

糸状菌Acremonium
cellulolyticus起源の植物細胞壁分解酵素に関する酵
素化学的研究

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: ja 出版者: 静岡大学大学院電子科学研究科 公開日: 2008-04-11 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 仁平, 高則 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/10297/1464 |

| | |
|-----------|---|
| 氏名・(本籍) | 仁 平 高 則 (静岡県) |
| 学位の種類 | 博 士 (工 学) |
| 学位記番号 | 工博甲第 212 号 |
| 学位授与の日付 | 平成 13 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・専攻の名称 | 電子科学研究科 電子材料科学 |
| 学位論文題目 | 糸状菌 <i>Acremonium cellulolyticus</i> 起源の植物細胞壁分解酵素に関する酵素化学的研究 |

| | | | |
|--------|-------|---------|------------|
| 論文審査委員 | (委員長) | | |
| | 教授 | 長 村 利 彦 | 教授 岡 田 巖太郎 |
| | 教授 | 山 田 眞 吉 | |
| | 助教授 | 近江谷 克 裕 | |

論 文 内 容 の 要 旨

我々人類は、産業革命をはじめとする技術革新によって、工業的・経済的に発展し、社会の繁栄を築き上げてきた。しかし、経済成長の代償として、地球規模の資源荒廃や環境問題などが顕在化しつつある。

このような現状に基づき、昨今生物がもつ資源の再生産機能を活用し、その有効利用を図ろうとする機運が急速に高まっている。自然との調和を図りながら、生物の再生産能力を飛躍的に向上させるとともに、生物資源の総体であるバイオマスを食糧・飼料・工業原料・エネルギーなどに、効率よく変換・利用する革新的な技術体系の確立を目指し、研究・開発が展開されている。

バイオマスは、降り注ぐ豊富な太陽エネルギーによって再生産される、他に例を見ない優れた特性を有している。バイオマスの中で最も多量に存在する植物バイオマスは、主としてデンプン、セルロース、ヘミセルロースおよびペクチンなどの成分から構成されている。このうちデンプンに関しては、すでに相当高度利用されているが、セルロースやヘミセルロースは依然として低・未利用植物バイオマスの域を出ていない。本研究においては、植物バイオマスのうち植物細胞壁構成成分を有効に利用するため、農産廃棄物中に多量に存在するヘミセルロースの主要成分であるキシランならびに細胞間隙物質ペクチンに着目した。これら両物質をそれぞれ効率的に分解する微生物酵素キシラナーゼおよびペクチナーゼに焦点を当て、これらの酵素成分について酵素化学的・酵素工学的な研究を展開することを意図した。

中温糸状菌 *Acremonium cellulolyticus* は、本来セルロース分解菌として知られていたが、本菌起源の市販酵素製剤中に共存する各種酵素活性を精査したところ、セルラーゼばかりでなく強力なキシラナーゼおよびペクチナーゼも同時に産生されていることが判明した。従来研究されてきた他起源の微生物に比べ、当該菌が高い糖化活性を有するペクチナーゼを産生することから、植物細胞壁を高効率に分解することが十分可能と考えられる。

本研究は、共同研究としてすでに報告されている *A. cellulolyticus* が産生する数種のセルラーゼ成分と複合的に植物細胞壁へ作用するキシラナーゼおよびペクチナーゼ成分の分離精製法を確立し、各精製酵素の示す物理化学的・酵素学的性質などを精査することにより、*A. cellulolyticus* による未利用バイオマス資源、主としてヘミセルロースの有効利用を目指したものである。

本論文は、全4章から構成されている。第1章では、本研究の背景、位置付け、目的および研究の方向性などについて、わが国の天然資源・エネルギー事情に触れ、植物バイオマスの資源・エネルギーとしての潜在性について解説するとともに、植物バイオマス資源の変換利用に不可欠な細胞壁崩壊に関連する酵素の作用機作などについて紹介した。

第2章では、本研究に供した酵素製剤および各種基質などの材料や試薬等の調製方法、ならびに研究を遂行する上で用いた分析・実験手法について詳細に記した。また、各酵素活性測定法における当該酵素の活性量1酵素単位についてもそれぞれ定義した。

