

## リグニンペルオキシダーゼによるリグニン分解の化学\*

梅 澤 俊 明\*\*

### Chemistry of Lignin Degradation by Lignin Peroxidases\*

Toshiaki UMEZAWA\*\*

(平成3年8月1日受理)

#### 1. 緒 言

ラテン語の木材 (lignum) にちなんで命名されたリグニンは、木本植物の二次木部細胞壁の主要成分であり、その含有量は針葉樹材では24~33%、広葉樹材では16~24%に達する<sup>1)</sup>。従ってリグニンは、セルロースに次いで地球上に多量に存在する天然有機化合物であると言われており、地球上の炭素サイクルに重要な役割をはたしていると考えられる。リグニンの微生物分解機構を解明することは、この炭素サイクルを解明するという意義を持つのみならず、熱帯雨林を含めた地球環境の保全回復がとみに叫ばれる昨今、木材消費量を抑えるのに有効な高収率パルプ化方法の開発、パルプ漂白廃液の生化学的処理や、リグニン分解酵素類似機能をもつ触媒による新しい無公害パルプ化方法及び漂白方法の開発、環境汚染多環芳香属炭化水素及び塩素化フェノール類の生化学的処理等への基礎的知見を得る上でも重要である。

#### 2. リグニンの化学構造とリグニンサブストラクチャーモデル化合物

木材から単離したリグニンは、通常淡黄色のパウダーであり、ちょうど「きなこ」の色をうすくしたようなものである。これを分子のレベルで見ると、図1に示したように極めて複雑で、不規則な化学構造をとっている<sup>2)</sup>。この化学構造の複雑さは、リグニンの生合成反応の性質に起因する。すなわち、リグニンはヒドロキシケイヒアルコール類が、ペルオキシダーゼの作用により脱水素重合して生成する芳香属高分子化合物であるが、この重合の過程が制御を受けずにランダムに進むので、リグニンの化学構造はこのように複雑なのである。この化学構造の複雑さ、不規則さは、リグニンの重要な特徴の一つであるが、実は、これが、微生物によるリグニンの分解のメカニズムを解明する際の実験の手法までも規制してきたのである。即ち、リグニンの微生物分解機構を解明するには、当然ながら、リグニンがどういった化合物を経て分解されるかを知り、次いで、その反応が、どのような酵素によって触媒されるかを知らねばならない。しかし、これを達成することは、リグニンの化学構造の複雑さ故にリグニンを基質として用いると事実上不可能である。そこで改善の策として、よりシンプルなモデルシステム、即ちリグニン中の単量体相互の結合様式 (リグニン

\*第46回木研公開講演会 (平成3年5月17日、大阪) において、「リグニンはいかにして土に還るか」と題して講演

\*\* 生化学制御研究室 (Laboratory of Biochemical Control)

Keywords: Lignin, Biodegradation, White-rot fungi, Lignin peroxidase, Side chain cleavage, Aromatic ring cleavage.

