

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02259

研究課題名(和文)自然界に学ぶ「バイオマス分解機構」の解明

研究課題名(英文)Elucidation of "biomass decompositionmechanism" learning from nature

研究代表者

金子 哲 (Kaneko, Satoshi)

琉球大学・農学部・教授

研究者番号：90343821

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：自然界のバイオマス分解メカニズムを解明するため、初期のバイオマス分解に関わる放線菌、後期のバイオマス分解に関わる担子菌のヘミセルロース分解を行った。Streptomyces olivaceoviridis のゲノム遺伝子配列を解析し、糖質加水分解酵素ファミリー分類に関わる酵素を明らかにした。遺伝子クラスターの解析を行い、本菌のキシラン分解における最も重要なオペロンを見出した。本菌が有する未解明のキシラナーゼ、アラビノフラノシダーゼの性質を明らかにした。また本菌のキシラナーゼについて、一分子観察を行った。担子菌のキシラン分解酵素の性質を明らかにし、放線菌のキシラナーゼの性質の比較を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋プラスチックや地球温暖化等の深刻な社会問題解決には、バイオマス利用が必要であることから、本研究の成果は社会的に貢献度は大きいと考えられる。本研究はヘミセルロース分解について、これまで行われて来なかった手法を取り入れ、解析を行ったことから、未知の知見を提供するものであり、学術的なインパクトも大きい。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the mechanism of biomass degradation in nature, hemicellulose degradation by actinomycetes, which is involved in early biomass degradation, and by basidiomycetes, which is involved in late biomass degradation, was investigated. The gene clusters were analyzed to identify the enzymes involved in the carbohydrate hydrolysis family classification. We analyzed gene clusters and found the most important operon in the xylan degradation of Streptomyces olivaceoviridis. The properties of xylanase and arabinofuranosidase, which have not yet been elucidated, were clarified. Single molecule observation of the xylanase of this fungus was also carried out. The properties of the xylanases of the basidiomycetes were clarified, and a comparison was made with those of the xylanases of the actinomycetes.

Translated with DeepL.com (free version)

研究分野：木質科学

キーワード：ヘミセルロース ヘミセルラーゼ キシラン キシラナーゼ

1. 研究開始当初の背景

植物バイオマスは、化石資源に替わる再生可能かつ循環型の資源である。植物細胞壁中の主要な構成成分は、セルロース・ヘミセルロース・リグニンである。これらをモノマー単位にまで分解することで、種々の化成品原料として利用することが可能である。地球温暖化対策として、カーボンニュートラルであり、食料と競合しないリグノセルロース系植物バイオマスを利用する必要性が高まり、その利用技術の開発が熱望され続けているが、未だ解決に向けた有効な技術は示されていない。その理由の一つとして、セルロースファーストで研究が進められてきたことにある。バイオマス利用のキーワードとして挙げられる「バイオ燃料」、「セルロースナノファイバー」等はセルロースを利用することを目指したものである。バイオ燃料製造に向けたセルロースの糖化のための前処理は、国際的にリグニンやヘミセルロースを化学的に除く方法が採用されている。また、糖化については価格面から圧倒的に生産性に優れるカビ (*Trichoderma* 菌) 由来の酵素に一極集中している。つまりは、*Trichoderma* 菌由来の酵素を使うためにバイオマスの前処理を施していると見ることができる。こうした多様性を欠くアプローチは地上最大の資源である植物細胞壁を利用する可能性を狭めている。そのためリグニンファーストのアプローチも増えてきているが、ヘミセルロースには焦点が当てられていない。

2. 研究の目的

植物細胞壁成分のうちヘミセルロースは、その効率的な分解の重要性が高まっているがセルロース、リグニンと強く相互作用しており、分解は困難を極める。ヘミセルロースのうち、二次細胞壁中に普遍的に存在するキシランは、主鎖構造は植物種に依らずキシロースからなるものの、側鎖構造は植物種によってアセチル基やグルクロン酸、アラビノースの修飾の有無が異なるという特徴がある。したがってキシランを分解するためには様々な酵素が必要である。本研究では、自然界の炭素循環において重要な微生物であり共生関係にある「放線菌」と「担子菌」由来の酵素がそれぞれ、バイオマスの微細構造のどこにどの様な酵素を配置し、分解しているかを可視化することにより、自然界におけるバイオマス分解を理解しようとするものである。

