

Title	Studies on Biosurfactant Producing Microorganisms : Isolation, Characterization, and Molecular Cloning of Biosynthetic Genes
Author(s)	Niran, Roongsawang
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44906">https://hdl.handle.net/11094/44906</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

氏名	ニラン ルーンサワン Niran Roongsawang
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 18661 号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科物質・生命工学専攻
学位論文名	Studies on Biosurfactant Producing Microorganisms : Isolation, Characterization, and Molecular Cloning of Biosynthetic Genes (バイオサーファクタント生産菌に関する研究：分離、特徴付けおよび生合成遺伝子の分子クローニング)
論文審査委員	(主査) 教授 金谷 茂則  (副査) 教授 小林 昭雄    教授 福住 俊一    教授 宮田 幹二 教授 柳田 祥三    教授 横山 正明    教授 高井 義造 教授 伊東 一良    教授 青野 正和

## 論文内容の要旨

本論文では、高塩分濃度という特殊環境から新規バイオサーファクタント生産菌を複数分離し、それぞれの生産物の構造解析および生産条件を検討している。さらにこれまでで最も分子活性の高いバイオサーファクタントについてその生合成に関与する遺伝子群の取得と全容の解明に成功している。

序論では、バイオサーファクタントの生物学的・物理化学的諸特性および工業利用範囲の可能性について述べた後、解決すべき問題点に触れ本研究の目的を述べている。

第一章では、タイ王国内の高塩分濃度環境から耐塩性を有するバイオサーファクタント生産菌を多数分離している。そのうち最も高いバイオサーファクタント生産量を示した *Bacillus subtilis* BBK-1 について生理学的諸性質を調べた後、本菌が生産するバイオサーファクタントを精製し化学構造を決定している。その結果、BBK-1 は3種類のリポペプチド型バイオサーファクタントすなわち、bacillomycin L, Plipastatin, Surfactin を同時に生産する能力を有することを発見している。さらに本菌のバイオサーファクタント生合成に関与する遺伝子群の一つをクローニングし、その構造を他のものと比較している。

第二章では、別の耐塩性バイオサーファクタント高生産菌 *Bacillus licheniformis* F2.2 を対象として研究を進め、本菌も3種類のバイオサーファクタントを生産していることを明らかにしている。これらのうち2種はリポペプチド型の Plipastatin と Surfactin である。一方、3番目のものはアミノ酸を含まない合成培地でのみ合成される新規物質でありその分子量は 1193 であることを明らかにしている。これまでに同属菌がリポペプチド型以外のバイオサーファクタントを生産したという報告例はないことから本発見は大変意義深い。

第三章では、これまでに発見されたりポペプチド型バイオサーファクタントの中で最も分子活性の高いアルスロファクチンの生合成経路を分子生物学的手法により解析している。アルスロファクチン生産菌である *Pseudomonas* sp. MIS38 のゲノムライブラリーを構築し、当該遺伝子領域を含む組換え体を PCR 法およびブランクハイブリダイゼーション法により精査している。その結果、アルスロファクチン合成酵素遺伝子群は約 38,700 塩基対より成ることを

明らかにしている。さらに他の例とは異なり本合成酵素複合体はアミノ酸異性化ドメインをもたず、逆にチオエステラーゼドメインを2つ有するユニークな構造であることを明らかにしている。また、遺伝子破壊実験に成功し、実際にこの遺伝子領域がアルスロファクチン合成遺伝子であることを直接証明している。最後にその遺伝子破壊菌が軟寒天平板培地上でのコロニー（菌集落）拡散能を失っていること、異常な菌膜（バイオフィーム）形成を行うこと、および走査型電子顕微鏡観察により細胞間に繊維状物質を生産していることなどの観察結果に基づきアルスロファクチンおよびその合成遺伝子群の生理学的意義について考察している。

総括では、本研究から得られた知見をもとに、新規バイオサーファクタント生産菌およびアルスロファクチン合成酵素遺伝子群の応用へ可能性を展望している。

### 論文審査の結果の要旨

本論文では、微生物が生産する界面活性物質、すなわちバイオサーファクタントの産業利用を最終目標とした基礎研究を展開している。具体的には以下に示す知見を得ている。第一章では、新しいバイオサーファクタント生産菌を高塩分濃度という特殊環境に求め新規微生物の取得に成功している。第二章では、全く新しい基本骨格を有する高活性バイオサーファクタントを発見している。第三章では、既報の中から最も分子活性の高いバイオサーファクタントであるアルスロファクチンを取りあげ、その生合成酵素遺伝子群の構造的特徴を明らかにすると共に実験結果に基づきアルスロファクチンおよび生合成遺伝子群の生理学的役割に関する議論を展開している。

以上のように、本論文はバイオサーファクタントの産業利用を図る上で有益な基礎知見を与えるものであり、本論文は博士論文として価値あるものと認める。