

## 論文の内容の要旨

生物材料科学専攻  
平成27年度 博士課程 入学  
氏名 櫻木 潔  
指導教員名 鮫島正浩

### 論文題目

広葉樹由来木質バイオマスの酵素糖化に関する研究

#### 第一章 序論

酵素糖化はバイオマスリファイナリーにおいて重要な位置付けであるが、木質バイオマスの場合、リグニンの存在が大きな制約要因となっているため、その除去を伴う前処理が酵素糖化の効率化のためには不可欠とされている。一方、草本バイオマスの場合、アンモニア処理等の脱リグニンを伴わない簡便な前処理で酵素糖化を効率的に行うことができるので、広葉樹由来木質バイオマスの酵素糖化における制約要因を精査し、この前処理を広葉樹由来木質バイオマスの酵素糖化に適用することを本研究の目的として検討を行った。

#### 第二章 アンモニア前処理バイオマスの酵素糖化特性

アンモニア前処理が6種の広葉樹由来木質バイオマスの酵素糖化に与える影響を明らかにすることで、その適用性を調べた。市販酵素剤 (CTec+HTec) を用いた酵素糖化実験の結果、アンモニア前処理はキシラン/リグニン含有率 (X/L) 比の高いシラカバの酵素糖化に有効である一方、アカシアやユーカリ等のX/L比の低い樹種に対する効果は小さいことを明らかにした。したがって、X/L比の高い広葉樹由来木質バイオマスでは、草本バイオマスの場合と同様にアンモニア処理は酵素糖化の前処理として有効であり、リグニンの存在による酵素糖化の制約は限定的であることを示した。

### 第三章 ホロセルロースの酵素糖化特性

前章より、X/L比の低い樹種ではリグニンが酵素糖化の大きな制約要因となることが示された。そこで、脱リグニンされた広葉樹由来木質バイオマスでは酵素糖化の制約が解除されたかどうかを確認するために、Wise法による脱リグニン処理によって得られたホロセルロースの酵素糖化特性を調べた。その結果、すべての樹種において、脱リグニン処理は酵素分解性を大幅に改善したが、その効果には樹種間で大きな差がみられ、未だに酵素糖化の制約要因が存在することが明らかとなった。市販酵素剤 (CTec+HTec) とHTecのみでそれぞれ酵素糖化を行って近似解析をしたところ、広葉樹由来木質バイオマスのキシランにはセルロース分解を伴うことなく分解できるキシラン (易分解性キシラン) とセルロース分解を伴わないと分解できないキシラン (難分解性キシラン) の二相状態が存在することを示した。さらに、二相状態の比率については樹種間で大きな差があることが明らかとなり、これが酵素糖化特性にも大きな差を与える要因となると考えられた。ホロセルロースの酵素糖化において、セルロース分解とキシラン分解が密接に関わり合っていたことから、リグニンによる制約だけではなく、キシランによる制約も考慮して、糖化に用いる酵素の選択と強化を行う必要があると判断された。

### 第四章 広葉樹由来木質バイオマス糖化酵素の探索

前章までの結果により、広葉樹由来木質バイオマスの酵素糖化においては、リグニンによる制約のみならず、セルロースに対するキシランの存在状態が大きな制約要因であることが示された。そこで、キシラン分解の促進に適した酵素を探索するために、担子菌 *Phanerochaete chrysosporium* がアンモニア処理シラカバ由来木質バイオマスの分解時に分泌する酵素について二次元電気泳動法とLC-MS/MS分析を利用して網羅的に解析を行った。その結果、同菌はアンモニア処理シラカバ由来木質バイオマスを炭素源として生長するとき、培養液のキシラナーゼ活性を顕著に向上し、その際、特にGHファミリー11に属するキシラナーゼXyn11Bの分泌を顕著に増大させることが明らかになった。

### 第五章 広葉樹由来バイオマスの酵素糖化の効率化

前章までの結果により、アンモニア処理広葉樹由来木質バイオマスにおいては、用いる酵素剤のキシラン分解を強化することが酵素糖化の効率化に重要であると考えられた。そこで、アンモニア処理シラカバ由来木質バイオマスの酵素糖化において、市販酵素剤 (CTec+HTec) に各種キシラン分解関連酵素を単一酵素として添加し、酵素剤のキシラン分解活性を強化したところ、糸状菌 *Neocallimastix patriciarum* 由来のGHファミリー11に属するキシラナーゼによって、キシロースとグルコースの収量が大きく改善されることが明らかとなった。このことから、アンモニア処理シラカバ由来木質バイオマスの酵素糖化の効率化のためには、キシラナーゼの選択とその強化が有効であることが示された。さらに、X/L比が低くアンモニア前処理が必ずしも有効でなかったポプラ由来木質バイオマスについては、アンモニア処理後にオゾン処理を施し、リグニンを部分酸化すると酵素糖化が効率化された。また、この場合も、キシラナーゼの強化によって、さらに酵素糖化の効率化が可能であることが示された。

## 第六章 総括

本研究では、アンモニア処理の広葉樹由来木質バイオマスの酵素糖化前処理としての適用性について検討を行い、アンモニア処理がX/L比の高いシラカバなどの広葉樹由来木質バイオマスの前処理として、有効に用いることができることを明らかにした。また、広葉樹由来木質バイオマスの酵素糖化においては、リグニンによる制約に加えて、キシランの存在状態も制約要因になることを明らかにした。これらの制約は草本バイオマスではアンモニアによる簡便な前処理によって解除することができるが、広葉樹由来木質バイオマスでは、制約解除の度合いに樹種差で大きな差があることを明らかにした。また、キシランによる制約については、アンモニア前処理とキシラナーゼの選択および強化がその解除のために有効であることを示した。さらに、広葉樹由来木質バイオマスの酵素糖化において、リグニンによる制約はオゾン処理によって軽減できることを示した。