3. 研究の方法

ゲノム解析

研究室保存菌株である放線菌 *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 のゲノム DNA 配列は次世代シーケンサー 454 Genome Sequencer により解析されたものを用いた。seqclean を用いてアダプター配列除去後、fastQC により評価を行った後、SPAdes を用いてアセンブルを行った後、quast を用いてアセンブリを評価した。*Phanerochaete chrysosporium* のゲノム配列は米国 Joint Genome Institute で解析されたデータを使用した。

発現

ORF1934 (GH2+CBM42)、ORF5430 (GH10)、ORF2031 (GH43)、ORF2532 (GH43)、ORF2051 (GH54+CBM13)、ORF 9159 (GH54+CBM42) は、大腸菌発現様にコドンをおプティマイズした後、全合成し、pET30a ベクターの NdeI-HindIII 間に挿入した構築を作成した。ORF5429 (CE4) は大腸菌発現様にコドンをおプティマイズした後、全合成し、pET28a-TEV ベクターの NdeI-HindIII 間に挿入した構築を作成した。大腸菌の系で発現を行った。

SoXyn10C (ORF5430) の特性解析

サトウキビバガスから抽出したキシラン (Sugarcane bagasse xylan) を基質として、生じた還元力を DNS 法より検出した。

基質特異性は 2%(w/v) の Beechwood xylan、Sugar cane bagasse xylan、Rye arabinoxylan、Wheat arabinoxylan、corn hull xylan、xylan、from oat spelts 溶液それぞれ 250 μ l に対して、McIlvaine buffer (pH 6.5) 200 μ l、精製した SoXyn10C を 50 μ l 混合した反応系で 30、1、3、6、12、24 時間反応させ DNS 試薬 750 μ l を加え、10 分間沸騰水浴中で加熱、その後 510 nm で吸光度を測定し増加した還元糖量を測定した。過去に特性解析されている SoXyn10A の CBM13 欠失変異体 (SoXyn10Acat) を比較対象とした。

SoAraf43A ORF2532 (GH43) の特性解析

酵素活性は PNP- β -L-arabinofuranoside を基質として測定した。

合成基質に対する基質特異性は、上述の活性測定法に従い、PNP- β -L-arabinofuranoside、PNP- β -L-arabinopyranoside、PNP- β -D-xyloside、PNP- β -D-galactopyranoside に対する活性を測定した。オリゴ糖に対する基質特異性は Arabinobiose、Arabinotriose、Arabinotetraose、Arabinopentaose、Arabinohexaose、Arabinoheptaose、Arabinooctaose、A1X2、A1X3 を使用した。1、2 mM の基質を 150 μ l、pH6 の 50 mM リン酸 buffer を 120 μ l、0、15% の L-フコースを混合したものを 45 μ l で 5 分間インキュベートした。そこへ SoAraf43A を 10 μ l 入れ、45 μ l でインキ

キュベートし、20分、40分で回収した。HPAEC-PADによってアラビノースを測定した。天然基質に対する特異性は、Arabinan、Debranched Arabinan、Arabic Gum (Acacia)、Xylan (Oat spelt)、Arabinoxylan (Corn hull)、Arabinoxylan (Rye) : High Viscosity、Arabinoxylan (Wheat) : Reducing Sugar Assays、Arabinoxylan (Wheat) : Insoluble Form、Arabinoxylan (Wheat) : High Viscosity、Arabinoxylan (Wheat) : Medium Viscosity、Arabinoxylan (Wheat) : Low Viscosity、Arabinogalactan (larch wood)、Pectic Galactan (Potato)の13種類を使用した。基質2%水溶液750 μ l、pH6.0リン酸buffer 600 μ lを混合したものを45°Cで5分間プレインキュベートし、そこにSoGH43Aを150 μ l入れた。懸濁した後45°Cで12時間、24時間インキュベートしたものを回収した。100 で30分間インキュベートして反応を止めた後、DNS法により還元糖量を測定した。検量線はアラビノースを0.5、0.4、0.3、0.2、0.1 mg/mlに調製して作成したものを使用し、定量を行った。また、分解率を明らかにするために使用した基質の構成糖を調べた。24 h真空乾燥を行った基質2 mgに500 μ lの0.2 Mトリフルオロ酢酸を加え、121 で2時間インキュベートして加水分解した。冷却乾燥後、300 μ lのイソプロパノールで再溶解し、乾燥を2回繰り返した。糖組成はCarbo Pac PA-1(Thermo Fisher Scientific)とパルスドアンペロメトリー検出器を備えた陰イオン交換クロマトグラフィー(HPAEC-PAD)によって測定した。

