



Title	Production of a Novel Antibiotic, "Scytonemin X", by Immobilized Cyanobacterial Cells in a Seaweed-Type Photobioreactor
Author(s)	Aparat, Chetsamon
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38764">https://hdl.handle.net/11094/38764</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	アパラット チェスモン <b>Aparat Chetsumon</b>
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 11334 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用薬学専攻
学位論文名	<b>Production of a Novel Antibiotic, "Scytonemin X", by Immobilized Cyanobacterial Cells in a Seaweed-Type Photobioreactor</b> (固定化藍藻の海藻型フォトバイオリアクターにおける 新規抗生物質 "scytonemin X" の生産)
論文審査委員	(主査) 教授 三浦 喜温 (副査) 教授 北川 勲 教授 宮本 和久 教授 西原 力

### 論文内容の要旨

藍藻類に属する一群の微生物は様々な生物活性、即ち抗菌、抗カビ、抗ウイルス、抗藻などといった機能を有する細胞内外代謝産物を产生することが知られている。このような藍藻から得られた生理活性物質は、*Streptomyces tubercidicus* および *Tolypothrix byssoides*において产生されることが既に報告されている *Tubercidin* を除いて、その他のほとんどの場合は新規な物質であることが知られている。したがって藍藻は抗生物質を产生できる新しい生物種として次世代において大きく期待されている。藍藻は光をエネルギー源、炭酸ガスを唯一の炭素源として完全無機的栄養条件下で増殖が可能である。完全無機的条件下での物質生産系の確立を目的とし、本研究において新規で強力な抗生物質を产生する藍藻をスクリーニングし、抗生物質の構造決定、抗生物質产生のための培養条件の最適化、及び連続生産のためのフォトバイオリアクターモデルの開発を行った。

窒素固定能を有する5属、9種類の藍藻を用い枯草菌、大腸菌、緑膿菌を検定菌として抗菌活性を調べた。その結果4属、6株の藍藻が抗生物質の產生能を有することがわかった。6株の中で *Scytonema* sp. TISTR 8208 は最も幅広い抗菌スペクトルを持つ抗生物質を产生し、様々な細菌、病原酵母、皮膚糸状菌に対し増殖抑制作用を有することが分かった。*Scytonema* sp. TISTR 8208 は光独立栄養的に増殖する糸状性の藍藻であり、かつ細胞外に抗生物質を产生する。したがってフォトバイオリアクターモデルの研究にも適していると思われる。

抗生物質は通常微量しか产生されず、また二次代謝産物として類似の構造を有する一連の化合物が存在する。したがって目的とする抗生物質を効率よく大量に得るために培地の最適化を検討した。大型試験官（内径4.3cm、長さ30cm）内にシート状のポリウレタンフォーム（13 pores/inch）を入れ、藍藻 *Scytonema* sp. TISTR 8208 を固定化し種々の条件で培養を行った。基本培地として藍藻の培養に最もよく用いられている BGA 培地を用い、培地成分の最適化を行い、最適培地（MBGA）の組成を決定した。*Scytonema* sp. TISTR 8208 は最適条件において増殖は基本培地と同等であったが、硝酸塩の添加、硫酸鉄の補充、NaCl の除去、pH シフト等の改善により約20倍の抗生物質を产生することが可能となった。抗生物質の構造決定のための大量培養、フォトバイオリアクターによる連続培養においてこの最適条件を適用した。

本抗生物質およびその脱アセチルアラニル化体の<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, HMQC, HOHAHA, HMBC, NOESY 等の2次元NMRの詳細な解析を行なった結果、本抗生物質がアラニン(D, L一体)(Ala), グリシン2当量(Gly), ホモセリン(Hse), ヒドロキシロイシン(HyLeu), D-ロイシン(Leu), 3-メチルプロリン(Mepro), 4-ヒドロキ

シ-3-メチルプロリン2当量(HyMePro), D-フェニルアラニン(Phe), および新規アミノ酸3-アミノ-2, 5, 9, 11-テトラヒドロキシ-12-フェニルドデカ酸(Ahpda)を構成アミノ酸とする分子量1490の新規環状ペプチドであることがわかり、その平面構造を決定した。本抗生物質は、1988年, Mooe等により同じく陸生ラン藻 *Scytonema* sp. の培養藻体より発見されたカルシウム拮抗作用を有するペプチド scytonemin Aに近似することから, scytonemin Xと命名した。

連続的な培養への応用を考える際、まず大型バイオリアクターにおける scytonemin X の最適産生条件を調べる必要がある。そのため浮遊培養及び固定化培養において物理的条件、すなわち最適な二酸化炭素濃度、光濃度、ガス流速及び培養容器内の植込み細胞数を検討した。細胞の固定化にはポリウレタンフォーム (PU; 13 pores/inch) をバイオマス支持体 (BSM) として用い、二種類の違った形態で培養を行なった。一つは1辺1cmの立方体のポリウレタンフォームブロック (Free-floating PU-blocks) であり、もう一つは直方体 (1×1×40cm) のアンカー型ポリウレタンフォームストリップス (Anchored PU-strips) である。浮遊培養を含めた3種類のバイオリアクター実験において最適化を行い細胞増殖及び scytonemin X の産生能を検討した結果、アンカー型 PU-strips に固定したものが細胞の増殖や抗生物質の産生に最も適していることがわかった。16日間の培養後の藻体の保持率は97%であり細胞の脱落はほとんど起こらないことが示された。ポリウレタンフォームブロックの場合は26%の細胞が脱落した。藍藻を固定したアンカー型 PU ストリップスは一見海藻のような形をしているところから「海藻型バイオリアクター (STB)」と名付けた。海藻型バイオリアクターにおいて、連続的な scytonemin X の産生を試みたところ定常状態における scytonemin X の産生速度は0.08–0.09 mg/l medium/h であり、15日間にわたって安定にこの産生速度が保たれた。

このように海藻型バイオリアクターにより光エネルギーを用い完全無機的栄養条件下で有用物質が安定に連続生産できることが示された。培地はすべて無機化合物から成っており、従来の糖蜜を用いた醸酵に比し環境に負荷を与えないシステムである。また連続培養系でしばしば問題となるような微生物汚染の可能性が極めて少なく、安定な抗生物質の連続生物が可能な理想的なシステムであるといえる。

#### 論文審査の結果の要旨

藍藻のような光独立栄養微生物による有用物質の生産は炭素ガスの再資源化ということで環境問題には非常に大切な研究である。この論文は藍藻の中より有用な新規抗生物質 scytonemin X を生産する株を見つけ出し、その化学的構造及び抗菌性を詳しく調べ、その生産条件、安定な生産方法について検討し、固定化法を用いて安定な高効率によって生産する方法を見出し、連続醸酵法によって、scytonemin X の安定な連続生産法を見出した。よって本論文は博士論文に値すると判定する。