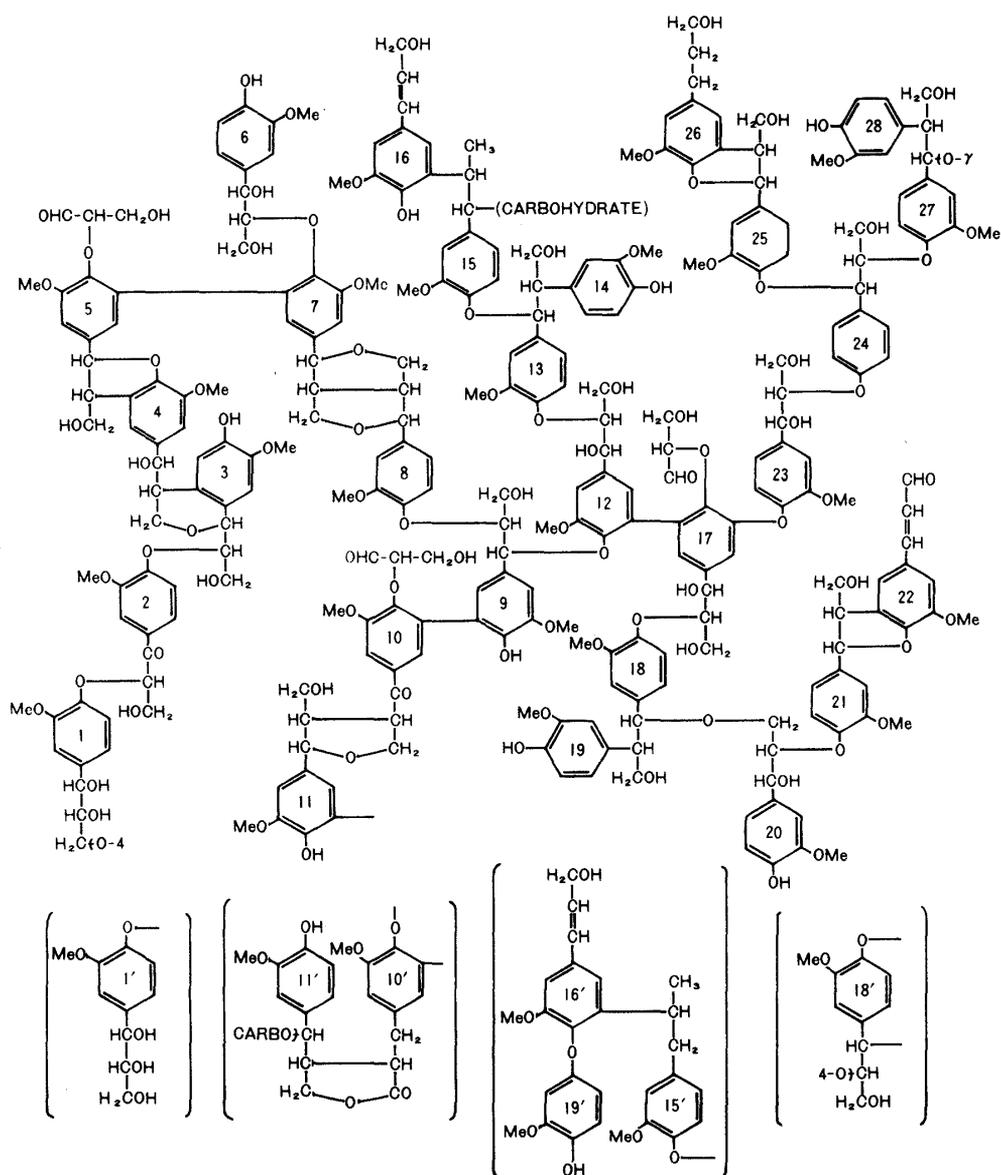


図1 針葉樹リグニンの構造模式図<sup>2)</sup>

サブストラクチャー)を含む二-三量体(リグニンサブストラクチャーモデル化合物)が基質として多用されてきた。これらのリグニンサブストラクチャーモデル化合物を用いるアプローチでは、分解の反応機構を詳細に検討し、分解反応を触媒する酵素を見つけたのに極めて有効であった。しかし、厳密にはモデルはあくまでモデルであり、当然のことながら高分子のリグニンの分解も詳しく調べられた。この高分子のリグニンを基質として用いるアプローチにおいては、リグニン分解反応の大体の傾向を知ることができる。したがって、これらの二つのアプローチは互いに相補的に、リグニンの微生物分解機構の解明に重要な役割を果たしてきた。

なお、図2にリグニンサブストラクチャーモデル化合物の例を示す。リグニン中最も多量に存在するのは、 $\beta$ -O-4構造(図1に於ける1-2-3, 6-7, 8-9, 12-13, 17-18, 20-21及び23-24-27間の結合様式)であるので、リグニンの微生物分解機構研究においては、 $\beta$ -O-4型サブストラクチャーモデル化合物が多用されてき

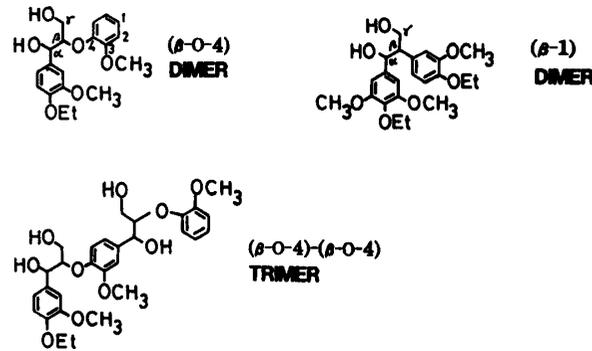


図2 リグニンサブストラクチャーモデル化合物の例

た。

### 3. リグニン分解性微生物とリグニン分解酵素

リグニンは本来微生物分解を受けにくい化合物であるといわれており、その分解速度は代表的なリグニン分解菌によっても極めて遅い。微生物のうち、少なくとも多少ともリグニンを分解することのできるものとして、細菌、軟腐朽菌が知られているが、木材中のプロトリグニンを積極的に分解低分子化するのは白色腐朽菌である<sup>3)</sup>。リグニンの微生物分解機構の研究においては、まずこれらの白色腐朽菌のもつリグニン分解酵素を単離すべくリグニンサブストラクチャーモデル化合物の分解経路が詳しく調べられた。その結果現在までにいわゆるリグニン分解酵素として三つの酵素が知られることとなった。すなわち、リグニンペルオキシダーゼ、マンガンペルオキシダーゼ、及びラッカーゼである。歴史的には、ラッカーゼが最も古くからリグニン分解との関連が指摘されてきた。すなわち、Bavendamm 反応に関与する酵素は、主としてラッカーゼであるとされた<sup>4)</sup>ことから、ラッカーゼのリグニン分解に果たす役割について多くの研究がなされてきた<sup>5)</sup>。一方リグニンペルオキシダーゼ<sup>6,7)</sup>とマンガンペルオキシダーゼ<sup>8)</sup>は、いずれも1980年代に入ってから発見された酵素である。これらの酵素の引き起こす反応の特徴としては、マンガンペルオキシダーゼとラッカーゼは、少なくとも生理的条件下では、遊離のフェノール性水酸基をもつリグニンユニットのみを酸化、リグニンペルオキシダーゼは、遊離のフェノール性水酸基をもつリグニンユニットに加えて、リグニン中の芳香核の大半を占める非フェノール性の(フェノール性水酸基がエーテル化された)ユニットも酸化できるということがあげられる。本総説においては、以後主としてリグニンペルオキシダーゼが引き起こす反応の機構について説明する。

### 4. リグニンペルオキシダーゼが発見されるまで

リグニンペルオキシダーゼは、1983年に Tien と Kirk<sup>6)</sup>、及び Glenn 等<sup>7)</sup>によって単離された。ここではまず、この酵素が発見される前の状況について若干説明したい。

リグニンサブストラクチャーモデル化合物を用いて、リグニンの分解を調べる試みは古く1960年代の初頭にすでにはじめられていた<sup>9)</sup>。さらに、これと平行して白色腐朽菌によって腐朽された木材から単離した腐朽リグニンの化学的性質が調べられていたが<sup>10)</sup>、その後1970年代の後半になってリグニン分解の為の最適培養条件が白色腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* について確立される<sup>11)</sup>に及んで一気にこの分野の研究が進展した。すなわち、これ以後この培養条件を用いて、サブストラクチャーモデルの分解<sup>12)</sup>並びに木材中のリグニンの分解<sup>13)</sup>が詳細に検討され、リグニンペルオキシダーゼの発見へ至った。

すなわち、白色腐朽を受けたリグニンは、メトキシル基及び  $\beta$ -O-4 型サブストラクチャーの量が減少しており、一方、酸素量及び脂肪族並びに芳香族カルボン酸量が増大していることが明らかにされた。また、

