【詳細な説明】

研究の背景

化石燃料に頼らないエネルギー源として、植物などのバイオマス原料が期待されています。しかし植物細胞壁は、主にセルロース、ヘミセルロース、リグニンからなり、このうちセルロースはグルコース（C6 糖）およびヘミセルロースはキシロース（C5 糖）やマンノース（C6 糖）などを含んでいます。これら多糖は互いに結合し、強固な構造を有しており、単一の酵素では分解・糖化を行うことができません。

本研究は福島国際研究教育機構（F-REI）の支援を受け、陸上植物によるネガティブエミッション達成を目的として、エネルギー分野（植物）のカテゴリーで 2024 年 3 月からスタートしました。具体的には、福島県浜通りに新たなバイオ産業を創成するために、営農休止地・耕作放棄地で資源作物ソルガム（*Sorghum bicolor*）^{（注 2）}を栽培し、収穫して搾汁した後の搾汁かす（バガス）をバイオマス原料として効率的に分解・糖化し、得られた可溶糖（C5 糖、C6 糖）を炭素源として ABE（Acetone-Butanol-Ethanol）発酵菌等が可溶糖を資化することによって、バイオエタノールやバイオブタノールを得ることができます。さらに、この一連のプロセス（分解・糖化・発酵）を一つの培養リアクター内で一貫して行う CBP（Consolidated Bioprocessing）によって高効率・低コストで本研究のターゲットであるバイオブタノールを製造することができます。

今回の研究対象であるセルロソーム（cellulosome）^{（注 3）}生産嫌気性菌 *Clostridium cellulosovans* は超酵素複合体であるセルロソームおよびフリー酵素（noncellulosomal enzymes）を分泌することで高効率にセルロースやヘミセルロースを分解・糖化することが知られており、ソルガム搾りかす（バガス）の他、各種の炭素源で本菌を培養し、得られた培養上清に含まれる酵素群について LC-MS/MS によるプロテオーム解析を行い酵素群の同定および糖質酵素ファミリー（CAZy）^{（注 4）}の分類を行いました。

研究の内容

研究チームは、ソルガム搾りかす（バガス）および搾汁液、化学的前処理をしたソルガムバガス、セルロース（濾紙）、グルコース、セロビオース、ショ糖などの可溶糖を炭素源として、セルロソーム生産嫌気性細菌 *Clostridium cellulovorans* を培養し、遠心分離後に得られた培養上清に対して 80%飽和硫酸沈殿を行い、タンパク質を回収しました。

沈殿タンパク質を透析後、得られたタンパク質溶液を用いてカルボキシメチルセルロース（CMC）を用いたセルラーゼ活性の測定を行いました。その結果、ソルガムバガス＞セルロース（濾紙）＞セロビオースの順に、高いセルラーゼ活性を示しました。さらに、透析後のタンパク質溶液を用いて SDS-PAGE に供

しました。ゲルをクーマジューブリリアントブルーで染色後、脱色してタンパク質バンドを確認しました（図1）、次に、上記のタンパク質溶液に結晶性セルロース（Avicel）を投入後、一定時間、室温で放置した後、遠心分離して上清画分と沈殿画分に分けました。培養上清（タンパク質原液）、上清画分（Avicel 非結合タンパク質群）、および沈殿画分（Avicel 結合タンパク質）をそれぞれ SDS-PAGE に供しました。すなわち、上清画分には糖質結合モジュール（CBM：Carbohydrate-Binding Module）を含まない酵素群が含まれ、一方、沈殿画分にはセルロソームを含む CBM を保有する酵素群が含まれていました（図2）。以上の結果、炭素源によって異なるタンパク質バンドが検出され、さらに Avicel 吸着・非吸着においても異なるタンパク質バンドが検出されました。次に、SDS-PAGE 後に切り出したタンパク質バンドを LC-MS/MS 解析に供し、得られたペプチド配列を *C. cellulovorans* データベースに照合して、各タンパク質バンドに含まれるタンパク質を同定しました。その結果、Avicel 吸着画分に含まれるセルロソームに関連したタンパク質群において、共通した骨格タンパク質（CbpA）や酵素（EngK、ExgS など）が検出されました。一方、ソルガムの化学的処理の有無においてプロテオーム解析の結果を比較したところ、化学的処理をしなかったソルガムバガスで最も多様なタンパク質群が誘導・分泌されていました。また、可溶糖ではグルコースで最も多様なタンパク質群が検出されました。

