

## 学 位 論 文 要 旨

褐色腐朽菌におけるヘミセルロース分解酵素の酵素学的特徴  
および褐色腐朽材の形態学的特徴に関する研究

Study on the Enzymatic Characteristics of Hemicellulose-Degrading Enzymes in  
Brown-Rot Fungi and Morphological Characteristics of Brown-Rotted Wood

環境資源共生科学専攻 森林資源物質科学大講座  
築田 理華子

我が国の戸建て住宅の9割以上は木造建築であり、また、近年では中大規模木造建築物の導入推進などの動きを伴い、建築分野における木材利用は益々重要性を増している。その一方で、木造建築を長期間にわたり安全に利用するためには、生物劣化への対策が極めて重要な課題である。木材腐朽菌の一種である褐色腐朽菌は、構造部材として主に使用される針葉樹を腐朽し、腐朽の初期段階で木材の強度を急激に低下させるため、最も注意すべき木材腐朽菌であると思われている。したがって、褐色腐朽を早期に発見し、対策を講じる必要があるが、褐色腐朽菌の木材分解機構については未だ明らかでない点も多く、その腐朽メカニズムの詳細な理解が求められている。褐色腐朽菌はリグニン分解酵素や結晶性セルロース分解酵素を遺伝子レベルで欠損または大幅に減少しており、この不完全な酵素分解系に加えて非酵素的な分解系も関与していると考えられている。褐色腐朽初期に生じる急激な強度低下は、この非酵素的分解によるセルロースの急激な重合度低下に起因すると一般に考えられているが、一方で、褐色腐朽初期にはセルロースの重合度低下以外にもさまざまな変化が生じることから、これらの複数の変化が相互に関連して強度低下を引き起こしていると考えられる。本研究では褐色腐朽初期の特徴の一つであるヘミセルロースの優先的な分解と木材細胞壁の形態学的変化に焦点を当て、それぞれ酵素学的手法と形態学的手法による調査を実施し、褐色腐朽初期のメカニズムに関する新たな洞察を得ることを目的とした。

褐色腐朽菌は保有する木材分解酵素の遺伝子数が他の木材腐朽菌と比較して少ないが、ヘミセルロース分解酵素遺伝子については保存されており、この事

実はヘミセルロース分解系において酵素分解が重要であることを示唆する。そこで、第二章と第三章では褐色腐朽菌のモデル菌の一種である *Gloeophyllum trabeum* を対象として、主要なヘミセルロースの一つであるキシラン分解における主要な酵素であるキシラナーゼとアラビノフラノシダーゼの酵素学的な調査を実施した。第二章では、*G. trabeum* が有する 3 つの糖質加水分解酵素ファミリー 10 (GH10) に属するキシラナーゼ (*Gt46499*, *Gt138785*, *Gt140289*) について酵素解析を行なった。その結果、カバ由来の単離キシランに対しては、*Gt46499* と *Gt138785* が *Gt140289* よりも高い活性を示した一方で、脱リグニンされたカバ木粉を最も効率的に分解したのは *Gt140289* であったことから、これらがそれぞれ異なるキシラン分解活性を有することが示された。また、3 つの酵素の相乗作用を調査した結果、*Gt140289* と *Gt138785* の組み合わせにおいてのみ相乗効果が認められ、*Gt138785* は *Gt140289* から切り出されたキシランに対して作用することが示唆された。一方、*Gt140289* と *Gt46499* はそれぞれ単独で木材細胞壁中のキシランを分解することが示唆された。第三章では糖質加水分解酵素ファミリー 10 (GH51) に分類される *GtAbf51A* について機能解析を行った。その結果、*GtAbf51A* は多糖基質に対する分解は限定的であったが、GH10 キシラナーゼの分解産物であるアラビノキシロオリゴ糖に活性を示したことから、*GtAbf51A* はキシラナーゼなどによって切り出されたアラビノキシロオリゴ糖に作用して、針葉樹キシランの分解に関与することが示唆された。

褐色腐朽菌における木材細胞壁の分解については、仮道管を中心とした形態学的な調査が行われてきており、菌糸から離れた S<sub>2</sub> 層で分解が開始されることが明らかとなっている。第四章では仮道管に加えて、腐朽初期に菌糸が蔓延するとされている放射柔細胞についても形態学的な調査を行った。その結果、放射柔細胞を形成する末端壁と水平壁とでは分解に差があり、末端壁が優先的に分解され、隣接する放射柔細胞への菌糸伸長が速やかであることが示唆された。また、末端壁に存在する原形質連絡には粒子が観察され、これは細胞間層にかけて続いて存在したこと、菌糸から離れた細胞間層が部分的に分解されたことが観察されたことから、仮道管細胞壁と同様に放射柔細胞の細胞壁でも低分子化合物がその分解に関与している可能性が考えられた。一方、仮道管における形態変化については、従来の褐色腐朽菌の特徴である S<sub>2</sub> 層からの分解は確認されず、代わりにクラックや S<sub>1</sub> 層と S<sub>2</sub> 層の間での剥離が観察された。この S<sub>1</sub> 層と S<sub>2</sub> 層間の形態変化は、以前の調査でも報告されており、他の層と比較して変化を受けやすい領域である可能性が示された。

第五章では、第二章から第四章までの研究で得られた知見を踏まえ、褐色腐朽初期における分解機構について考察した。第四章で観察されたクラックや剥離といった形態変化は、木材組織構造の健全性を大きく損なう可能性がある腐朽痕であり、そのような形態学的な変化によって木材強度が急激に低下することが示唆された。さらに S<sub>1</sub> 層と S<sub>2</sub> 層の間での剥離といった形態変化がヘミセルロース成分の分解によって生じる可能性についても議論した。本研究結果は、褐色腐朽初期の木材分解メカニズムに新たな洞察を提供する。