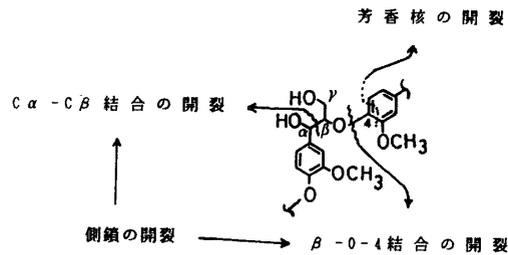


図3 リグニンの微生物分解における三つの主要分解反応

バニリン酸をはじめとする低分子の芳香族フェノール化合物がリグニン分解物として同定された。これらの結果をもとに、白色腐朽菌によるリグニン分解においては、リグニンペルオキシダーゼの発見までに少なくとも次の三主要分解反応が関与していることが推定されていた<sup>13)</sup>。1)プロピル側鎖の Cα-Cβ 結合の開裂、2) β-O-4 結合の開裂、及び3)芳香核の開裂である (図3)。

一方、サブストラクチャーモデル化合物をもちいたアプローチでは、1)プロピル側鎖の Cα-Cβ 結合の開裂及び、2) β-O-4 結合の開裂の生成物は確実に同定されていたが<sup>12,14-17)</sup>、3)芳香核の開裂生成物は未解明のままであった。また、これらの側鎖の Cα-Cβ の結合開裂と β-O-4 結合開裂を触媒する酵素の種類や性質を明らかにするために安定同位体を用いたトレーサー実験が行われていた<sup>18-20)</sup>。

このような状況のもとで、1983年リグニンペルオキシダーゼが Tien と Kirk<sup>6)</sup> 及び Glenn ら<sup>7)</sup>によって発見された。当初この酵素は、リグニナーゼ、過酸化水素要求性オキシゲナーゼ、ジアリルプロパンオキシゲナーゼ等と呼ばれていたが、現在ではリグニンペルオキシダーゼと呼ばれることが多い。

### 5. リグニンペルオキシダーゼによる側鎖の開裂とその機構

リグニンペルオキシダーゼは、まず、非フェノール性の β-O-4 及び β-1 型のリグニンサブストラクチャーモデル二量体のプロピル側鎖の Cα-Cβ 結合の開裂及び β-O-4 結合の開裂を触媒するものとして単離された<sup>6,7)</sup>。同時にこの酵素は、メチル化リグニン試料の低分子化と側鎖の Cα-Cβ 結合の開裂を引き起こすことも示された。ところで、リグニン中の芳香核の大半は、非フェノール性のユニットであるので、非フェノール性のリグニン芳香核の分解能を有することは、リグニン分解酵素として極めて有利であると考えられるが、この酵素は非フェノール性のリグニンサブストラクチャーモデル化合物の分解を触媒する事ができ、また、この酵素的作用によってこれらのサブストラクチャーモデル化合物から生成してきた分解生成物の化学構造は、生菌体による分解物のそれとまったく或いはほとんど同じであったので、これこそ、リグニン分解酵素であろうと考えられ、一躍脚光を浴び多くの研究者がこの酵素について種々の研究を行うこととなった。例えば、この酵素の収量をあげるための培養条件の検討、この酵素の遺伝子の解明、及びこの酵素の引き起こす反応の機構の解明などが精力的に行われた<sup>21)</sup>。

この酵素の引き起こす反応の機構については、以下のことが明らかにされた。まず、Kersten らは、この酵素がメトキシベンゼン類の一電子酸化を触媒することを ESR を用いて実証した<sup>22)</sup>。さらに重水素や <sup>18</sup>O 等の安定同位体を用いた種々の実験が行われた<sup>8,23-26)</sup>。これらの結果を基に、リグニンペルオキシダーゼによる上述の Cα-Cβ 結合の開裂及び β-O-4 結合の開裂は、次のように説明された。まずリグニンサブストラクチャーモデル化合物の芳香核の一電子酸化によってカチオンラジカルが生成し、次いでこのカチオンラジカルが水や分子内の水酸基や酸素分子と反応することによってこれらの開裂反応が起こるというものであった (図4)<sup>20,25,27)</sup>。なお、これらの安定同位体実験の結果は、*P. chrysosporium* の生菌体を用いてすでに行われていた同様の安定同位体実験の結果とほぼ完全に一致しており (図5)<sup>18-20,28)</sup>、この酵素が生菌体によるリグニンサブストラクチャーモデル化合物の分解に主要な役割をはたしていることが示された。

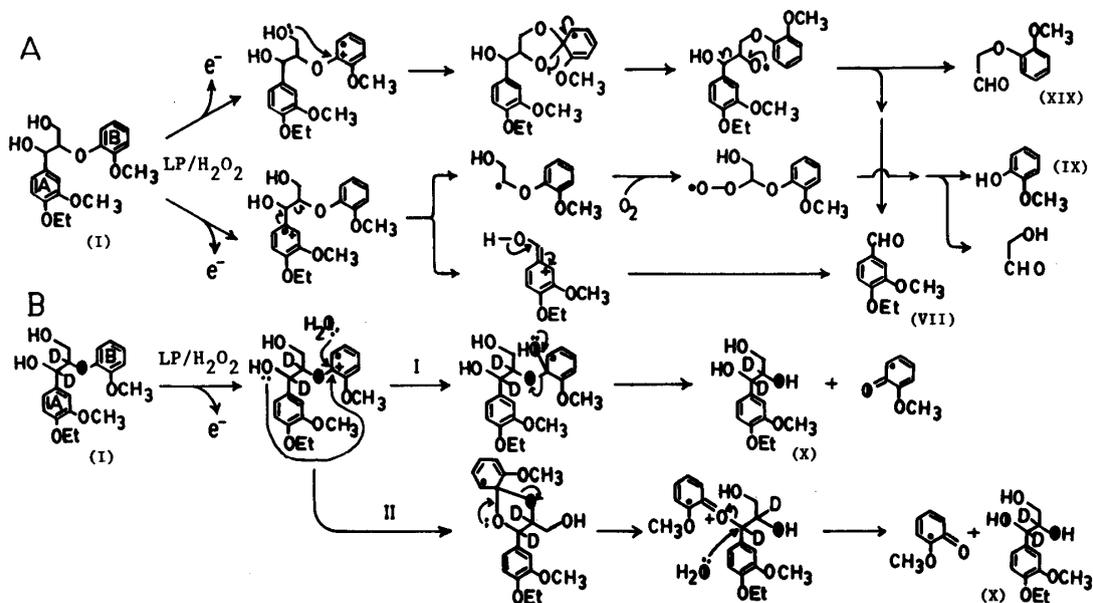


図4 リグニンペルオキシダーゼによる C $\alpha$ -C $\beta$  結合開裂(A)及び  $\beta$ -O-4 結合開裂(B)の推定機構  
LP: リグニンペルオキシダーゼ, ○: H<sub>2</sub>O 分子に由来する酸素原子, ●: (I) の  $\beta$ -O-4 エーテル結合の酸素原子に由来する酸素原子, D: <sup>2</sup>H.

