

氏 名	小 西 清 司 こにし きよ し
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 422 号
学位授与の日付	昭 和 48 年 1 月 23 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	カワラタケのラッカーゼによるリグニンの分解に関する研究

(主 査)
論文調査委員 教授 樋口隆昌 教授 北尾弘一郎 教授 今村力造

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は代表的な白色腐朽菌であるカワラタケによるリグニンの分解において、これに関与する菌体外酵素の解明、ならびにそれらの酵素によるリグニンの分解機構を明らかにすることを目的としたもので、その概要はつぎのとおりである。

(1) カワラタケの培養濾液中の粗酵素を60-100%硫酸飽和によって分別沈澱させ、これをゲル濾過およびイオン交換クロマトグラフィーにより精製し、電気泳動的ならびに超遠心的に単一な2種類の酵素(AおよびB)を単離した。両酵素はたがいにアイソザイムで、いずれも1分子当り4原子のCuを含有する糖タンパクからなり、化学成分組成、偏比重、沈降定数、分子量および基質特異性などから、これまでカワラタケから分離精製されてきたラッカーゼとよく似た性質を示すことを明らかにした。

(2) 酵素Bによるペンタクロロフェノール(PCP)の不活性化の一要因として、PCPが酵素作用によって抗菌力の劣るクロラニール、テトラクロロベンゾキノン-1,2、あるいはこれらとPCPのエーテル化合物に変化するためであることを明らかにした。

(3) スギ磨砕リグニン(MWL)は酵素AまたはBの作用により、低分子物質に分解されることなく水に可溶化することを見出し、官能基分析の結果から、その一要因として酵素作用によるMWL中のカルボキシル基の生成が関与していることを推定した。

(4) 酵素処理したスギMWLのアンドリシス生成物中からグワヤシルビルビン酸およびビルビン酸を見出し、このことから、酵素作用によってMWL中に生じたカルボキシル基は、リグニン中のグワヤシルグリセロール- β -グワヤシルエーテル型構造のグリセロール側鎖の γ 位、およびグワヤシル-1-プロパノンと、隣接するグワヤシルプロパノールの酸化カップリングを通して解裂したプロパノン側鎖から生じることを明らかにし、さらにリグニンモデル化合物の酵素処理により、ピノレジノール型構造部からも1部のカルボキシル基が生成することを推定した。

(5) 酵素処理したスギMWLのニトロベンゼン酸化、メチル化一過マンガン酸カリ酸化、アンドリシ

スなどの実験により、酵素作用によってリグニンの非縮合型構造の1部が縮合型構造に変化すること、またこの変化が酵素作用によって生じたフェノキシラジカルのカップリングによることを明らかにした。

(6) 酵素処理した MWL は、無処理 MWL に較べて菌糸の生育に一層適していることを見出し、スギ辺材中のリグニンの分解とラッカーゼの活性との間に相関性のあることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

従来、カワラタケなどのリグニン分解菌が培養基中にラッカーゼを分泌することが明らかにされ、カワラタケラッカーゼの分離精製についても研究されてきた。しかし、この酵素のリグニン分解に及ぼす作用機構については、これまでほとんど研究されていない。

本論文はカワラタケ培養濾液から分離精製したラッカーゼのリグニンに及ぼす作用機構を詳細に検討し、リグニン分解におけるこの酵素の役割の一端を明らかにしている。

すなわち、まずカワラタケ培養濾液から硫酸分画、ゲル濾過、イオン交換クロマトグラフィーなどによって、電気泳動的、超遠心的に単一な2種のラッカーゼを単離し、その化学組成、分子量などの測定から、これらがいずれも一分子当り4原子のCuを含有する糖タンパクであることを明らかにしている。つぎに、この酵素のスギ磨砕リグニン(MWL)に対する作用機構を詳細に究明し、その結果、MWLはラッカーゼの作用によって一層重縮合が進むにもかかわらず水に可溶性となり、この酵素処理リグニンを種々の方法で分解すると、無処理リグニンに較べてリグニンの非縮合部からの分解生成物の収量が減少し、縮合部からの分解生成物量が2倍以上に増大すること、リグニン中のフェノール性水酸基量が著るしく減少し、一方 α -カルボニル基量は増大し、正常のMWLには見出されない多量のカルボキシル基が生成することを明らかにしている。

さらに、酵素作用によって生じたこのカルボキシル基がリグニンを水可溶性にする一要因であり、これがリグニンの主要な構成単位であるグワヤシルグリセロール- β -グワヤシルエーテル構造のグリセロール側鎖の γ 位、および酵素による酸化カップリングを通して解裂したリグニンのプロパノン側鎖から生じることを明らかにし、ついでこのようなリグニンの化学構造の変化は、主としてラッカーゼによって生じたフェノキシラジカルの反応によることを明らかにしている。

なお、酵素で予め処理したMWLを炭素源としてカワラタケ菌糸を培養すると、無処理MWLを用いた場合と較べて速かに吸収され、菌の生育が良好であることも明らかにしている。

以上のように、本研究はリグニン分解菌によって分泌されるラッカーゼのリグニン分解に対する作用機構を初めて明らかにしたもので、林産学の分野に貢献するところがきわめて大きい。

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。