

審査の結果の要旨

氏名 櫻木 潔

酵素糖化はリグノセルロース系バイオマスを有用物質に変換するプロセスにおいて重要な位置付けであるが、木質バイオマスではリグニンの存在が酵素糖化の大きな制約要因となるため、リグニンの除去を伴う前処理が酵素糖化の効率化に対して不可欠と考えられてきた。一方、草本バイオマスでは脱リグニンを伴わないアンモニアによる簡便な前処理が酵素糖化の効率化に極めて有効であることがすでに知られている。また、リグニンを固体として残すアンモニアによる前処理はリグニン利用までを含めたバイオマスの変換プロセスの構築にも利点があると考えられる。そこで、本研究では、広葉樹由来木質バイオマスへのアンモニア前処理の適用を目的に、広葉樹由来木質バイオマスにおける酵素糖化の制約要因を精査し、その制約解除に向けた検討を行った。

第一章では、まずリグノセルロース系バイオマスの主要成分とその構造について概説し、これらのバイオマスをバイオエタノールやバイオ化成品原料等の有用物質に変換するプロセスの中での酵素糖化の重要性ならびにその効率化のために必要な前処理法について説明した上で、本研究の位置付けと目的を提示した。

第二章では、6種の広葉樹由来木質バイオマスに対してアンモニア前処理が酵素糖化に与える影響を明らかにすることを試みた。ここでは、市販酵素剤（Cellic® CTec+HTec, Novozymes社製）を用いた酵素糖化実験の結果から、キシラン/リグニン含有比（以下、X/L比）の高いシラカバやヤナギ等由来木質バイオマスの酵素糖化においてはアンモニア前処理が有効に機能するが、一方、X/L比の低いアカシアやユーカリ等由来木質バイオマスの酵素糖化に対してはアンモニア前処理の効果は限定的であることを明らかにした。

第二章の結果により、X/L比の低い樹種ではリグニンの存在が酵素糖化の大きな制約要因となることが示されたが、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、さらに確認を行うこととした。そこで、第三章では、Wise法による脱リグニン処理により調製した各樹種由来ホロセルロースの酵素糖化特性について調べた。その結果、すべての樹種において脱リグニン処理は酵素糖化性を大幅に改善したが、一方、その効果の度合いについては樹種間で大きな差がみられ、脱リグニン後のホロセルロースにおいても酵素糖化の制約要因が未だに存在することが示された。さらに、酵素糖化について速度論的解析を行ったところ、すべての広葉樹由来ホロセルロース中のキシランには、セルロース分解を伴うことなく分解できる易分解性部分とセルロース分解を伴わないと分解できない難分解性部分の二相状態が存在することが明らかとなった。さらに、その量比については樹種間で大きな差が認められた。

第三章の結果により、セルロースに対するキシランの存在状態が酵素糖化の制約要因であることが示唆された。そこで、第四章では、キシラン分解の促進に必要な酵素を探索するために、木材腐朽担子菌 *Phanerochaete chrysosporium* がシラカバ由来アンモニア処理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分析を利用して網羅的に解析を行った。その結果、シラカバ由来アンモニア処理バイオマスを炭素源として同菌が生長する時、培養液のキシラナーゼ活性が著しく増大するとともに、GHファミリー11に属するキシラナーゼの分泌が特異的に増加することを明らかにした。

第四章の結果から、シラカバ由来アンモニア処理バイオマスの酵素糖化の効率化のためには、用いる酵素剤のキシラン分解活性を強化することが重要であるとの着想を得た。そこで、第五章では、市販酵素剤に対して各種キシラン分解関連酵素を添加して酵素糖化を行ったところ、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の添加によって、酵素糖化による単糖収率が80%程度まで向上できることを示した。また、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、アンモニア処理に先立ちオゾン処理を行うこととキシラナーゼの強化を組み合わせることで酵素糖化の効率化が可能であることを示した。

以上、論文申請者である櫻木潔は、シラカバのようにX/L比の高い広葉樹由来木質バイオマスについてはアンモニア前処理が酵素糖化の効率化に有効であり、またキシラナーゼの選択と強化によって酵素剤を適正化することで高い単糖収率が達成できることを明らかにした。さらに、広葉樹由来木質バイオマスでは、リグニンによる制約に加えて、セルロースに対するキシランの存在状態も酵素糖化の制約要因になること、また制約の度合いには樹種間で大きな差が認められることを示した。これらの研究成果は、木質バイオマス利活用の分野において、学術上、応用上、ともに貢献するところが少なくないと判断でき、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。