

氏名	ルディアント アミルタ Rudianto Amirta
学位(専攻分野)	博士(農学)
学位記番号	農博第1492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	Studies on a Selective White Rot Fungus, <i>Ceriporiopsis subvermispota</i> : Production of Ceriporic Acids and Lignin Biodegradation of Wood for Methane Fermentation (選択的的白色腐朽菌 <i>Ceriporiopsis subvermispota</i> に関する研究: セリポリック酸の生産とメタン発酵のための木材のリグニン生分解)
論文調査委員	(主査) 教授 渡邊隆司 教授 東 順一 教授 島田幹夫

### 論文内容の要旨

化石資源の大量消費による地球温暖化問題の深刻化を背景として、木質バイオマスから化石資源の代替エネルギーを生産することが求められている。本研究では、木材からエネルギーを生産する新規なプロセスとして、選択的的白色腐朽菌 *Ceriporiopsis subvermispota* を利用したスギ材チップからのメタンの生産を示すとともに、*C. subvermispota* による選択的的白色腐朽の鍵代謝物の構造・機能解析を行った。その主な内容は以下のとおりである。

1) 選択的的白色腐朽菌 *C. subvermispota* を利用することにより、スギ材チップから、メタンを60-65%含むバイオガスをホロセルロース当たり40%を超える収率で生産した。また、リグニン中の $\beta$ -アリルエーテル結合の切断率をDFRC法により定量することにより、メタン生成率と $\beta$ -アリルエーテル結合の切断率に高い相関があることを見出し、白色腐朽菌によるリグニン $\beta$ -アリルエーテル結合の切断率が木材のメタン発酵における前処理効果を推定する指標となることを示した。

2) 選択的的白色腐朽菌 *C. subvermispota* は、酵素から離れた場でリグニンを分解する。この機構には、本菌が生産する主要な菌体外代謝物であるセリポリック酸が関与していると考えられている。本研究では、セリポリック酸の一つであるヘキサデセニルイタコン酸(セリポリック酸C)を単離し、その構造を、側鎖二重結合のグリコール化、TMS化、アセタール化反応とGC-MS分析、NMRスペクトルの解析を利用して決定した。決定した構造から、ケトメリック酸などの地衣酸とセリポリック酸との構造類似性を指摘した。また、*C. subvermispota* を木粉培地で培養した場合のセリポリック酸の生産プロファイルを明らかにした。

3) *C. subvermispota* の生産する代謝物セリポリック酸Bは、鉄のレドックス反応を抑制することにより、フェントン反応によるヒドロキシラジカルの生成を阻害することが明らかにされているが、セリポリック酸がリグニン分解に影響を及ぼすか否かは明らかにされていない。本研究では、ラッカーゼ・メディエーター反応によるリグニン分解におけるセリポリック酸の役割を検討し、セリポリック酸Bがラッカーゼ・メディエーター反応による非フェノール性リグニンモデルの分解を促進する効果をもつことを見出した。(1)ラッカーゼ・メディエーター反応系に合成界面活性剤を添加した場合の反応生成物とセリポリック酸Bを添加した反応生成物の比較、(2)メディエーターラジカルのESRによる分析、(3)セリポリック酸B、リグニンモデル化合物、メディエーター複合体の分子モデリングから、本代謝物がメディエーター、リグニンモデル化合物と複合体を形成し、この結果、メディエーターラジカルによるリグニンモデル化合物の $\alpha$ 位からの水素引き抜き速度を上昇させる反応機構を提案した。

以上のように、本研究によって、白色腐朽菌を利用した木材からのエネルギー生産の新しいプロセスが示されるとともに、*C. subvermispota* の選択的的白色腐朽に関する鍵代謝物の構造と、リグニン分解における新しい機能が示された。

## 論文審査の結果の要旨

地球温暖化と化石資源の枯渇を背景として、再生産可能な資源である木材などのバイオマスからエネルギーや化学原料を作り出すバイオリファイナリーの構築が求められている。リグニンを高選択的に分解する選択的的白色腐朽菌の機能解明と木材の糖化・発酵前処理への応用は、化石資源の代替エネルギーを木質バイオマスから生産するための重要な課題の一つと位置づけられる。本研究は、選択的的白色腐朽菌 *Ceriporiopsis subvermispota* を利用した木材からメタンを生産する新規なプロセスを示すとともに、*C. subvermispota* が生産する選択的的白色腐朽の鍵代謝物の構造・機能解析を行った研究であり、評価すべき点は以下の3点である。

- 1) これまで、木材の糖化・発酵によりエタノールを生産する様々なプロセスが研究されてきたのに対し、木材からメタンを直接生成する発酵プロセスの研究例は少ない。特に白色腐朽菌前処理を用いる木材のメタン発酵はこれまで報告されていない。本研究では、木材中のリグニンを高選択的に分解する白色腐朽菌 *C. subvermispota* を用いて、スギ材チップのメタン発酵を行い、その結果、スギ材から、メタンを60-65%含むバイオガスをホロセルロース当たり40%を超える収率で生産した。さらに、メタン生成率と $\beta$ -アリルエーテル結合の切断率に高い相関があることを見出した。スギ材は、爆砕法、蒸煮法、エタノリシス法、マイクロ波照射法において、広葉樹材に比べて高い前処理効果を得ることが難しい樹種であることが知られており、本研究により、日本の代表的針葉樹材であるスギ材から微生物を用いてエネルギーを生産する新しい方法が提示されたことは、木質バイオリファイナリーの進展に寄与する研究として評価に値する。
- 2) 選択的的白色腐朽菌 *C. subvermispota* は、酵素から離れた場でリグニンを分解する。この機構には、本菌が生産する主要な菌体外代謝物であるセリポリック酸が関与していると考えられている。本研究では、セリポリック酸の一つであるヘキサデセニルイタコン酸（セリポリック酸C）を単離し、その構造を決定した。解明した構造から、担子菌の生産するセリポリック酸と地衣類が生産するケトメリック酸などの地衣酸との構造類似性を指摘した。担子菌による地衣酸類縁体の生産プロファイルを明らかにしたことは、微生物代謝物学上重要な知見である。
- 3) *C. subvermispota* の生産する代謝物セリポリック酸Bは、鉄のレドックス反応を抑制することにより、フェントン反応によるヒドロキシラジカルの生成を阻害することが明らかにされているが、セリポリック酸がリグニン分解に影響を及ぼすか否かは明らかにされていない。本研究では、ラッカーゼ・メデイエーター反応によるリグニン分解におけるセリポリック酸の役割を検討し、セリポリック酸Bがラッカーゼ・メデイエーター反応による非フェノール性リグニンモデル化合物の $\alpha$ 位からの水素引き抜き反応を促進させる現象を見出した。酸化酵素の反応を促進する因子としてメデイエーターが知られているが、本研究により、メデイエーター機能を持たない酸化反応促進因子が白色腐朽菌代謝物中に見出されたことは評価に値する。

以上のように、本論文は、木質バイオマスの新しいエネルギー変換法と、白色腐朽菌の新しい代謝物機能を示したもので、バイオマス変換学、微生物代謝物化学、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。