

氏名	佐藤伸
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	農博第1491号
学位授与の日付	平成17年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科応用生命科学専攻
学位論文題目	Degradation of <i>cis</i> -1, 4-Polyisoprene Rubbers by White Rot Fungi and Manganese Peroxidase-Catalyzed Lipid Peroxidation (白色腐朽菌およびマンガンペルオキシダーゼが触媒する脂質過酸化反応によるシス-1, 4-ポリイソプレンの分解)
論文調査委員	(主査) 教授 渡邊隆司 教授 島田幹夫 教授 東 順一

論文内容の要旨

天然ゴムは *Euphorbiaceae* 属等の2,500種以上の植物や *Lactarius* や *Peziza* 属などの菌類が生産するポリイソプレン鎖からなる天然高分子である。この高分子は、ポリマー主鎖間をスルフィド結合で結ぶ加硫工程によって弾性と耐性に富む優れた工業製品となるが、その一方で難分解性高分子であるために、廃棄とリサイクル処理が大きな社会問題となっている。現在、天然ゴムを用いた高分子製品の消費量は年間1,800万トンに及ぶが、タイヤなど使用済みゴム製品の不法投棄による環境破壊が深刻化しており、環境に配慮した新規なゴム廃棄法、リサイクル法の開発が求められている。本研究では、リグニン分解性担子菌である白色腐朽菌 *Ceriporiopsis subvermispota* の菌体外ラジカル反応に注目し、担子菌が加硫ゴム中のスルフィド結合を酸化的に切断する初めての証拠を示すとともに、同菌のリグニン分解機構の一つとして提案されているマンガンペルオキシダーゼ (MnP) が触媒するリピッドペルオキシデーションによりポリイソプレン鎖およびイソプレン間スルフィド結合が切断されることを示した。その主な内容は以下のとおりである。

1) 白色腐朽菌による加硫天然ゴムシートの分解

白色腐朽性担子菌 *C. subvermispota* は、木材中のセルロースを残してリグニンを高選択的に分解する。本菌によるリグニン分解は、酵素から離れた場で起こり、その分解機構の一つとして、脂質の酸化が関与したフリーラジカル反応が提案されている。本研究では *C. subvermispota* のラジカルを介したリグニン分解機能に注目し、同菌による各種天然及び合成ポリマーの分解を試みた。その結果、*C. subvermispota* は加硫天然ゴムシートに対して高い分解能を示し、35%に及ぶ重量減少とゴムシート表面の著しい損傷を起こすことを明らかにした。また、*C. subvermispota* によって分解したゴムシートを X 線光電子分光分析 (XPS) と固体 ^{13}C -NMR 分析等で詳細に分析し、本菌がゴム充填剤の脱離と共にゴムシート内部のスルフィド架橋構造を酸化的に切断することを明らかにした。即ち、*C. subvermispota* で処理した天然ゴムシートは菌未処理に比べて S-S 結合に対する S-C 結合の比率が減少し、S-O 結合が培養とともに増加することを見出した。また、固体 ^{13}C -NMR の分析から、ポリスルフィド結合に対し、モノスルフィド結合の切断が優位に起こることを明らかにした。これは、担子菌による加硫ゴム分解のはじめての報告である。

2) 白色腐朽菌によるリグニン分解経路には、酸化酵素の直接反応による基質の一電子酸化機構と、菌が生産する低分子代謝物や活性酸素種を介したラジカル反応機構がある。低分子代謝物を介するラジカル反応の一つとして、MnP が触媒する不飽和脂肪酸の過酸化反応 (リピッドペルオキシデーション) が提案されている。本研究では、MnP によるリピッドペルオキシデーションを架橋していないポリイソプレンに作用させ、ポリイソプレンの低分子化が起きることを示した。さらに、このラジカル反応は、未加硫ゴムの分解のみでなく、加硫ポリイソプレンゴムシートをも分解し、50%に及ぶ重量減少、ゴム表面の損傷、有機溶媒による加硫ゴムからのイソプレンフラグメントの溶出を起こすことを示した。

MnP によるリノール酸の過酸化では、リノール酸のカルボキシル基に隣接するメチレン水素の引き抜きから反応が開始され、ビスアリル位の水素引き抜きを経由して生成した KODE (oxo-octadecadienoic acid) の Mn^{3+} への配位とそれに続