これらの結果から、ソルガムバガスに対して特異的に誘導される *C. cellulovorans* が判明した他、本菌が各種の炭素源での培養によって分泌するセルロソームの構成成分の全容を解明することができました。

今後の展開

研究チームは今後、地域で排出される未利用な農業残渣、柑橘類搾汁かすなどの食品廃棄物、古紙などの未利用バイオマスに対する酵素カクテルを開発するとともに、未利用バイオマスからの高効率なバイオブタノール製造を行い、バイオブタノールを原料とした再生航空燃料（SAF: sustainable aviation fuels）の生産を目指したいと述べています（図3）。

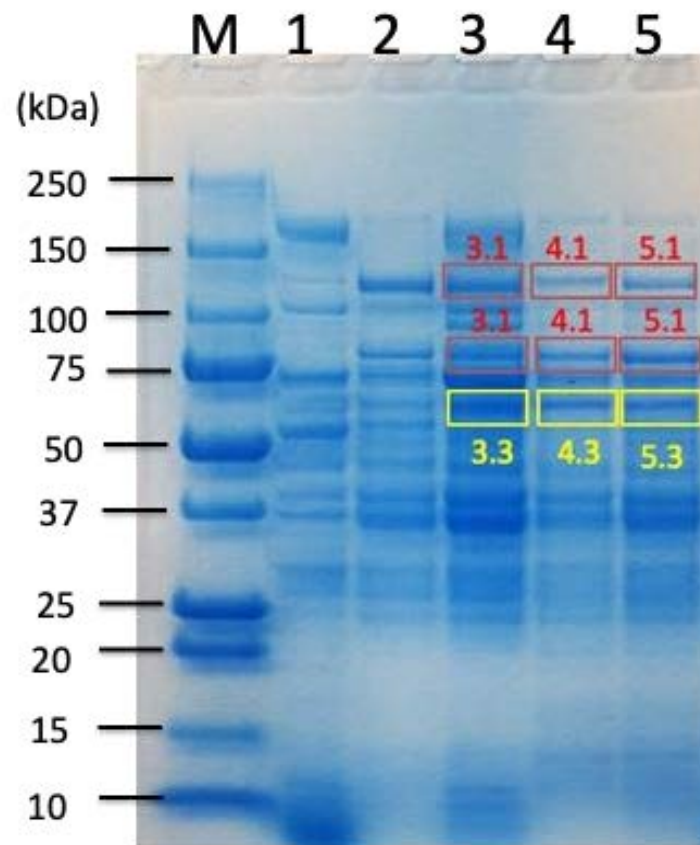


図 1. SDS ゲル電気泳動による *C. cellulovorans* (C.c) 培養上清中の分泌たんぱく質の解析

レーン M、分子量マーカを示す。