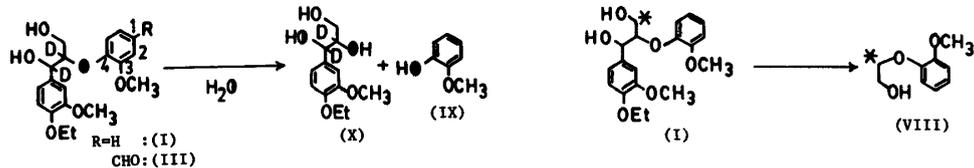


図5 *Phanerochaete chrysosporium* 生菌体による  $\beta$ -O-4 型二量体(I), (III)の分解における安定同位体トレーサー実験  
D: <sup>2</sup>H, ●及び ○: それぞれ  $\beta$ -<sup>18</sup>O-4 結合及び H<sub>2</sub><sup>18</sup>O に由来する <sup>18</sup>O, \*: <sup>13</sup>C.  
リグニンペルオキシダーゼを用いてもほぼ同様の結果が得られた。

以上のように、前述の三つの主要分解反応のうち、側鎖の C $\alpha$ -C $\beta$  結合の開裂及び  $\beta$ -O-4 結合の開裂については、その反応を触媒する酵素は見つかったし、その機構も解明された。しかし、残された芳香核の開裂に関しては、リグニンサブストラクチャーモデルの白色腐朽菌による分解に於いて、芳香核開裂生成物がなかなか見つからず、従って芳香核開裂を触媒する酵素の発見も遅々として進まなかった。

## 6. リグニンペルオキシダーゼによる芳香核開裂とその機構

その後、我々は  $\beta$ -O-4 型リグニンサブストラクチャーモデル化合物(I)の *P. chrysosporium* の生菌体による芳香核開裂生成物として環状炭酸エステル (XIV) を単離同定する事が出来た<sup>29)</sup>。更にこの化合物に加えて、その異性体(XV)及びギ酸エステル (XVI)も種々の  $\beta$ -O-4 型リグニンサブストラクチャーモデル化合物のこの菌による分解生成物として同定した<sup>30)</sup>。又、これらの芳香核開裂生成物の生成は、*P. chrysosporium* に特異的なものではなく、カワラタケ<sup>31)</sup>及びアラゲカワラタケ<sup>32)</sup>によっても生成することが示された。

さて、次にはこの芳香核開裂を触媒する酵素を単離することが問題となった。当時この芳香核開裂を触媒するのは、リグニンペルオキシダーゼではなくておそらくオキシゲナーゼであろうと推定されていた<sup>33)</sup>。し

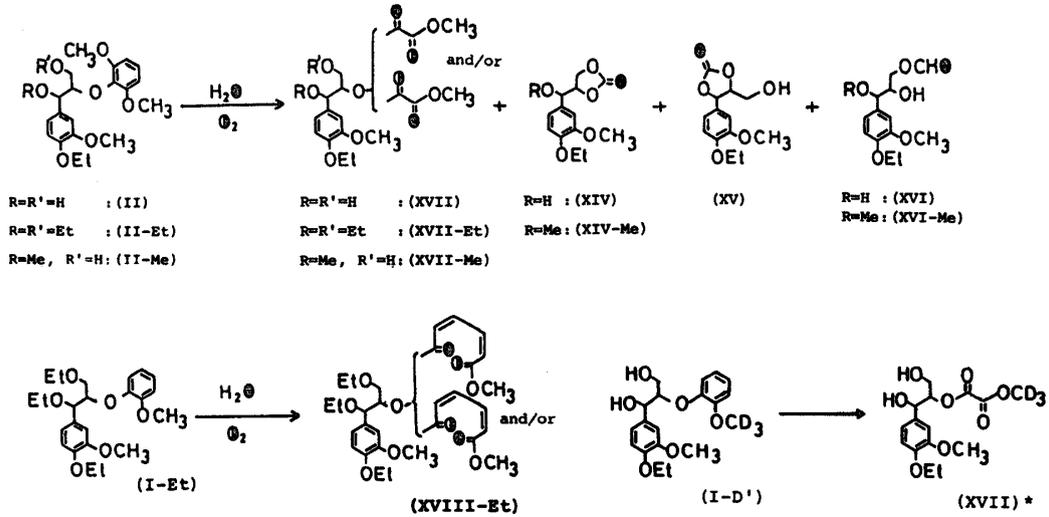


図6 リグニンペルオキシダーゼによる種々の  $\beta$ -O-4 型二量体の芳香核開裂生成物及び安定同位体トレーサー実験

D:  $^2H$ ,  $\ominus$ :  $H_2^{18}O$  に由来する  $^{18}O$ ,  $\bullet$ :  $^{18}O_2$  に由来する  $^{18}O$ .

