

氏名	石原光朗 いしはらみつろう
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第1245号
学位授与の日付	昭和61年3月24日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	褐色腐朽菌オオウズラタケの産生する酵素による木材多糖類の加水分解に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 越島哲夫 教授 樋口隆昌 教授 西本孝一

論文内容の要旨

褐色腐朽菌は本質的にリグニン分解力を持たないにもかかわらず、リグニンに包埋された木材細胞壁中のセルロース、ヘミセルロースを選択的に分解する。この特性は木材の酵素糖化を行うには予めリグニンを除去する必要があるという通念からすれば、真に興味深いものである。本研究は褐色腐朽菌オオウズラタケ [*Tyromyces palustris* Berk et Curt] の産生する多糖類加水分解酵素について検討した結果をとりまとめたもので、その内容はつぎの4章から成る。(1)腐朽過程における木材多糖類成分の変化、(2)オオウズラタケによるセルラーゼ、ヘミセルラーゼ生産のための培養条件、(3)オオウズラタケの菌体外に産生するセルラーゼ、ヘミセルラーゼの精製と諸性質、(4)精製したキシラナーゼとマンナーゼによる広葉樹キシランおよび針葉樹グルコマンナンの酵素分解生成物の検索。

第1章ではセルロースよりヘミセルロース、とくにグルコマンナンを選択的に分解し、また腐朽の初期段階でセルロースの重合度を著しく低下させ、ついでセルロースの結晶化度も低下させる能力をもつことが認められた。

第2章では液体培養法で、オオウズラタケから多糖類加水分解酵素を効率的に産生させるためには、培地のpHを2.0以上に制御することが必要であることを明らかにした。またオオウズラタケから2種のCxセルラーゼが得られたがC₁セルラーゼは自然界での腐朽条件に近いと考えられる固形培養法によっても、液体培養法と同様に産生されなかった。それにもかかわらずセルロースの重合度低下や結晶セルロースの分解が進むことから、菌体外のH₂O₂/Fe²⁺系またはOHラジカルによる酸化作用がC₁セルラーゼに替わって働くものと推定した。

第3章では菌体外酵素系から各種クロマトグラフィーによりCxセルラーゼ、マンナーゼ、キシラナーゼおよびβ-キシロシダーゼをそれぞれ分離・精製した。いずれの酵素も等電点3.15~3.60の範囲で低pH域で活性が高く、また至適温度は70~76℃の比較的高温域にあった。

第4章では広葉樹材、針葉樹材の主要ヘミセルロースである4-O-メチルグルクロノキシランとグルコマンナンをオオウズラタケ菌体外酵素系から分離したキシラナーゼ、マンナーゼでそれぞれ分解し、得

られた分解生成物を検索した。広葉樹キシランからは D-キシロースとキシロビオースのほかに、酸性区分として 4-O-メチル-D-グルクロン酸と D-キシロースが構成単位であるアルドビオウロン酸からアルドテトラオウロン酸までが得られた。そのほかに D-キシロース、L-ラムノース、D-ガラクトウロン酸および D-キシロースが順次 β , 1 \rightarrow 3, α , 1 \rightarrow 2 および α , 1 \rightarrow 4 結合した新しいオリゴ糖を分離・確認した。この事はこの繰返し単位が木材多糖に含まれることを示している。針葉樹グルコマンナンからは酵素分解生成物として D-マンノースと D-グルコースおよびこれら糖から成る 9 種のオリゴ糖を分離同定した。主要な糖はマンノビオース, エピセロビオース, マンノトリオース, エピセロビオシルマンノースでその生成モル比は 4 : 1 : 1 : 1 であった。非還元末端に D-グルコース残基をもつマンノオリゴ糖が多くえられたことからオオズラタケからのマンナーゼは β , 1 \rightarrow 4 結合するグルコシルマンノースよりもマンノシルグルコースに対し、より高い親和性をもつものと推定した。

論文審査の結果の要旨

木材腐朽菌は大別して白色腐朽菌と褐色腐朽菌に分けられる。これは木材の腐朽残渣が前者では白色に、後者では褐色になることに準拠している。両者の相違点は白色腐朽ではリグニンおよびセルロースが分解を受けるのに対し、褐色腐朽ではリグニンはほとんど分解されず、リグニンに包埋されたセルロース、ヘミセルロースなどの多糖類のみが選択的に分解を受ける点である。本論文は代表的な褐色腐朽菌の一つであるオオズラタケを用い、それが産生する加水分解酵素を詳細に検討し、さらに木材ヘミセルロースに作用させたとき生成するオリゴ糖につき構造研究を行った結果をとりまとめたものである。その成果の一つは酵素産生のための菌の培養条件を検討し、培地の pH を 2.0 以上に調整することにより酵素の生産量を約 10 倍に増加させたことである。つぎに著者はオオズラタケの菌体外酵素系から多くのセルラーゼ、ヘミセルラーゼを分解し、セルラーゼに関してはこれを構成する C_x 成分が 2 種類存在すること、C₁ 成分は自然界での腐朽条件に近いと考えられる固型培養法によっても、液体培養法によっても菌体から全く産生されないことを実験的に確認している。これは褐色腐朽菌は C₁ 成分を生産しないという従来の推定を確認したもので、高く評価される成果である。本研究ではこのほか、マンナーゼ、キシランナーゼおよび β -キシロシダーゼを分離しており、これらはいずれも等電点が 3.15~3.60 で、低 pH 域で活性が強く、また至適温度は 70~76℃ の比較的高温域にあることもみだしている。そのうち、 β -キシロシダーゼに関しては、均質体に精製した段階においても β -グルコシダーゼ活性を併有し、これら両者の活性は同じ活性中心に由来するものと推定した。

つぎに著者は得られたヘミセルラーゼを木材ヘミセルロースに作用させ、加水分解生成物を詳細に検討している。すなわち、針葉樹由来のグルコマンナンをマンナーゼを用いて加水分解した結果、D-グルコースと D-マンノースのほかに、これら両者から成る 9 種のオリゴ糖を分離・同定している。広葉樹由来の 4-O-メチルグルクロキシランにキシランナーゼを作用させた場合には中性部として D-キシロースおよびキシロビオースを、酸性部として 4-O-メチル-D-グルクロン酸と D-キシロースを構成単位とする通常のアルドビオウロン酸からアルデテトラオウロン酸までを得ている。そのほかに D-キシロース、L-ラムノース、D-ガラクトウロン酸および D-キシロースが順次 β , 1 \rightarrow 3, α , 1 \rightarrow 2, および α , 1 \rightarrow 4 結合した新

しいオリゴ糖の存在を認めている。この繰返し単位がヘミセルロースに由来するのか、あるいはペクチン質に由来するものであるかは明らかではないが、木材多糖にこの構成単位が存在することをみいだしたことは貴重な成果である。

以上のように本論文は褐色腐朽菌の産生する加水分解酵素ならびに木材多糖の構成単位に関する新知見を得ており、木材化学、樹木生化学並びに木材保存学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。

なお、昭和61年2月25日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、農学博士の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。