レーン 1、0.5%セロビオース含有 C.c 培地、2 日間培養の培養上清。

レーン 2、1%濾紙含有 C.c 培地、7 日間培養の培養上清。

レーン 3、1%ソルガムバガス含有 C.c 培地、7 日間培養の培養上清。

レーン 4、1%酸—ブタノール処理ソルガムバガス含有 C.c 培地、7 日間培養の培養上清。

レーン 5、1%アルカリ処理ソルガムバガス含有 C.c 培地、7 日間培養の培養上清。

3.1、3.3、4.1、4.3、5.1 および 5.3 で囲まれたバンドをそれぞれ切り出して LC-MS/MS 分析に供した。

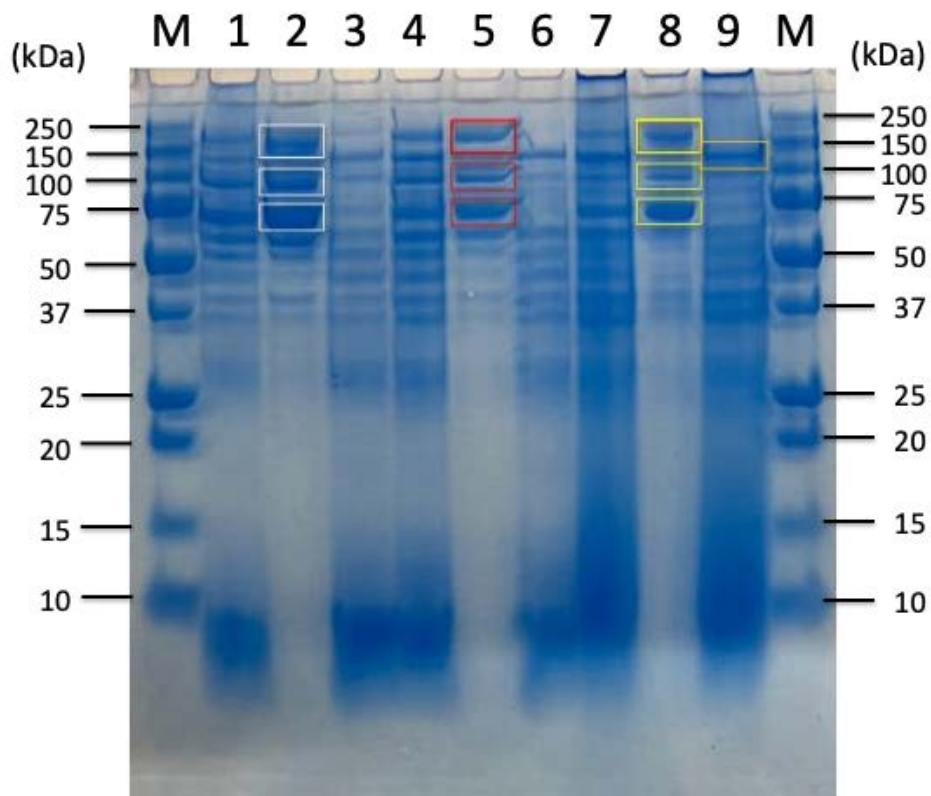


図 2. SDS ゲル電気泳動による 1.0%グルコース、0.5% セロビオース、および 1% ソルガムバガスの *C. cellulovorans* (C.c) 培養上清画分、結晶セルロース (Avicel) 吸着画分および非吸着画分のタンパク質の解析

