

Title	細菌によるバイオサーファクタント生産と石油代謝に関する研究
Author(s)	森川, 正章
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3098886">https://doi.org/10.11501/3098886</a>
DOI	10.11501/3098886
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏 名	森 川 正 章
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 工 学 )
学 位 記 番 号	第 1 1 5 8 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 1 0 月 3 1 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	細菌によるバイオサーファクタント生産と石油代謝に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 今 中 忠 行  教 授 大 嶋 泰 治    教 授 山 田 靖 宙    教 授 菅 健 一 教 授 新 名 惇 彦    教 授 卜 部 格    教 授 塩 谷 捨 明 教 授 吉 田 敏 臣    教 授 二 井 将 光

## 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、油田土壌から分離した細菌が生産する強力なバイオサーファクタント (BS) の構造決定、構造活性相関と関連遺伝子のクローニング及び細菌の嫌気条件下における石油分解と生成に関して検討したものである。

序論では、本研究の目的と意義およびその背景について述べるとともに、本研究の概略を示している。

第1章では、新たに考案したBS生産菌の効率良いスクリーニング系を用いて油田土壌から強力なBS生産菌が3株分離されている。これらが生産するBSを精製した後、その化学構造を決定している。その結果、*Arthrobacter* sp. MIS38が生産するBSは新規物質であったためこれをアルスロファクチンと命名している。

第2章においては、BSに関する微量活性測定法を提案し、従来法と併用することにより1章で得られたアルスロファクチンがこれまで報告されたりポペプチド型BSとしては最高の活性を有することを示している。次に活性の高いBSに共通して存在する2つの酸性アミノ酸残基は活性を高く維持したまま分子の水溶性を高めるために重要であることを化学修飾法により明らかにしている。一方、ラクトン環構造はリポペプチド型BSの高界面活性発現に重要であることも明らかにしている。

第3章では、BS生産菌の形質転換系を構築した上でBS生産に関わる遺伝子の解析を行っている。先ずサーファクチン生産に必須の制御遺伝子として *psf-1* 及び *comP'-comA'* をクローニングし、その塩基配列の解析結果からサーファクチン生産制御系について考察している。

第4章では、細菌の嫌気条件下における石油分解能力を示している。先ず油田土壌から新規細菌 *Pseudomonas anaerooleophila* HD-1を分離し、嫌気条件下で培養することにより脂肪族および芳香族炭素水素を資化することを示している。

第5章では、典型的な飽和脂肪族炭化水素であるテトラデカンの嫌氣的代謝中間体として不飽和炭化水素1-ドデセンが同定されている。一方、CO<sub>2</sub>を単一炭素源(H<sub>2</sub>存在下)として生育したHD-1株細胞から疎水性画分を抽出し、その構造解析を行い石油成分である脂肪族炭化水素(テトラデカン、ヘキサデカン、エイコサジエンなど)が含まれていることを確認している。すなわち、石油分解菌HD-1株は石油を生成する能力も有していることを発見している。

総括では、BS に関して得られた新たな知見をまとめるとともに、新たに分離した石油分解菌 HD-1 株の代謝経路について詳しく考察している。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、油田土壌に生育する細菌の石油代謝機構について調べる目的で、静岡県の油田土壌から幾つかの石油分解細菌を分離してそれぞれの特徴を検討したものである。また強力な新規バイオサーファクタント (BS) を発見すると共に、石油の嫌気条件下における生物分解および生成を証明している。これらの成果を要約すると以下ようになる。

- (1) 石油分解能力に優れた細菌を選別する目的で、新しいスクリーニング系を考案している。また分離した3種の細菌が生産する BS について化学構造を解析している。特に MIS38株由来の BS は新規物質 (アルスロファクチン) であり、化学構造を決定することに成功している。しかもその活性はこれまで報告された中では最も高いものである。化学修飾法により構造-活性相関を検討した結果から、その環状構造が高い活性発現に必要であり、分子内に存在する2つの酸性アミノ酸残基は高い水溶性に重要であるという結論を得ている。
- (2) 新たに分離した *Arthrobacter* 属 MIS38 株 (アルスロファクチン生産菌) に対してその近縁属が保持するプラスミドを応用することにより新規宿主-ベクター系の構築に成功している。一方、サーファクチン生産菌 (A-1 株, B-1 株) は既に宿主-ベクター系の確立している *Bacillus* 属細菌の一種であったため、これを利用してサーファクチン生産に関与する遺伝子を3種類クローニングし、その塩基配列の特徴からそれぞれの機能について考察している。
- (3) 従来、嫌気 (無酸素) 条件下で石油成分 (炭化水素) を生物的に分解することは極めて困難であると言われていたが、本論文では、嫌気条件下で脂肪族および芳香族炭化水素の両方を分解する細菌 (HD-1 株) を新たに分離している。また、その代謝中間体の取得および構造決定を通して嫌氣的分解経路が実在することを証明し、その存在意義について考察している。
- (4) CO<sub>2</sub> を単一炭素源として生育した HD-1 株の細胞組成を分析した結果、テトラデカン、ヘキサデカン、エイコサジエンなど脂肪族炭化水素類 (石油成分) を検出している。この結果から HD-1 株が CO<sub>2</sub> から炭化水素への炭素物質循環系を担っていることについて議論している。

以上のように、本論文は新規バイオサーファクタントの構造決定、構造-活性相関、生産菌の遺伝子工学的解析、さらに嫌気条件下での炭化水素分解菌の取得と代謝経路 (分解と生成) の検討にいたるまで広範囲かつ意義深い結果を得ており、醗酵工学の発展に寄与するところが大きい。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。