顕微鏡観察

放線菌 *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 株由来の糖質加水分解酵素ファミリー10(GH10)及び11(GH11)に分類されているキシラン加水分解酵素 SoGH10 及び SoGH11 の全長をコードする遺伝子を取得し、それぞれ pET28a 及び pET30a に挿入した。それぞれ酵素の C 末端側に TEV プロテアーゼ認識配列及び His6tag を付加した。また位置特異的な蛍光標識のため、フリーシステインの導入をおこなった。以前解析した SoGH10 と SoGH11 の触媒ドメインの X 線結晶構造(PDB ID:1V6W 及び 7DFN)を参考として、触媒部位の反対側に位置しており溶媒に露出しているアミノ酸残基で、側鎖が他の残基と相互作用していないものを変異対象に選んだ。PCR に対応するコードをシステインに変化させた SoGH10-A205C 及び SoGH11-S65C 遺伝子を作成した。

フリーシステイン導入型酵素遺伝子を挿入したベクターで大腸菌 Tuner(DE3)を形質転換し、カナマイシンを含んだ Superbroth 培地で前培養後、1 mM IPTG で誘導をかけて20度で一晩酵素を生産させた。回収した菌体を超音波破碎し Ni-NTA カラムで精製後、TEV プロテアーゼで His6tag を除去した。Ni-NTA カラムに吸着しなくなった酵素を回収して、Superdex200 カラムで更に精製した。精製した酵素のフリーシステイン残基を 10 mM DTT で室温 30 分還元し、Micro Bio-Spin6 カラムにかけて DTT を除去した。GH10 には酵素の6倍量の STAR635P-マレイミド、GH11 には酵素の6倍量の AlexaFluoro568-マレイミドを混合し室温で1時間反応させた。未反応の色素は Micro Bio-Spin6 カラムにかけて除去した。標識後酵素のスペクトルを測定し、酵素濃度と色素での標識率を計算した。

蛍光色素標識により活性が阻害されていないことを確認するため、標識前後の酵素について、キシラン分解活性の検証をおこなった。2 mg mL⁻¹の 4-O-methyl-glucurono-D-xylan 及び Xylan-from beechwood と 30 nM の酵素を混合し 50 mM の酢酸ナトリウムバッファー中で 30 度 2 時間反応させた。陰性対照として酵素なしの反応液も作成した。分解反応後、100 度で 20 分インキュベートし不活性した。20000 g で 5 分遠心し、上澄み 50 μ L と 150 μ L のチャールズ試薬(0.5M Na₂CO₃+1.5 mM K₃[Fe(OH)₆])を混合し 98 度で 10 分反応させて 405 nm の吸光度を測定した。キシロースを用いて作成した検量線から、反応液中の還元糖濃度を計測した。

サトウキビの茎の根元からプラントミクロトームで切片を切り出し、100 nM の SoGH10-A205C-STAR635P 及び SoGH11-S65C-AlexaFluoro568 を含んだ 50 mM 酢酸ナトリウムバッファー pH6.0 中で室温 5 分インキュベートしたのちに余剰の液を除去し、封入材(Mowiol+2.5% DABCO)をかけて常温で1晩固定した。作製した試料を、蛍光顕微鏡(Leica TCS SP8)を用いて観察した。100 \times 対物レンズ(Leica HC PL APO CS2 100x/1.40 Oil)を使用し、励起レーザー波長は STAR635P には 640 nm、AlexaFluor568 には 577 nm を用いた。検出範囲はそれぞれ 645 nm から 779 nm(検出器:HyD SMD 4)と 582 nm から 635 nm(検出器:HyD SMD 2)に設定した。

4. 研究成果

ゲノム解析

Busco によりゲノム完全性を評価したところ、種に共通する相同遺伝子を 100% 持っており、ゲノムの完全性が確認された。

dfast を用いて ORF を予測し、dbcan を用いて糖質関連酵素を予測し、ヘミセルラーゼを推定した。各ヘミセルラーゼについてはオペロンを観察した。その結果、本菌のキシラン分解において最も重要なクラスターを見出した。

これまでの研究により、*Streptomyces olivaceoviridis* E-86 は 2 種類のキシランナーゼ (SoXyn10A、SoXyn11B) を有していることが報告されていたが、ゲノム解析により、新規なキシランナーゼ (SoXyn10C) の存在が明らかとなった。また、SoXyn10C は SoXyn11B とオペロンを形成しており、更には天然のキシランの多くはアセチル化されていることが知られるが、そのアセチル基に作用するアセチルキシランエステラーゼも含めた遺伝子クラスターを形成していることが明らかとなった。