レーン M、分子量マーカーを示す。

レーン 1、1.0%グルコース含有 C.c 培地、2 日間培養の培養上清画分。

レーン 2、1.0%グルコース含有 C.c 培地、2 日間培養の培養上清の Avicel 吸着画分。

レーン 3、1.0%グルコース含有 C.c 培地、2 日間培養の培養上清の Avicel 非吸着画分。

レーン 4、0.5%セロビオース含有 C.c 培地、2 日間培養の培養上清画分。

レーン 5、0.5%セロビオース含有 C.c 培地、2 日間培養の培養上清の Avicel 吸着画分。

レーン 6、0.5%セロビオース含有 C.c 培地、2 日間培養の培養上清の Avicel 非吸着画分。

レーン 7、1%ソルガムバガス含有 C.c 培地、7 日間培養の培養上清画分。

レーン 8、1%ソルガムバガス含有 C.c 培地、7 日間培養の培養上清の Avicel 吸着画分。

レーン 9、1%ソルガムバガス含有 C.c 培地、7 日間培養の培養上清の Avicel 非吸着画分。

四角で囲まれたバンドをそれぞれ切り出して LC-MS/MS 分析に供した。

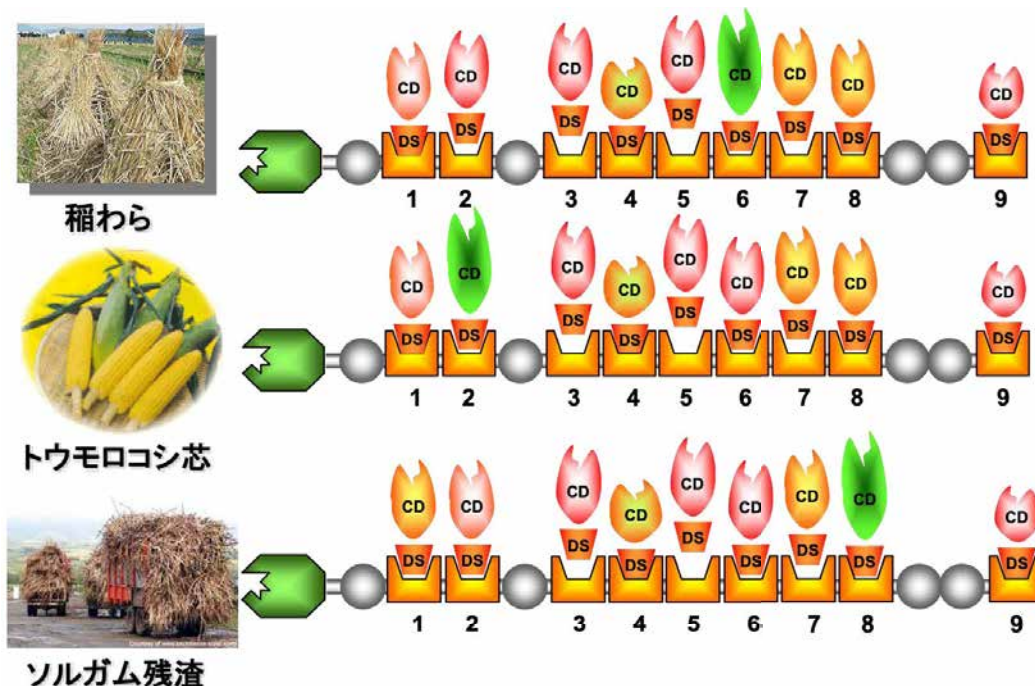


図 3. セルロソームの模式図（植物バイオマスごとに酵素の種類・構成が変わる）

【謝辞】

本研究は、福島国際研究教育機構（F-REI）エネルギー分野（植物）の受託研究費 (JPFR 23-03-01-01)の支援を受けて行いました。

【用語説明】

- 注1. バイオリファイナリー：バイオマスを資源として活用した生産技術や産業の総称。
- 注2. ソルガム（学名： *Sorghum bicolor*）：ソルガムはアフリカ原産のイネ科モロコシ属の穀物で、世界五大穀物の一つ。
- 注3. セルロソーム（cellulosome）：セルロース結合能を有する骨格タンパク質（乗りもの）に多種多様な酵素タンパク質サブユニット（乗るもの）が結合した超酵素複合体。これによって、強固なセルロース等の植物細胞壁多糖を高効率に分解することができる。
- 注4. CAZy（Carbohydrate-Active enZymes）：糖質関連酵素のデータベースであり、糖質の生合成、代謝、輸送に関与する酵素の分類に関する情報を提供している。CAZy は、酵素の配列情報や立体構造データへのリンクも含まれており、1998 年からオンラインで利用可能。

【論文情報】

タイトル : Proteomic Characterization of the *Clostridium cellulovorans* Cellulosome and Noncellulosomal Enzymes with Sorghum Bagasse

著 者 : Mohamed Yahia Eljonaid, Fumiyoshi Okazaki, Eiji Hishinuma, Naomi Matsukawa, Sahar Hamido and Yutaka Tamaru

*責任著者 :

東北大学グリーン未来創造機構 グリーncロステック研究センター
教授 田丸 浩 (たまる ゆたか)

掲載誌 : International Journal of Molecular Sciences

DOI : [10.3390/ijms262311728](https://doi.org/10.3390/ijms262311728)

URL : <https://doi.org/10.3390/ijms262311728>

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学グリーン未来創造機構
グリーncロステック研究センター教授
田丸 浩

TEL: 022-795-5863

Email: yutaka.tamaru.c3@tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学グリーン未来創造機構
グリーncロステック研究センター事務室
Email: green-x-tech@grp.tohoku.ac.jp