

クリプトコッカス sp. S-2 由来リパーゼの諸性質

酒類総合研究所 環境保全研究室 家藤治幸

1. はじめに

酒類総合研究所では、醸造試験所が明治 37 年に設立されて以来一貫して酵母関連研究を行っており、「酵母を使用した排水処理技術」も当所が生み出したオリジナルな排水処理方法である。現在環境保全研究室では、新規酵母の分離とその特性の環境保全への利用を一つのテーマとして研究を行っている。今回は我々が自然界より分離した新規酵母クリプトコッカス sp. S-2 とそれが生産するリパーゼの性質について報告する。

2. クリプトコッカス sp. S-2 の分離と性質

サッカロミセス・セレビシエなど大部分の酵母は多糖類分解酵素をほとんど生産分泌しない。そのため、これら酵母がデンプンなどの多糖類を利用するには、カビや麦芽などが生産するアミラーゼやその他酵素の助けをかりる必要がある。我々は、自らアミラーゼやその他多糖類分解酵素を生産分泌し、種々の多糖類を分解利用できる酵母を自然界より分離することを試み、ヘミセルロース、セルロース、ペクチンなどを分解利用する新規酵母クリプトコッカス sp. S-2 を取得した。本菌は生デンプン分解性 α-アミラーゼ、酸性キシラナーゼ、耐熱性セルラーゼなど酵素学的にも特徴ある多様な酵素を生産分泌するユニークな酵母であった。

3. クリプトコッカス sp. S-2 リパーゼ

一方、本酵母は油脂を強く資化する性質も有しており、油脂分解酵素リパーゼを生産し菌体外に分泌する。そこで本菌の生産するリパーゼを精製し、その性質を調べることにした。

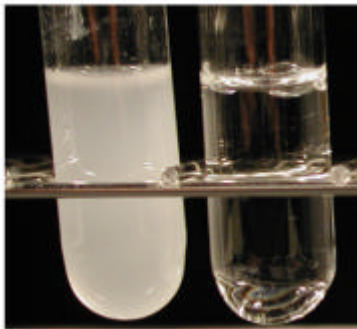
本酵素は SDS-PAGE 上で約 22K ダルトンの分子量を示し、至適反応 pH7.0、耐熱性に優れ、また耐有機溶媒性の強い酵素であった。また水分が多く存在する条件においても油脂加水分解の逆反応であるエステル合成反応が強いという特徴的性質を有していた。その性質を利用し、清酒製造で多量に副生する米糠に由来する油(米糠油)とメタノールから、脂肪酸メチルエステルの生成を試みた。結果、通常のリパーゼはメタノールの添加で失活しやすいため、リパーゼによる脂肪酸エステル化反応には、メタノールを何段にも分け添加して行く方法がとられるが、我々のリパーゼでは、米糠油 1 モルにメタノール 3? 4 モルを最初から加えそのまま反応させるワンステップ法で、簡単に脂肪酸メチルエステルの生産ができることがわかった。なおこの脂肪酸アルキルエステルは、再生産可能な原料・植物油やその廃油などから作られるクリーンなバイオディーゼル燃料として今後の利用が注目されている。

本酵素をコードする cDNA を取得し、その塩基配列を調べたところ、205 アミノ酸よりなる分子量 20,917 の低分子のリパーゼであり、その相同性よりクチナーゼ(果実表皮等のワックス成分であるクチンを分解する酵素)に相当するものであることが判明した。

さらに我々は、この酵素が種々の生分解性プラスチックを分解し、特にポリ乳酸プラスチックをも分解する能力のあることを見出した(図1)。ポリ乳酸はデンプンから発酵により得られた乳酸をポリマー化した生物由来のプラスチックで、今後その大幅な生産、利用拡大が見込まれているが、現在のところそれを有効に分解する酵素はわずかしかが知られていない。蛋白分解酵素である Proteinase K (*Tritirachium album* 由来) がポリ乳酸を分解するとして報告されているが、我々のリパーゼ(クチナーゼ)は量的にその 1 / 500 以下の量で Proteinase K と同等の分解活性を示した。なお、リパーゼ系でのポリ乳酸分解酵素としては初めての例である。

以上のように、酵母クリプトコッカス sp. S-2 リパーゼは、米糠油や廃油などからのバイオジーゼルの生産、さらにポリ乳酸プラスチックの分解など、広く各種環境保全関連技術への応用が可能と思われる(図2)。

図 1



ポリ乳酸の分解 (30°C, 2日)

左; コントロール (no enzyme)

右; クリプトコッカス sp. S-2 リパーゼ (80 ng/ml)

本酵素で処理されたポリ乳酸エマルジョンは完全に分解され、透明になっているのが分かる。

図 2 クリプトコッカス sp. S-2 リパーゼの環境保全分野への利用