ゲノム解析の結果から、ヘミセルラーゼとして、ORF1934 (GH2+CBM42)、ORF5430 (GH10)、ORF2031 (GH43)、ORF2532 (GH43)、ORF2051 (GH54+CBM13)、ORF 9159 (GH54+CBM42)を選抜した。発現を試みた結果、ORF5430 (GH10)とORF2532 (GH43)が可溶性にタンパク質の発現が見られたため、特性解析を行なった。

SoXyn10C の特性解析

SoXyn10C をコードする遺伝子を構築した pET30 ベクターを SHuffle T7 に形質転換し、overnight express 培地によって培養、誘導を行い発現させた。発現させたタンパク質は金属アフィニティークロマトグラフィーにより精製した。精製酵素の純度を SDS-PAGE で確認した。SDS-PAGE から算出した SoXyn10C の分子量は 36079 であり、アミノ酸配列から計算される分子量とほぼ一致した。

SoXyn10C の至適は、pH 6.5 (Fig. 2. A) 60 付近にあり、pH に対する安定性は pH 5-9 で 78%以上の活性を保った。また温度安定性は 50、30 min の処理後も 91.9%の活性を保った。

すべての基質に対して SoXyn10C の活性は SoXyn10A に比べ、著しく低かった。しかし、生産されるキシロオリゴ糖の比率は大きく変わらなかった。

SoAraf43A の特性解析

SoAraf43A をコードする遺伝子を構築した pET30 ベクターを SHuffle T7 に形質転換し、overnight express 培地によって培養、誘導を行い発現させた。発現させたタンパク質は金属アフィニティークロマトグラフィーにより精製した。精製酵素の純度を SDS-PAGE で確認した。SDS-PAGE から算出した SoAraf43A の分子量は 54300 であり、アミノ酸配列から計算される分子量 (58585.27) とほぼ一致した。

得られた精製酵素の活性と安定性に対する pH と温度の影響を調べた。SoAraf43A の至適 pH は pH 6.0、至適温度は 45 °C であり、30 分間処理した場合、酵素の安定性は pH6.0-9.5 の間、温度 4-40 °C でほぼ 100%の活性が見られ、50 °C でも 45%の残存活性が見られた。

SoAraf43A は PNP- β -L-arabinofuranoside に最も良く作用したため、 β -L-アラビノフラノシダーゼであることが示唆された。SoAraf43A は PNP- β -D-xyloside にも作用したが、活性は PNP- β -L-arabinofuranoside に対する活性の 4 割程度であった。PNP- β -L-arabinopyranoside、PNP- β -D-galactopyranoside に対しては活性を示さなかった。

オリゴ糖基質に対する SoAraf43A の特異性は、直鎖状の 1, 5-アラビノオリゴ糖に対してはアラビノピオースに対して最も良く作用し、鎖長が長くなるにつれ活性が低下した。アラビノキシロオリゴ糖に対しては比較的良く作用し、非還元末端キシロース、鎖中キシロースのどちらに分岐した場合でも SoAraf43A は作用できることが明らかとなった。

