

リグニン分解酵素群高生産ヒラタケ

環境科学部 生物資源管理学科 准教授 入江 俊一

研究分野：応用微生物、分子生物、バイオマス変換

ヒラタケは木質リグニンを分解するためにラッカーゼ（Lac）、マンガンペルオキシダーゼ（MnP）、万能型ペルオキシダーゼ（VP）を分泌している。リグニン分解やこれらの酵素生産を調節している調節経路を解析し、経路上の遺伝子を組換えることで野生型と比較して数倍のリグニン分解能やリグニン分解酵素生産能を持つヒラタケ育種方法の開発に成功した。高いリグニン分解能は生物学的リグノセルロース処理に応用可能であり、特にLacは口臭予防、工場廃液処理、ジュース混濁防止剤、環境浄化等、幅広い利用性が確認されている。MnPやVPも通常より高い酸化還元ポテンシャルを持つ基質を酸化可能な優れたペルオキシダーゼであり、産業的利用が期待される。本法により、これらの酵素群を多量に含む培養ろ液を簡便に得ることが可能である。

■ラッカーゼ大量生産

白色腐朽菌のリグニン分解系発現がサイクリックAMP（cAMP）が関与するシグナル伝達経路により調節されていることは以前から報告されていたが、詳細については未解明であった。我々は、ヒラタケにおけるリグニン分解系発現の調節において、cAMPの下流に正の調節を行うプロテインキナーゼA触媒サブユニット（PKAc）が関与する経路と、負の調節を行うカルモデュリンが関与する経路があることを突き止めた。さらに、PKAc遺伝子を過剰発現することにより、ヒラタケが持つ主要なリグニン分解酵素群が転写レベルで誘導されることを明らかとした。本方法により得られた組換えヒラタケの培養ろ液には、これらのリグニン分解酵素群が高い活性で含まれる。

特に白色腐朽菌が生産するLacは広い基質特異性、pH耐性、耐熱性に優れ、利用性が高いと言われており、口臭予防、工場廃液処理、ジュース混濁防止剤、環境浄化等、幅広い利用性が確認されている。本技術により安価なラッカーゼ製剤生産システムの開発が期待できる。また、MnPやVPも幅広い毒物や環境汚染物質の酸化が可能であることが示されている。本法により育種されたヒラタケより、これらの酵素を大量に含む培養ろ液を直接用いた工場廃液処理や酵素生産などが期待される。

■ヒラタケ変異体によるリグノセルロース資源前処理技術

食品と競合せず、十分な賦存量が存在するリグノセルロース資源を利用したバイオリファインリーの実現が期待されている。その際に問題となる障害の一つが、セルロースと複雑なマトリクスを形成しているリグニンの処理である。現在、低コストで低環境負荷なリグニン処理方法開発が模索されているが、白色腐朽菌を用いた生物学的分解方法は主要な候補の一つとなっている。

本法により育種されたヒラタケはリグニン分解能も数倍向上することが判明しており、リグノセルロース前処理技術への応用も可能である。

＜特許・共同研究等の状況＞

- ・特許「ラッカーゼ高発現白色腐朽菌育種法」（特開2014-109103）
- ・特許申請中「真正担子菌のリグニン分解能を増加させる方法」