かしながら、結局のところリグニンペルオキシダーゼが、上述のサブストラクチャーモデル化合物の芳香核開裂<sup>34)</sup>及びモノマーの芳香属化合物（ペラトリアルコール）の芳香核開裂<sup>35)</sup>を触媒することが示された。図6にこの酵素の作用によって種々の  $\beta$ -O-4 型リグニンサブストラクチャーモデル化合物から生成した芳香核開裂生成物を示す。生菌体の場合と同様アリアルグリセロールの環状炭酸エステル (XIV), (XIV-Me), (XV) とギ酸エステル (XVI) が同定されたが、これに加えて、シュウ酸エステル (XVII), (XVII-Et), (XVII-Me) とムコン酸エステル (XVIII-Et) も同定された<sup>36)</sup>。

このムコン酸エステルは、開裂を受けた芳香核の六つの炭素原子を全て保持しており、反応機構を検討するのに適していた。そこで次に、これらの芳香核開裂生成物の生成機構について検討するため、 $^{18}O_2$  及び  $H_2^{18}O$  からの  $^{18}O$  の取り込み実験を行った<sup>37,38)</sup>。その結果を図6に示したが、ムコン酸エステルとシュウ酸エステルについては、それらのエステルカルボニル酸素原子の一つは水分子に、他の一つは酸素分子に由来していた。又、シュウ酸エステルのメチル基は基質のB芳香核のメトキシル基に由来していることが重水素標識実験の結果明らかとなった<sup>37)</sup>。これらの結果を合理的に説明し得る、リグニンペルオキシダーゼによる芳香核開裂の機構として、我々は図7に示した機構を提案した<sup>20,28,38)</sup>。すなわち、まず  $\beta$ -O-4 型リグニンサブストラクチャーモデル化合物の芳香核のカチオンラジカルへの酸化と、それに引き続くカチオンラジカルへの水分子或いは分子内の水酸基の求核攻撃、及び酸素分子とのラジカルカップリングによって説明される。後に、Miki らによって類似の機構が  $\beta$ -O-4 型二量体のこの酵素による芳香核開裂に対して提案された<sup>39)</sup>。また、図7のムコン酸エステルの生成機構と類似の機構が、ペラトリアルコールのこの酵素による芳香核開裂に対して提案されている<sup>40,41)</sup>。

かくして、リグニンペルオキシダーゼは、プロピル側鎖の  $C\alpha$ - $C\beta$  結合の開裂、 $\beta$ -O-4 結合の開裂及び芳香核の開裂を全て触媒することが示され、その反応機構もほぼ明らかにされた。

### 7. リグニンペルオキシダーゼによるリグニン試料の分解

以上の反応機構に関する研究は、もっぱらリグニンサブストラクチャーモデル二—三量体を用いてなされたものである。このサブストラクチャーモデル化合物を用いるアプローチに於いては、個々の官能基の反応性は、それがモデル二—三量体の中にあっても、高分子のリグニンの中にあってもそれほど変わらないであ

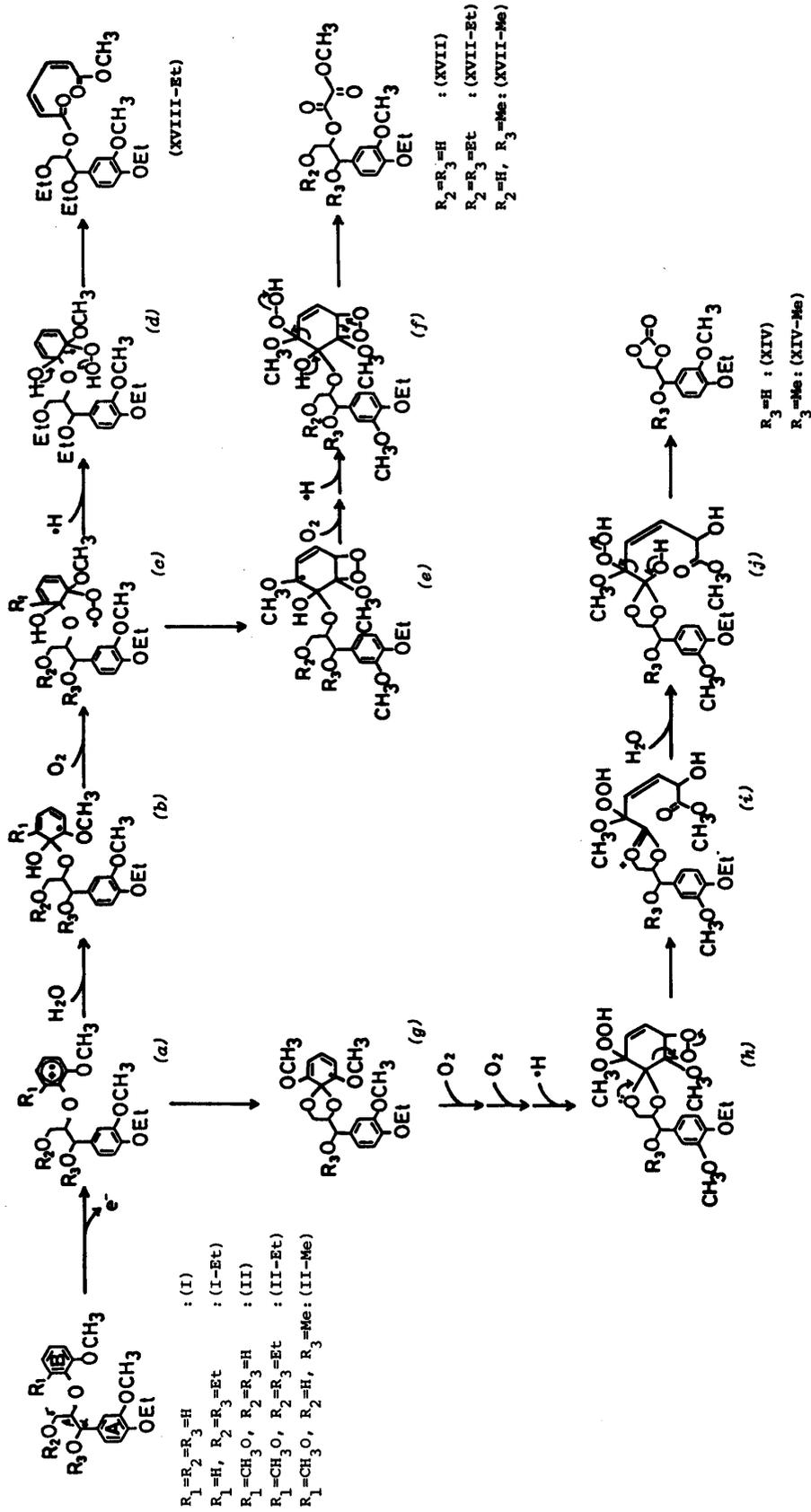


図7 リグニンペルオキシダーゼによる芳香核開裂の推定機構

ろうという仮定の上に成り立っている。しかしながら、高分子のリグニンの反応性は、個々の官能基の反応性からだけでは説明しきれないと考えるべきである。例えば、木材中のプロトリグニンは高分子化合物であり、それが白色腐朽菌によって分解される際、低分子のモデル化合物の場合とは異なり反応は不均一系で進行していると考えられる。また、木材中のプロトリグニンは、多糖と密接に共存している。これらの、サブストラクチャーモデル化合物にはなく、高分子のリグニンに特有の要因が、以後広く検討されてきた。