くアルコキシラジカルの生成, さらにアルコキシラジカルの β 開裂により分解反応が進行する。主要中間体である9-KODEの C_8-C_9 開裂では, 2,4-decadienalとoctanoic acidが生成し, 2,4-decadienalがさらにMnPと反応してglyoxal, *n*-pentanal, *n*-hexanal, 2-butendial等が生成する。本研究では, MnPによるリノール酸リピッドペルオキシデーションによるゴムの分解を解析するため, 加硫ゴムのモデル化合物 di-(2-methylpent-2-enyl) sulfide を合成し, リノール酸および酸化中間体であるアルデヒド類を加硫ゴムモデル化合物存在下でMnPと反応させ, 反応生成物を分析した。その結果, MnPとリノール酸および2,4-decadienalの反応により, 加硫ゴムモデル化合物から di-(2-methylpent-2-enyl) disulfide および dimethylthiophene が生成することを見出した。これに対し, 2,4-decadienalより下流のアルデヒド中間体とMnPの反応では, 加硫ゴムモデル化合物の分解は起きなかった。di-(2-methylpent-2-enyl) sulfide 分解の反応機構として, アルコキシラジカルなどの親電子的ラジカル種がスルフィドから一電子を引き抜き, 酸素付加と水素引き抜きにより α -ヒドロペルオキシドが生成した後, スルフィド結合が切断される機構を提案した。これまで, *Xanthomonas* のオキシゲナーゼが未加硫ポリイソプレンラテックスを切断することが示されているが, 酵素反応によるイソプレン間スルフィド結合の切断を示す証拠は示されていない。これに対し, 本結果は, 酸化酵素が触媒するラジカル反応によりポリイソプレン鎖の切断のみでなく, イソプレン間スルフィド結合の切断が起きることを示した。

論文審査の結果の要旨

本論文は白色腐朽菌 *Ceriporiopsis subvermispota* およびマンガンペルオキシダーゼ (MnP) が触媒するリピッドペルオキシデーションにより加硫および未加硫ポリイソプレンゴムが分解することを示した研究であり, 評価すべき点は以下のとおりである。

- 1) これまで, ゴム分解微生物は, 放線菌, 不完全菌類, 細菌類を中心に研究されており, 加硫ゴム成型物を分解する微生物としては, 放線菌 *Nocardia*, *Streptomyces* と不完全菌類 *Aspergillus* と *Penicillium* が報告されている。これに対し, 担子菌類がゴム分解菌として分離された例は報告されていない。本研究では, 白色腐朽性担子菌 *Ceriporiopsis subvermispota* が加硫天然ゴムシートに対して高い分解能を示し, 35%に及ぶ重量減少とゴムシート表面の著しい損傷を起こすことを明らかにした。さらに, X線光電子分光分析 (XPS) と固体 ^{13}C NMR分析等により, 本菌がゴム充填剤の脱離と共にゴムシート内部のモノスルフィド架橋構造を酸化的に切断することを明らかにした。本研究により, 担子菌類のゴム分解能が明らかにされたことは学術上高く評価できる。
- 2) *Ceriporiopsis subvermispota* のリグニン分解機構の一つであるMnPによるリピッドペルオキシデーションにより, 架橋していないポリイソプレンが低分子化するとともに, 加硫したポリイソプレン成型物が分解することを示した。また, 加硫ゴムのモデル化合物 di-(2-methylpent-2-enyl) sulfide を合成し, MnPによるリピッドペルオキシデーションによりイソプレン間スルフィド結合が酸化的に切断されることを示した。これまで, *Xanthomonas* のオキシゲナーゼが未加硫ポリイソプレンラテックスを切断することが示されているが, 酵素反応によるイソプレン間スルフィド結合の切断を示す証拠は得られていない。これに対し, 本結果は, 酸化酵素が触媒するラジカル反応によりポリイソプレン鎖の切断のみでなく, ゴム中のスルフィド結合の切断が起きることを示した。これは, 酵素反応によるイソプレン間スルフィド結合の切断を示した初めての報告であり, 学術上高く評価できる。

以上のように, 本論文は白色腐朽性担子菌が加硫ポリイソプレンゴムを分解することを示すとともに, マンガンペルオキシダーゼが触媒するラジカル反応によりポリイソプレンの低分子化とイソプレン間スルフィド結合の酸化的切断が起きることを示したもので, 環境科学, 高分子化学, 応用菌類学の発展に寄与するところが大きい。

よって, 本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお, 平成17年2月14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, 博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。