

第1回（2021年度）リグニン学会賞

渡辺 隆司（京都大学生存圏研究所）

「リグニンと多糖とのネットワーク解析及びその解体による機能性物質への変換」

The Lignin Society Prize for 2021

Takashi WATANABE

Research Institute for Sustainable Humanosphere, Kyoto University

Studies on lignin-polysaccharide network: Analysis and conversion into functional substances by disintegration

1982年3月京都大学農学部林学工学科卒業, 1984年3月京都大学大学院農学研究科林学工学専攻修士課程修了, 1984年4月山陽国策パルプ(現 日本製紙)総合研究所, 1987年8月京都大学木材研究所助手, 1993年12月京都大学木質科学研究所助教授, 2002年6月同教授, 2004年4月京都大学生存圏研究所教授, この間、1996年3月～1997年1月ウィーン工科大学生物化学工学・微生物学研究科客員研究員, 2016年4月～2020年3月京都大学生存圏研究所長, 2016年10月～2020年9月京都大学副理事, 2020年10月～京都大学研究連携基盤長



研究の概要

木材細胞壁中のリグニン・糖結合体（LCC）の新規分離法や頻度の少ないリグニン・糖間結合（LC結合）を濃縮する手法を独自に開発するとともに、リグニン骨格に特異的なベンジルエーテルやエステル切断法をLC結合の選択分解に初めて応用し、リグニン、糖残基双方の結合位置を明らかにした。開発したグルコマンナン・リグニン結合体の単離法とLC結合の濃縮法を利用し、遠隔相関NMR法を用いて、 α エーテル型LC結合の存在を証明した。また、マイクロ波リグニン分解反応を応用し、機能性高分子原料や抗ウイルス剤、新規バイオエタノール生産プロセスなどを多数開発した。また、白色腐朽菌の選択的リグニン分解等利用したバイオ燃料等の生産法を報告するとともに、水酸化ラジカル（ $\cdot\text{OH}$ ）の生成を強力に抑制する新規代謝物を見出した。

1. リグニン・多糖間の結合点濃縮法の開発と構造解析

植物細胞壁中でヘミセルロースはリグニンと共有結合で結合し、LCCを形成する。リグニン・多糖間結合は、1866年のErdmannの報告以降、結合の存在が示唆されてきたが、明確な証拠が無かった。リグニン・多糖間結合の解析には、結合点の濃縮が大きな鍵となる。例えば、分子量1万のリグニンと分子量1万の多糖が1か所につながるとLCCを形成するが、その結合点解析には、分子量2万の複合高分子中のわずか1か所の結合を同定することが必要となる。そこで、LC結合濃縮のため、グルコマンナンにリグニンがペンダント状に結合する中性LCCの簡便な調製法と¹、LCCの酵素分解物からポリビニルゲルを用いるLCCフラグメントの分離・濃縮法を開発した²。この濃縮法を用い、リグニン骨格に特異的な α エーテル結合切断法であるDDQ酸化と中性メチル化を用いて、グルコマンナンがヘキソースの6位でリグニンの α 位に優位に結合すること等を示した²。これは、リグニン骨格に特異性のある反応によるリグニンと糖残基双方の結合点を解析した最初の報告である。また、人工LCCを同じ手法で分析し、結合点を明らかにした。さらに、DDQ酸化をリグニン・グルクロノキシラン間エステル結合の証明と定量に発展させた^{3,4}。

開発したリグニン・グルコマンナン結合体分離法と LCC フラグメント濃縮法を、遠隔相関 NMR と組み合わせ、グルコマンナンのマンノース 6 位とリグニン α 位のエーテル結合を西村博士、片平教授らと証明した⁵。LCC 研究を総括した最初の英文書籍を、恩師の越島教授と出版した⁶。

2. リグニンの低分子化触媒反応の開発と機能性分子への変換

スギ材から、バニリンとバニリン酸をリグニン重量当たり 30%の合計収率で生成するマイクロ波分解法を開発し⁷、マイクロ波効果を精密解析した。リグニンのアシドリシスで生成するエノールエーテルをメタノールでアセタール化により安定化して選択分解するマイクロ波ソルボリシス法を開発し⁸、高機能エポキシ樹脂原料を合成した。サトウキビバガス⁹やブナ材のマイクロ波反応により、高い抗ウイルス活性をもつが細胞毒性が極めて低いリグニンや LCC を生産した。