高分子量のリグニンとしては、単離リグニン (MWL など) や合成リグニン (DHP) などのいわゆるリグニン試料やプロトリグニン (すなわち、木材あるいは木粉そのものを用いる) などが考えられるが、まず、リグニン試料を用いた研究が多くなされた。これらの試料を用いた研究のポイントは、まずリグニンペルオキシダーゼが、これらのリグニン試料の低分子化を引き起こすことが出来るかということと、分解生成物としてリグニンサブストラクチャーモデル化合物から生成してきたものと同様の化合物が生じるかということであった。

そもそもこの酵素は、その単離が報告された論文に於いて、メチル化リグニン試料の部分低分子化を引き起こすことが示されていた<sup>6)</sup>。しかし、その後アルキル化によって遊離のフェノール性水酸基をブロックしてないリグニン試料は、この酵素によって全体として逆に高分子化を受けるといふ報告が相次いだ。すなわち、Haemmerli 等はリグニンペルオキシダーゼによって種々のリグニン試料 (alkali-isolated straw lignin, dioxane-HCl-isolated lignin および spruce MWL) を処理した際、これらのリグニン試料が高分子化を受けるとゲルろ過のクロマトグラムをもとに報告した<sup>42)</sup>。彼らは、カラムから溶出したリグニンの量を UV 吸収にてモニターしていたが、その後、<sup>14</sup>C 標識合成リグニンを基質として用い、リグニンの炭素数を正確にモニターすることによっても同様の結果が報告された<sup>43)</sup>。

そこで、我々は、リグニンペルオキシダーゼが、全体として低分子化させるかどうかは別として、リグニン試料を分解し得るかどうかを確かめるために、図 8 に示した合成リグニン(V)を合成し、そのリグニンペルオキシダーゼによる分解について検討した<sup>44,45)</sup>。その結果、プロピル側鎖の C $\alpha$ -C $\beta$  結合の開裂、 $\beta$ -O-4 結合の開裂、及び芳香核の開裂は確かに起こり、図 8 に示した生成物が同定された。又これらの分解生成物は、リグニンサブストラクチャーモデル二-三量体から生成した分解物とまったく同じであり、これらの化合物の生成機構が、合成リグニンからの場合と、サブストラクチャーモデルからの場合とで本質的に同じであることが強く示唆される。又、ペラトリアルアルコールが、リグニンペルオキシダーゼの触媒する反応を促進することは、以前から知られていたが、この場合も同様に、これらの分解生成物の生成には、ペラトリアルアルコールが反応系に共存していることが必須であった。

リグニンペルオキシダーゼは、確かにリグニン試料の分解を触媒することができることが示されたが、高

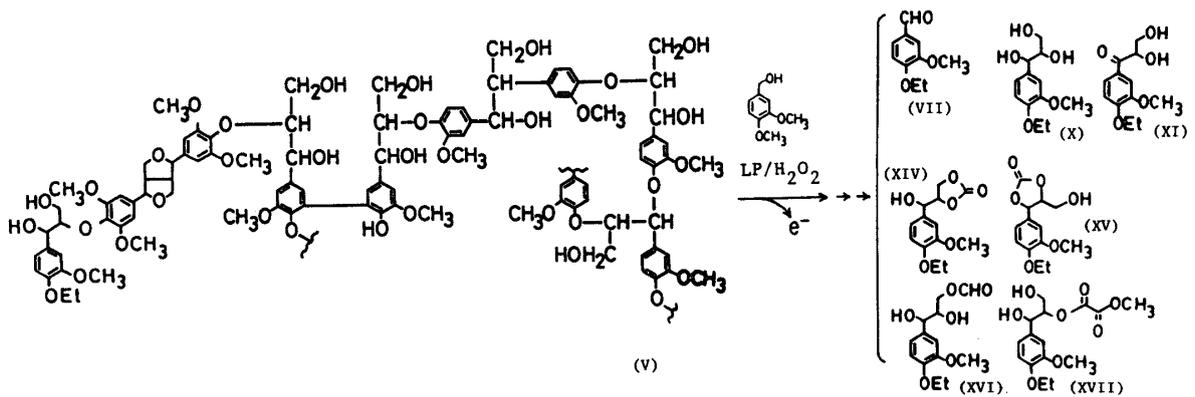


図 8 リグニンペルオキシダーゼによる合成リグニンの分解  
LP: リグニンペルオキシダーゼ

分子化も引き起こす。一方、*P. chrysosporium* の生菌体は、これらのリグニン試料を結局分解低分子化することができる<sup>46)</sup>。そこで、全体として反応を低分子方向に流す反応条件或いは生体システムを検討する必要があるとされた。

リグニンペルオキシダーゼによって、リグニン試料が高分子化する機構は、リグニンペルオキシダーゼがフェノール性水酸基をフェノキシラジカルへと酸化し、このフェノキシラジカルが相互にカップリングすることによってリグニンが重合しているものと推定されている<sup>43)</sup>。したがって、これを全体として低分子化する条件については、何らかの形でこのフェノキシラジカルの重合を抑えるものであろうと推定された。この重合を抑える物としては、少なくとも二つの可能性が考えられた。一つには、リグニンペルオキシダーゼ以外の酵素系が、この重合を抑える働きをしているというもので、他方は、単に反応条件の違いによって、或いは、物理的にフェノキシラジカルのカップリングが阻害されているとするものである。

