

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | リグニンの生合成に関する研究 I コニフェリルアルコールの酸化に関するラッカーゼの触媒活性についての反証  |
| Author(s)    | 中村, 亘   |
| Citation     | 大阪大学, 1966, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/28867">https://hdl.handle.net/11094/28867</a>   |
| rights       |   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 10 】

|         |  |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 中 <small>なか</small> 村 <small>むら</small> 亘 <small>わたる</small> |
| 学位の種類   | 理 学 博 士  |
| 学位記番号   | 第 8 6 5 号  |
| 学位授与の日付 | 昭 和 41 年 3 月 28 日  |
| 学位授与の要件 | 理学研究科生物化学専攻<br>学位規則第 5 条第 1 項該当                              |
| 学位論文題目  | リゲニンの生合成に関する研究<br>【 コニフェリルアルコールの酸化に関するラッカーゼの<br>触媒活性についての反証  |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 奥貫 一男<br>(副査)<br>教授 佐藤 了 教授 二国 二郎 教授 萩原 文二        |

論 文 内 容 の 要 旨

植物組織においてセルロースとともに主要な構成成分をなしているリゲニンが、どのような代謝過程を経て生合成されてくるかということについては数多くのすぐれた研究がすでに報告されている。そして、光合成によって生成したグルコースがシキミ酸を経てフェニルプロパン体となり最終的にリゲニンにまで変化するということがほぼ明らかになっている。しかしながら、リゲニン生合成の一連の過程に含まれる多くの素反応がそれぞれどのような酵素によって触媒されるかということについては知見にとぼしい現状である。とはいえ、最後の生合成ステップであるフェニルプロパン体からリゲニンへの変化の過程を触媒する酵素については、古くからかなり研究がなされており、二つの異なった見解が出されている。

Freudenberg 等はマッシュルームのポリフェノールオキシダーゼやウルシのラッカーゼがコニフェリルアルコールのリゲニンへの変化を触媒するという実験事実にもとづいて、リゲニンの生合成に関与する酵素はラッカーゼであると主張した。一方 Siegel や樋口等は、過酸化水素の存在下でコニフェリルアルコールがペルオキシダーゼによって酸化されることを示し、リゲニンの生合成に関与しているのはペルオキシダーゼであろうと推察した。

実際、ラッカーゼ型の酵素の役割——特にウルシのラッカーゼの役割については、リゲニンが高等植物一般に広く分布しているのに反して、ラッカーゼの分布がごくかぎられていることから考えて疑問に思われる。

一般的にいえばラッカーゼやペルオキシダーゼは共に基質特異性が低く、数多くのフェノール性の物質を酸化することが知られているので、酵素活性を測定することからだけでは、リゲニン生合成に関与する酵素の本性を簡単に論ずることはできないが、これまでのリゲニン生合成の酵素化学的研究においては、酵素標品としては粗抽出液ないしは未精製の標品が用いられていたため、少な

くとも精製酵素標品を用いてはっきりした知見を得ることが必要と考えた。

そこでウルシのアセトン粉末からラッカーゼの精製を試み、精製ラッカーゼ標品がコニフェリルアルコール酸化活性を持っているかどうかを再検討された。その結果、これまでいわれていたように、抽出液や粗酵素標品ではコニフェリルアルコール酸化活性が認められるにもかかわらず、精製ラッカーゼでは検出されないことを見出したので、抽出液の酵素活性の検討とラッカーゼの精製方法の改良を試み、新たに次のような知見を得た。すなわち、ウルシのアセトン粉末は、すでに古く薬師寺によって報告されている如く、ラッカーゼの他にペルオキシダーゼを含んでいるが、その他にも一種フェノラーゼを少量含んでいることが分った。

過酸化水素がないときに粗酵素標品が示すコニフェリルアルコール酸化活性がラッカーゼに由来するものではなくてフェノラーゼ作用によるものであることが判明した。

精製ラッカーゼは、純度、吸収スペクトル、酵素活性などの点から見て、これまでに得られている最純の標品に匹敵するものであり、この実験から得られた標品が、部分的な失活を受けたために、コニフェリルアルコール酸化活性を失ったとは考えられない。この標品は *p*-cresol のようなモノフェノールに対してだけでなく、guaiacol や coniferyl alcohol のようなグアヤシル化合物に対しても活性を持っていない。

フェノラーゼは、ジャガイモのチロジナーゼと異なり、グアヤシル化合物の酸化を触媒することができ、一酸化炭素で影響を受けないが、無色の標品であり明らかにラッカーゼとは異なっている。

またペルオキシダーゼは、実際に含まれている量は非常に少なく、過酸化水素共存下でのみ、活性を有しているが、フェノラーゼの活性に比べて非常に高い活性を示すことから考えてリグニンの生合成に関与している可能性が十分に考えられた。

## 論文の審査結果の要旨

中村君の論文は、リグニンの生合成に関する酵素化学的研究、を内容としたものである。木材の約50%を占めるリグニンはコニフェリル、シナピールおよびパラークマリルアルコールの重合物であるが、裸子、双子葉および単子葉植物によって組成が等しくないとはいえ、それらアルコールが脱水素重合をおこなってリグニンになると信じられている。この重合反応のきっかけとなる反応を触媒する酵素としてラッカーゼ、ペルオキシダーゼあるいはポリフェノールオキシダーゼがあげられているが、中村君はペルオキシダーゼであると結論できるいろいろな証拠をあげた。

中村君は先人の用いたラッカーゼがコニフェリルアルコールを酸化する事実を認めたが、それはラッカーゼの粗酵素標品にあてはまることであって、純ラッカーゼ標品については否定的結果を得た。すなわち、粗酵素標品を純化操作中に分離される少量のポリフェノールオキシダーゼと微量のペルオキシダーゼがコニフェリルアルコールの好氣的酸化を触媒するのであって、均一性の証明されたラッカーゼ標品によっては全く酸化されないことを証明したのである。つぎに、ポリフェノールオキシダ

ーゼとペルオキシダーゼのいずれがリグニン形成に主役を演ずるものであるかを決定するために、リグニン形成の旺盛なタケノコを材料にして、そこにポリフェノールオキシダーゼが検出されず、ペルオキシダーゼが多いことを明らかにした一方、抽出精製したタケノコの高純度ペルオキシダーゼの属性を検討し、細胞内条件に近い実験条件下で微量のコニフェリルアルコールを容易に脱水素重合することを証明した。したがって、リグニン形成にはたらく酵素としては植物界に広く分布しているペルオキシダーゼこそ、その主役であると結論できたのである。

要するに中村君の論文は、参考論文に明らかのように、植物のペルオキシダーゼの酵素化学的研究を発展させて、古くから論議の多かったリグニン形成に関する酵素の問題に明確な証拠をあげたものであるから、植物生理学に大きな貢献をなしたものである。したがって、同君の論文を理学博士の学位論文として十分価値あものと認める。