3. リグニンと多糖間ネットワークの化学的及び生物的解体と応用

リグニン分解の分子ツールとなるリグニン結合性ペプチドを初めて見出すとともに¹⁰、リグニンとセルラーゼ CBM 間の結合を分子レベルで包括的に精密解析した¹¹。糖化残滓リグニンを発酵阻害物質の吸着体とするバイオエタノール生産プロセスを開発した¹²。マイクロ波反応や選択的白色腐朽菌前処理によりバイオエタノールやメタン、反芻家畜飼料を生産するとともに、選択的白色腐朽菌の脂質過酸化のラジカル連鎖反応機構を明らかにした。また、 Fe^{3+} の還元阻害により $\cdot\text{OH}$ の生成を抑制してセルロースの損傷を防ぐ新規鍵代謝物 ceriporic acid を見出した。¹³

- 1) Watanabe, T., Azuma, J., Koshijima, T., A Convenient method for preparing lignin-carbohydrate complex from *Pinus densiflora* wood, *Mokuzai Gakkaishi*, **33**, 10, 798-803 (1987).
- 2) Watanabe, T., Ohnishi, J., Yamasaki, Y., Kaizu, S., T Koshijima, T., Binding-site analysis of the ether linkages between lignin and hemicelluloses in lignin carbohydrate complexes by DDQ-oxidation, *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2233-2252 (1989).
- 3) Watanabe, T., Koshijima, T., Evidence for an ester linkage between lignin and glucuronic-acid in lignin carbohydrate complexes by DDQ-oxidation, *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2953-2955 (1988).
- 4) Imamura, T., Watanabe, T., Kuwahara, M., Koshijima, T., Ester linkages between lignin and glucuronic-acid in lignin-carbohydrate complexes from *Fagus crenata*, *Phytochemistry*, **37**, 1165-1173 (1994).
- 5) Nishimura, H., Kamiya, A., Nagata, T., Katahira, M., Watanabe, T., Direct evidence for α ether linkage between lignin and carbohydrates in wood cell walls, *Scientific Reports*, **8**, 6538 (2018).
- 6) Koshijima, T. and T. Watanabe, Association between lignin and carbohydrates in wood and other plant tissues, Springer Series in Wood Science, eds. by T. Koshijima and T. Watanabe, Springer Verlag, Berlin, pp.1-329 (2003).
- 7) Qu, C., Kaneko, M., Kashimura, K., Tanaka, K., Ozawa, S., Watanabe, T., Direct production of vanillin from wood particles by copper oxide-peroxide reaction promoted by electric and magnetic fields of microwaves. *ACS Sustain. Chem. & Eng.*, **5**, 11551-11557 (2017).
- 8) Kaiho A., Kogo, M., Sakai, R., Saito, K., Watanabe, T., *In situ* trapping of enol intermediates with alcohol during acid-catalysed de-polymerisation of lignin in a nonpolar solvent, *Green Chemistry*, **17**, 2780-2783 (2015).
- 9) Kimura, C., Li, R., Ouda, R., Nishimura, H., Fujita, T., Watanabe, T., Production of antiviral substance from sugarcane bagasse by chemical alteration of its native lignin structure through microwave solvolysis, *ChemSusChem*, **13**, 17, 4519-4527 (2020).
- 10) Yamaguchi, A., Isozaki, K., Nakamura, M., Takaya, H., Watanabe, T., Discovery of 12-mer peptides that bind to wood lignin, *Scientific Reports*, **6**, (2016).
- 11) Tokunaga, Y., Nagata, T., Kondo, K., Katahira, M., Watanabe, T., NMR Elucidation of nonproductive binding sites of lignin models with carbohydrate-binding module of cellobiohydrolase I, *Biotechnology for Biofuels*, **13**, 164 (2020).
- 12) Yoshioka, K., Daidai, M., Matsumoto, Y., Mizuno, R., Katsura, Y., Hakogi, T., Yanase, H., Watanabe, T., Self-sufficient bioethanol production system using a lignin-derived adsorbent of fermentation inhibitors, *ACS Sustain. Chem. & Eng.*, **6**, 3070-3078 (2018).
- 13) Watanabe, T., Teranishi, H., Honda, Y., Kuwahara, M., A selective lignin-degrading fungus, *Ceriporiopsis subvermispota* produces alkylitaconates that inhibit the production of a cellulolytic active oxygen species, hydroxyl radical in the presence of iron and H_2O_2 , *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **297**, 918-923 (2002).