まず、前者の考えに則るものとして、*P. chrysosporium* の生産するセロビオースーキノノキシドレダクターゼが、重合を抑える可能性が検討されたが、この酵素は重合を阻害することは出来ないと報告された<sup>43)</sup>。さらに、グルコースオキシダーゼもアセトシリンゴンのフェノキシラジカルを還元することはできなかったと報告された<sup>43)</sup>。但し、最近セロオビースーキノノキシドレダクターゼは、リグニンペルオキシダーゼによるクラフトリグニンの重合を抑制すると報告された<sup>47)</sup>。いっぽう、合成リグニンの配糖体は、リグニンペルオキシダーゼによって低分子化されると報告され、配糖体生成システムのリグニン分解への関与が提案された<sup>48)</sup>。

後者に対するものとして、最近、Hammel らは、遊離のフェノール性水酸基をブロックしていない <sup>14</sup>C 標識広葉樹型合成リグニンをこの酵素が低分子化させる条件について報告した<sup>49)</sup>。即ち、基質濃度及び過酸化水素濃度を低く抑え、反応系にベラトリルアルコールを共存させれば低分子化が起こるということである。基質濃度が低いことによって、フェノキシラジカル同士のカップリングが起きにくいと考えるとこの結果はうまく説明できる。

なお、リグニン試料の分子量変化をゲルクロマトグラフィーで検討する際に、リグニン量を UV でモニターした例が多いが、Chua ら<sup>46)</sup> によって指摘されたように、*P. chrysosporium* によって分解された <sup>14</sup>C 標識合成リグニンの <sup>14</sup>C をモニターすることによって得られたラジオゲルクロマトグラムは、同じサンプルを UV 吸収でモニターして得たクロマトグラムとはまったく違っており、適正な検量線がないかぎり、UV 吸収ではリグニンの炭素数を正確にはモニターできないことに注意を払わなければならない。

いずれにしても、リグニンペルオキシダーゼによる高分子リグニンの低分子化が実証されつつあるが、今後は自然界に於ける木材の分解に出来るだけ近い反応系を再構成して、この酵素によるリグニン分解を実証することが最終的に重要と考えられる。最近いわゆるリグニン分解酵素のキャラクタリゼーションが進んできたことから、これらの酵素と関係づけながら、改めてリグニン分解の生理的条件が検討されつつある。たとえば、Boominathan らはリグニンペルオキシダーゼをつくらないが、マンガンペルオキシダーゼをつくる *P. chrysosporium* の変異株をつくり、リグニン分解について検討している<sup>50)</sup>。また、Perez と Jeffries は *P. chrysosporium* によるリグニンペルオキシダーゼとマンガンペルオキシダーゼの産生量が培地中の Mn (II) の濃度に依存することを利用して、リグニンペルオキシダーゼを主として産生する状態、及びマンガンペルオキシダーゼを主として作り出す状態を作り出して、これらの条件下で <sup>14</sup>C 標識合成リグニンの分解を検討している<sup>51)</sup>。これらの酵素はこの菌の菌体外培養液から一般に得られているが、リグニンペルオキシダーゼが菌体に結合した形でも存在していることが示されており、この菌体に結合したリグニンペルオキシダーゼがリグニン分解において重要な役割をはたしていることが示唆されている<sup>52)</sup>。このような、いわゆる現象に関するデータをふまえることをよって自然界に於ける木材の分解に出来るだけ近い反応系を再構成することが可能になると思われる。

今後の問題点としては、上述の点に加えて、リグニンペルオキシダーゼが白色腐朽菌全体の中でどれだけ

一般的に分布しているか、また、マンガンペルオキシダーゼやラッカーゼとのリグニン分解における役割分担あるいは共同効果の有無の検討が重要な課題であると考えられる。

## 8. 結 論

リグニンの微生物分解機構の研究は、ここ15年の間に著しく進歩した。いわゆるリグニン分解酵素もいくつか単離され、その性質も詳しく調べられている。リグニンペルオキシダーゼについては、その触媒する反応は、芳香核の一電子酸化によるカオチンラジカルの生成を初発反応として、それに引き続いてカオチンラジカルが水分子や酸素分子と反応することによって、側鎖及び芳香核の開裂に至るという機構で説明される。また、最近リグニンペルオキシダーゼによるリグニン試料の低分子化をひきおこす反応条件が報告された。現在までに、リグニン分解系に関与しているとされる酵素が色々見つかってきているが、今後は、これらが共同して働いているリグニン分解生体システムの全体を解明することが重要と考えられる。また、リグニン分解酵素によるリグニン分解反応機構の研究と平行して、リグニン分解酵素の大規模生産に向けての生理条件の研究や、リグニン分解酵素の分子生物学的研究が活発になされてきており、リグニン分解生体システムのバイオマス変換、バイオパルピング、バイオブリーチング、廃液及び環境汚染物質処理、臨床検査薬への応用に新分野を開くものと期待される。