多糖基質に対する SoAraf43A の特異性は、概して他党に対する活性は低く、ほとんど作用しなかった。

二種の糸状菌由来 β -キシロシダーゼの比較解析

β -キシロシダーゼ (Bxl) は、キシラン分解系の最後でキシロオリゴ糖から効率的にキシロースを生産する酵素である。このうち、草を分解する代表的な子囊菌 *Trichoderma reesei* 由来の GH family 3 Bxl (以下 *TrXyl13A*) が精力的に研究されており、これまでに側鎖修飾のある様々なキシロオリゴ糖に対する反応特性が明らかにされている。木材を分解する代表的な担子菌 *Phanerochaete chrysosporium* も GH family 3 Bxl (以下 *PcBxl13*) を有している。しかしながら、両者のように性質の大きく異なる菌間であっても Bxl の機能が普遍的であるかは不明であった。そこで、本章では *PcBxl13* と *TrXyl13A* について比較解析を行い、両者の機能を明らかにすることを目的とした。初めに両者のアミノ酸配列を比較し、二次構造予測を行ったところ、*TrXyl13A* の N 末端領域に追加の α -helix が付加されていると予測された。次に *PcBxl13* の X 線結晶構造及び両者のリガンド入り X 線結晶構造を解析した。両者には共通してサブサイト-1 を形成するポケットが確認された。しかしながら、*PcBxl13* はサブサイト+1 に相当する構造が確認されなかった一方、*TrXyl13A* はサブサイト+1 が確認された。このサブサイト+1 を構成するループ構造は、*TrXyl13A* のアミノ酸配列上で上記の α -helix を含む N 末端領域に起因することも同時に明らかとなった。さらに、*TrXyl13A* のサブサイト+1 はポケット状ではなく、キシロース残基の一部を囲むような形状であった。これは、これまでに報告されている *TrXyl13A* の側鎖を持つキシロオリゴ糖に対する基質特異性をよく説明するものであった。また、*TrXyl13A* のループ構造はさらに長い基質を認識することが示唆されたため、次に重合度の異なるキシロオリゴ糖に対する基質特異性を明らかにした。その結果、*PcBxl13* では基質の重合度に依らず一定の基質特異性を示したが、*TrXyl13A* ではキシロピオース (X_2) よりも、さらに長いキシロオリゴ糖を好むことが明らかとなった。サブサイト理論に基づき、キシロースと各サブサイトの親和性を算出したところ、*PcBxl13* は活性中心以外のサブサイトを持たないことが確認され、X 線結晶構造の結果と一致した。一方で、*TrXyl13A* はサブサイト+2 を有することが示唆された。この仮説は AutoDock Vina によるドッキングシミュレーション結果でも支持された。したがって、*PcBxl13* は X_2 を分解するためにデザインされた Bxl であり、*TrXyl13A* はさらに長いオリゴ糖を分解するための Bxl であると

結論付けた。糸状菌の系統樹の解析により、GH family 10 のキシラナーゼを多く有する菌は *PcBxl3* 型の Bxl を保有し、GH family 11 のキシラナーゼを多く有する菌は *TrXyl13A* 型の Bxl を保有することが明らかとなった。さらに、菌の種類に着目すると、主に木材腐朽菌は *PcBxl3* 型の Bxl を、草を好む菌は *TrXyl13A* 型の Bxl を持つことが明らかにされた。以上から、菌類は、分解対象とする植物種に応じて異なるキシラン分解系を有し、その結果、Bxl の使い分けが生じたと結論づけた。

担子菌由来 GH10 及び 11 キシラナーゼのアセチルキシランに対する反応特性の比較

キシラナーゼは、糸状菌のキシラン分解系の中核を担う酵素である。糸状菌は主として GH family 10 もしくは 11 に属するキシラナーゼを保有している。GH ファミリー-10 および 11 のキシラナーゼは、これまで基質認識とキシラン側鎖構造の関係を明らかにするために、アセチル基を除去した市販のキシランを用いて盛んに研究がされてきた。その結果、グルクロン酸修飾やアラビノース修飾に応じて、GH family 毎に特有なキシロオリゴ糖を生成することが既に明らかにされている。ただし、実際の天然で被子植物が持つキシランにはアセチル基修飾があるため、更なるキシラン分解系の解明にはキシラナーゼの反応特性とアセチル基修飾の関係を明らかにすることが重要である。しかしながら、アセチル基を保持した天然型のキシランを実験に用いるためには DMSO で抽出する必要があるため、これまで知見が不十分であった。そこで本章では、*P. chrysosporium* が持つ GH ファミリー-10 と 11 のキシラナーゼ (*PcXyn10A* と *PcXyn11B*) と天然のキシラン構造の関係について明らかにすることを目的とした。初めにはシロイヌナズナ由来のアセチルキシランを基質として用いたタイムコース実験を行った。その結果、*PcXyn10A* ではアセチルキシランを分解し、アルカリ処理によって脱アセチル化したキシランも分解した。一方で、*PcXyn11B* はアセチルキシランをほとんど分解しないことが明らかとなり、アルカリ処理によるアセチル基の除去を経て、*PcXyn11B* は機能することが示された。この対照的な違いは、他の GH ファミリー-10 および 11 のキシラナーゼでも確認された。したがって、アセチル基を有するキシランに対する特異性は、GH ファミリーによって異なることが示唆された。PACE (Polysaccharides Analysis using Carbohydrate gel Electrophoresis) 法による反応性生物の分析を行ったところ、シラカバや稲ワラから抽出したアセチルキシランは *PcXyn11B* によってほとんど分解されず、長いキシロオリゴ糖が残っていた。一方で、スギから抽出した、アセチル基のないキシランは両酵素によって容易にいくつかのキシロオリゴ糖に分解された。したがって、*PcXyn10A* は、被子植物のアセチルキシランを基質とするキシラナーゼであり、*PcXyn11B* はアセチル基修飾のあるキシランを基質としないことが明らかとなった。さらに糸状菌の系統樹から、GH family 10 キシラナーゼは普遍的に存在する一方で、GH family 11 キシラナーゼは子囊菌と一部の白色腐朽菌のみで保有されていることが確認された。また、こうした菌は併せて、基質からアセチル基を遊離させるアセチルキシランエステラーゼも保有しており、GH family 11 キシラナーゼもキシラン分解系において重要な機能を担うことが示唆された。

