

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 新村 博

本論文は天然セルロースの基本単位であるマイクロフィブリルの観察を原子間力顕微鏡によって精密化し、とくに高等植物の柔組織に含まれる超微細なセルロースについて広範な研究を行った結果をまとめたものである。

第 I 章 「序論」では本研究の背景を次のように整理した。

セルロースはバイオマスの圧倒的多量を占める高等植物細胞壁の繊維要素であり、再生可能な有機高分子資源として近年あらためて注目されている。天然セルロースの基本構造は「マイクロフィブリル」と呼ばれる結晶性微細繊維であるが、その大きさ（幅）は古くから論争的になってきた。マイクロフィブリルの断面形状は生物種により多様であり、それは細胞膜上に存在するセルロース合成酵素複合体（terminal complex）内の酵素の数と配列で決定されているという描像が 1980 年代から確立された。そして最重要の植物資源である高等植物については、「ロゼット」と呼ばれる酵素複合体で合成される 3.5 nm 幅の「elementary fibril」が基本単位であるという仮説がこれまで受け入れられてきた。

しかし高等植物のセルロースの形態は組織によって多様であり、3.5 nm よりも細かいフィブリルが存在するという報告が 1980 年代から諸所で行われてきた。しかしそれらは解像度の不十分な電子顕微鏡観察、あるいは X 線回折および ¹³C 固体 NMR という間接的な技法によるものであり、マイクロフィブリルの直接観察による証明はなされていなかった。本研究は近年発達した原子間力顕微鏡（AFM）の機能を活用して、高等植物の柔組織から得られるセルロースフィブリルの幅を直説観察により決定する。

第 II 章 「果実柔組織等のセルロース」では様々な果実の果肉から弱アルカリ不溶性の多糖を抽出し、それらを AFM で観察した。一般に植物体から純粋なセルロースを単離するには、亜塩素酸による脱リグニン処理の後、20%程度の苛性アルカリでヘミセルロースを溶解除去する（ α セルロースの調製）。しかしこの処理ではセルロースが結晶膨潤して天然のマイクロフィブリル形態が失われる。NaOH の濃度を 2%~14% まで変えて試験した結果、果実等に含まれる細いセルロースは 6%程度からすでに結晶変態とフィブリルの崩壊を起こすことが分かった。そこで本研究では 4%NaOH 処理と 1~2% 亜塩素酸ナトリウム処理を交互に数回繰り返して得られる固形分を「弱アルカリ抵抗性多糖」（Weak-alkali resistant polysaccharide, WARP）と呼ぶことにした。その化学処理の性格から、WARP の主成分は未変態の天然セルロースであり、少量成分としてヘミセルロースが含まれると考えられたが、そのことは中性糖分析で裏付けられた。

WARP を観察する手法として、原子レベルで平滑な表面を与える壁間雲母板の上に、微細フィブリルの懸濁液を展開する方法を用いた。このような試料に AFM の高さ計測機能を

適用することにより、AFM チップの有限曲率に起因する解像度限界を克服し、真のマイクロフィブリル幅を決定することが可能になった。これを様々な食用果実の果肉、葉肉、芽、花卉などの柔組織に適用した結果、従来説の 3.5 nm よりも格段に細い 1.0 nm から 2.5 nm 幅のフィブリルが普遍的に存在することが分かった。その形には ①まっすぐで長いフィブリル、②湾曲した短いフィブリル、③②が連結した網状のもの、④短いかぎ針状フィブリルがあり、それらが混在する場合も多かった。

第 III 章「樹木形成層のセルロース」では樹木形成層のセルロースを取り上げた。目的は、木材細胞の外壁に微量に存在する一次壁のセルロースがどのような形態を有するのかを明らかにし、かつその形成過程についての手掛かりを得ることである。5月から9月の樹木の活動期には樹皮の裏側の形成層が細胞分裂と細胞壁形成を行うが、その時期の形成層は多量の水を含んで脆弱であり、容易に剥離採取できるが、この物質は一次壁成分のみを含んでいると考えられる。東京大学秩父演習林のウダイカンバ樹の形成層を様々な時期に採取し、WARP を調製して第 II 章と同様に AFM で観察した。その結果、活動初期の 5 月末には短い湾曲フィブリル（幅 1.0 nm 程度）ばかりが見られたが、7月、8月にはこれに長い真直ぐなフィブリルが混入し、その割合が増えるという特徴的な所見が得られた。したがってこれらの短フィブリルは細胞膜上の酵素複合体から合成され始めたばかりの「始原セルロース」である可能性がある。しかしこれは単年度のみの観察であり、追試による検証が必要である。

第 IV 章「農林業廃棄物からのナノファイバーの調製」では、柔組織には細い分散性のフィブリルが普遍的に存在するという第 II 章の結果に基づき、セルロースナノファイバーの実用的原料になりうる植物組織を探索した。大量に発生する未利用材料として ①スギ針葉、②ミドリハナヤサイ（ブロッコリ）茎髄、③カカオポッド、④ナツミカン中果皮 を検討した。その結果、組織が軟らかくて化学処理が容易であり、かつ高分散性のナノファイバーが得られるナツミカン中果皮が最も有望であると結論した。

第 V 章 は総括である。

以上を総合して、本論文は木質化していない植物柔組織および樹木の形成層には従来の定説よりも細い 2 nm 程度以下のセルロースフィブリル、場合によってはわずか数本の分子からなる極細繊維が含まれることを明らかにした。この知見はセルロースの合成機構すなわち酵素複合体の構成について従来の説を覆すものである。同時にこのような知見は、天然セルロースのナノ材料資源としての可能性を拓くものである。したがって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。