## 引用文献

- 1) K.V. SARKANEN and H.L. HERGERT: "Lignins", K.V. SARKANEN and C.H. LUDWIG, Eds. Wiley-Interscience, New York, pp. 43-94 (1971)
- 2) A. SAKAKIBARA: Wood Sci. Technol., **14**, 89 (1980)
- 3) 高橋旨象: 木材研究・資料, No. **22**, 19 (1986)
- 4) T. HIGUCHI: J. Jap. Forest. Soc., **35**, 77 (1953)
- 5) 樋口隆昌: "木材化学", 中野準三, 樋口隆昌, 住本昌之, 石津敦共著, ユニ出版, pp. 386-416 (1983)
- 6) M. TIEN and T.K. KIRK: Science, **221**, 661 (1983)
- 7) J.K. GLENN, M.A. MORGAN, M.B. MAYFIELD, M. KUWAHARA and M.H. GOLD: Biochem. Biophys. Res. Commun., **114**, 1077 (1983)
- 8) M. KUWAHARA, J.K. GLENN, M.A. MORGAN and M.H. GOLD: FEBS Lett., **169**, 247 (1984)
- 9) J.D. RUSSELL, M.E.K. HENDERSON and V.C. FERMER: Biochim. Biophys. Acta, **52**, 565 (1961)
- 10) K. HATA: Holzforschung, **20**, 142 (1966)
- 11) T.K. KIRK, E. SCHULTZ, W.J. CONNORS, L.F. LORENZ and J.G. ZEIKUS: Arch. Microbiol., **117**, 277 (1978)
- 12) T. HIGUCHI: "Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components", T. HIGUCHI, Ed., Academic Press, Orlando, FL, pp. 557-578 (1985)
- 13) C.-L. CHEN and H.-m. CHANG: "Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components", T. HIGUCHI, Ed., Academic Press, Orlando, FL, pp. 535-556 (1985)
- 14) A. ENOKI, G.P. GOLDSBY and M.H. GOLD: Arch. Microbiol., **125**, 227 (1980)
- 15) A. ENOKI, G.P. GOLDSBY and M.H. GOLD: Arch. Microbiol., **129**, 141 (1981)
- 16) F. NAKATSUBO, T.K. KIRK, M. SHIMADA and T. HIGUCHI: Arch. Microbiol., **128**, 416 (1981)
- 17) T. UMEZAWA, F. NAKATSUBO and T. HIGUCHI: Agric. Biol. Chem., **47**, 2677 (1983)
- 18) T.K. KIRK: Phil. Trans. R. Soc. Lond. **A321**, 461 (1987)
- 19) 梅澤俊明, 樋口隆昌: 島津科学器械ニュース, **28**(3), 7 (1987)
- 20) T. UMEZAWA: Wood Research, No. **75**, 21 (1988)
- 21) 桑原正章: "セルロース資源", 越島哲夫編, 学会出版センター, pp. 116-123 (1991)
- 22) P.J. KERSTEN, M. TIEN, B. KALYANARAMAN and T.K. KIRK: J. Biol. Chem., **260**, 2609 (1985)
- 23) M. TIEN and T.K. KIRK: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **81**, 2280 (1984)
- 24) T. HABE, M. SHIMADA, T. UMEZAWA and T. HIGUCHI: Agric. Biol. Chem., **49**, 3505 (1985)
- 25) K. MIKI, V. RENGANATHAN and M.H. GOLD: Biochemistry, **25**, 4790 (1986)
- 26) K. MIKI, V. RENGANATHAN and M.H. GOLD: FEBS Lett., **203**, 235 (1986)

- 27) T.K. KIRK, M. TIEN, P.J. KERSTEN, M.D. MOZUCH and B. KALYANARAMAN: *Biochem. J.*, **236**, 279 (1986)
- 28) T. UMEZAWA and T. HIGUCHI: "Enzymes in Biomass Conversion, ACS Symposium Series 460", G.F. LEATHAM and M.E. HIMMEL, Eds., American Chemical Society, Washington, DC, pp. 236-246 (1991)
- 29) T. UMEZAWA and T. HIGUCHI: *FEBS Lett.*, **182**, 257 (1985)
- 30) T. UMEZAWA, S. KAWAI, S. YOKOTA and T. HIGUCHI: *Wood Res.*, **No. 73**, 8 (1986)
- 31) S. KAWAI, T. UMEZAWA and T. HIGUCHI: *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, 1505 (1985)
- 32) K. YOSHIHARA, T. UMEZAWA, T. HIGUCHI and M. NISHIYAMA: *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2345 (1988)
- 33) T. HIGUCHI: *Mokuzai Gakkaishi*, **30**, 613 (1984)
- 34) T. UMEZAWA, M. SHIMADA, T. HIGUCHI and K. KUSAI: *FEBS Lett.*, **205**, 287 (1986)
- 35) M.S.A. LEISOLA, B. SCHMIDT, U. THANET-WYSS and A. FIECHTER: *FEBS Lett.*, **189**, 267 (1985)
- 36) T. UMEZAWA and T. HIGUCHI: *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2281 (1987)
- 37) T. UMEZAWA and T. HIGUCHI: *FEBS Lett.*, **205**, 293 (1986)
- 38) T. UMEZAWA and T. HIGUCHI: *FEBS Lett.*, **218**, 255 (1987)
- 39) K. MIKI, R. KONDO, V. RENGANATHAN, M.B. MAYFIELD and M.H. GOLD: *Biochemistry*, **27**, 4787 (1988)
- 40) M. SHIMADA, T. HATTORI, T. UMEZAWA, T. HIGUCHI and K. UZURA: *FEBS Lett.*, **221**, 327 (1987)
- 41) S.D. HAEMMERLI, H.E. SCHOEMAKER, H.W.H. SCHMIDT and M.S.A. LEISOLA: *FEBS Lett.*, **220**, 149 (1987)
- 42) S.D. HAEMMERLI, M.S.A. LEISOLA and A. FIECHTER: *FEMS Microbiol. Lett.*, **35**, 33 (1986)
- 43) E. Odier, M.D. MOZUCH, B. KALYANARAMAN and T.K. KIRK: *Biochim.*, **70**, 847 (1988)
- 44) T. UMEZAWA and T. HIGUCHI: *FEBS Lett.*, **242**, 325 (1989)
- 45) T. UMEZAWA and T. HIGUCHI: *Mokuzai Gakkaishi*, **35**, 1014 (1989)
- 46) M.G.S. CHUA, S. CHOI and T.K. KIRK: *Holzforschung*, **37**, 55 (1983)
- 47) P. ANDER, C. MISHRA, R.L. FARRELL and K.-E.L. ERIKSSON: *J. Biotechnol.*, **13**, 181 (1990)
- 48) R. KONDO, T. IMORI, H. IMAMURA and T. NISHIDA: *J. Biotechnol.*, **13**, 181 (1990)
- 49) K.E. HAMMEL, and M.A. MOEN: *Enzyme Microb. Technol.*, **13**, 15 (1991)
- 50) K. BOOMINATHAN, S.B. DASS, T.A. RANDALL, R.L. KELLEY and C.A. REDDY: *J. Bacteriol.*, **172**, 260 (1990)
- 51) J. PEREZ and T.W. JEFFRIES: *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 1806 (1990)
- 52) B. KUREK and E. ODIER: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **34**, 264 (1990)