



トである CBM がリグニンへの吸着に大きく影響することが知られていますが、その詳細な結合メカニズムは十分に解明されていません。CBM-リグニン間の相互作用を解明する取り組みは数多くなされているものの、セルラーゼの活性・吸着試験に基づいた間接的な解析に留まり、CBM の直接的な解析や分子レベルでの結合部位の特定は困難でした。

## 2. 研究手法・成果

本研究ではセルラーゼ生産菌として工業的に最も重要な糸状菌 *Trichoderma reesei* が分泌するセルラーゼ (Cel7A) の CBM1 に着目し、大腸菌を用いて正常フォールディングした状態で CBM1 を発現・精製しました。得られた CBM1 にスギまたはユーカリから抽出したリグニンを加えて 2 次元 NMR で相互作用解析を行い、リグニンと相互作用している部位をアミノ酸残基レベルで包括的に解明することに初めて成功しました。本研究結果は CBM1 の単独取得により直接的な解析を可能にしていることに加え、リグニンとの結合を分子レベルで理解するうえで不可欠な知見を与えるという点で方法論としても重要です。

## 3. 波及効果、今後の予定

非可食バイオマスの酵素糖化分解を効率的に達成するために、リグニンへの吸着を抑制したセルラーゼの開発が有効です。そして、それら有用酵素のエンジニアリングには、本研究の提示するリグニン-CBM1 間吸着の理解が役立ちます。現在、CBM1 とリグニンの相互作用をより詳細に行うとともに、リグニン側の相互作用部位の解析を進めており、CBM1 側とリグニン側の双方から吸着メカニズムの理解を目指しています。

## 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、京都大学生存圏研究所とエネルギー理工学研究所の共同研究であり、科学研究費補助金、生存圏科学の共同利用・共同研究拠点、ゼロエミッションエネルギー研究拠点のサポートを受けて実施されました。

### <研究者のコメント>

リグニンという高分子は植物種や生育環境によって全く異なる構造を有し、物理化学的な処理によってもその構造を複雑化させます。従って酵素と多様な結合をするため、その吸着メカニズムは長年にわたって難解とされてきました。本研究をもとに複雑多様なリグニン構造と酵素との吸着を説明する法則を見出し、バイオマス変換の課題が克服できることを願っています。

### <用語解説>

**リグニン**：セルロースに次いで豊富に存在する有機資源。芳香族ポリマーであり植物細胞壁全般に存在する。

バイオマス変換においてリグニンは酵素に吸着して、酵素活性を阻害するが、その吸着部位や吸着メカニズムは十分解明されておらず、阻害を受けにくい酵素開発の戦略も立てられていない。

**セルラーゼ**：地球上で再生産量をほこるセルロースの加水分解酵素。カビのセルラーゼの多くは、触媒ドメインと糖質結合モジュール(CBM)がリンカーでつながった構造をとっている。CBM は、リグニンに吸着するものが多い。

**NMR 法**：核磁気共鳴分光法。物質の分子構造解析、相互作用解析などに用いられる。

### <論文タイトルと著者>

タイトル：NMR Analysis on Molecular Interaction of Lignin with Amino Acid Residues of Carbohydrate-Binding Module from *Trichoderma reesei* Cel7A

著者：Yuki Tokunaga, Takashi Nagata, Takashi Suetomi, Satoshi Oshiro, Keiko Kondo, Masato Katahira

& Takashi Watanabe

掲 載 誌 : Scientific Reports DOI : 10.1038/s41598-018-38410-9