顕微鏡観察

SoGH10-A205C-STAR635P は液量 100 μ L、酵素濃度 3.55 μ M、標識率 97.2% で、SoGH11-S65C-AlexaFluoro568 は液量 100 μ L、酵素濃度 2.85 μ M、標識率 101% の酵素溶液が得られた。

GH10 の活性は、ラベル前が 4-*O*-methyl-glucurono-D-xylan で 881.9 \pm 210 μ M、Xylan-from beechwood で 1084.7 \pm 20 μ M であったのに対し、ラベル後は 4-*O*-methyl-glucurono-D-xylan で 872.9 \pm 252 μ M、Xylan-from beechwood で 1062.8 \pm 110 μ M となった。GH11 の活性は、ラベル前が 4-*O*-methyl-glucurono-D-xylan では 480.1 \pm 180 μ M、GH10 と Xylan-from beechwood では 704.7 \pm 20 μ M であったのに対し、ラベル後は 4-*O*-methyl-glucurono-D-xylan で 485.5 \pm 200 μ M、Xylan-from beechwood で 704.4 \pm 80 μ M となった。ラベル前後での活性の大幅な低下は確認されなかったことから、蛍光色素標識による酵素機能の障害はないと判断できた。

SoGH10-A205C-STAR635P と SoGH11-S65C-AlexaFluoro568 はクロストークがほぼなく、検出し分けることができた。広い視野で共焦点顕微鏡として計測すると 2 つの酵素が共局在しているように見えたが、細胞同士が接触している界面の部分を拡大し STED 計測したところ SoGH10 は細胞壁の外側と内側に強いシグナルを示し、SoGH11 はその間の領域に満遍なくシグナルを示していた。また大きな道管と思われる部分では非常に強い SoGH11 のシグナルを示す部分が観測された。これらの結果から、サトウキビの非変性組織中では SoGH10 と SoGH11 は異なる領域をターゲットとして分解反応をおこなっている可能性が示唆された。2 つの酵素の大きな違いとして、SoGH10 は糖質結合モジュールファミリー-13 (CBM13) に分類されているキシラン吸着ドメインを有している。このドメインにより組織中での局在性の違いが生み出されているのか検証するために CBM を削除した変異体の作成と計測が必要である。また切片作成時に細胞が潰れてしまった領域では非常に強い SoGH11 のシグナルをしめしていた。糖液を絞った後の残差であるバガスでは、細胞壁が物理的に破壊されており、切片の潰れた領域と同様の状態であると考えられる。物理処理により酵素のアッセシビリティが変わる可能性を示しており、SoGH10 と SoGH11 の役割を考える上で、どのような基質を用いて活性を解析するのか注意が必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 菊池雅子, 金子哲
2. 発表標題 Bacillus licheniformis由来GH8キシラナーゼの特性解析
3. 学会等名 第72回日本応用糖質科学会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 金子 哲, 茂垣日菜子	4. 発行年 2024年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 500
3. 書名 微生物を用いた有用物質生産技術の開発	

1. 著者名 金子哲, 菊池雅子	4. 発行年 2023年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 11558
3. 書名 バイオマス材料の開発と応用	

1. 著者名 Satoshi Kaneko, Zui Fujimoto	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 397
3. 書名 Glycoside Hydrolases (-D-Xylosidases: Structure-based substrate specificities and their applications)	

1. 著者名 Satoshi Kaneko, Zui Fujimoto	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 397
3. 書名 Glycoside Hydrolases (-L-Rhamnosidases: Structures, substrate specificities, and their applications)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中村 彰彦 (Nakamura Akihiko) (20752968)	静岡大学・農学部・准教授 (13801)	
研究分担者	五十嵐 圭日子 (Igarashi Kiyohiko) (80345181)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------