第3章では、本研究によって判明した事項について、3部に分けて記述した。第1部では、出発粗酵素製剤の調製法、酵素製剤中に含まれる種々の酵素成分の確認および酵素タンパク質の大量処理と粗分画を目的とした精製第一段階について検討した。中温糸状菌 *A. cellulolyticus* 起源の市販酵素製剤中に含まれる酵素成分のうち、第2部では3種のキシラナーゼ成分について、第3部では5種のペクチナーゼ成分について、個々の酵素成分の分離・精製法の開発や、分子量、等電点およびN末端アミノ酸配列などのタンパク質化学的性質、pH、温度および各種試薬などが当該酵素におよぼす影響、各種基質に対する当該酵素の基質特異性、精製酵素の基質に対する作用様式など、当該酵素が示す諸性質について詳細に分析・検討した。

第4章では、本研究から判明した諸事実について、3部に分けて考察を行なった。第1部では3種のキシラナーゼ成分の解析について、第2部では5種のペクチナーゼ成分の解析について、それぞれ個々の実験データに関する解説・検討に加え、他起源の同類酵素との比較などを行なった。第3部では、植物バイオマスの利用に対する現状に触れ、本研究で明らかにされた *A. cellulolyticus* 起源のキシラナーゼおよびペクチナーゼ成分の意義や、これに基づく植物バイオマス資源の有効利用における当該酵素製剤の利用の可能性などについて、総合的に考察した。

論文審査結果の要旨

バイオマスは、太陽エネルギーによって再生産される豊富な生物資源である。バイオマスの中で、最も多量に存在する植物バイオマスは、デンプン、セルロース、ヘミセルロース、ペクチンなどから構成されている。これらのうち、デンプンは相当程度高度利用されているが、植物細胞壁の主要成分であるセルロース、ヘミセルロース、ペクチンなどは依然として低・未利用資源の域を出ていない。そこで、植物細胞壁構成成分の有効活用を目指し、ヘミセルロースの主成分キシランならびに細胞間隙物質ペクチンに着目した。両物質をそれぞれ高効率で分解する微生物酵素キシラナーゼおよびペクチナーゼに焦点を当て、酵素化学的・酵素工学的研究を展開した。

本論文では、植物細胞壁分解酵素産生菌として極めて有望な、好気性中温糸状菌 *Acremonium cellulolyticus* 起源のキシラナーゼおよびペクチナーゼ系を構築する各酵素成分の完全精製法を確立するとともに、個々の酵素が有する諸特性を詳細に解析・検討し、両酵素系の全貌を明らかにしている。さらに、本菌糖化酵素系の総合利用の可能性についても言及している。

第1章では、植物バイオマスの微生物酵素糖化に関するこれまでの研究経緯を述べ、本研究の背景と目的を示している。

第2章では、本研究に用いた実験材料、試薬類、実験手法などについて詳細に記述している。

第3章では、*A. cellulolyticus* 起源の3種のキシラナーゼおよび5種のペクチナーゼの高純度精製法を確立し、各精製酵素の分子ならびに触媒特性について詳述している。その結果、3種のキシラナーゼは相互にアイソフォームであることが明らかとなり、またペクチナーゼ系においては、作用様式の異なるエキソ型とエンド型のペクチナーゼが共存することが判明し、ペクチン糖化の際に発揮される相乗効果についても言及している。

第4章では、本研究で明らかにされた当該菌起源のキシラナーゼおよびペクチナーゼ系が具備する優れた触媒特性を総括し、個々の酵素が発現する植物細胞壁分解活性の意義と今後の展望、特に植物バイオマスの有効活用に関し、他起源微生物の植物細胞壁分解酵素系と比較し、当該菌酵素系の優位性について、多面的に考察している。さらに本複合酵素系が、今後の食品工業ならびに飼料工業等に有効利用される方途について、具体的な提言を行なっている。

以上、本論文は *A. cellulolyticus* が構築する植物細胞壁分解酵素系のうち、キシラナーゼおよびペクチナーゼ系酵素群の分子・機能特性を精査し、植物バイオマスの高効率酵素糖化に関わる基盤データを提供するもので、植物バイオマスの工業的酵素糖化プロセスに寄与するところが大きい。よって、本論文は博士(工学)を授与するに十分値するものと結論された。