論文の内容の要旨

申請者氏名 金 照植

本論文は、環境浄化特に水不溶性の汚染物質の分解に利用することを目的として、微生物の生産するバイオサーファクタントについて研究した結果をまとめたものである。

まず、バイオサーファクタントを生産する微生物を原油を塗布したプレート上でハロー形成能を指標として検索し、生産性の優れた2種類の菌株を得た。それぞれ、Bacillus subtilis C9 及び Candida sp. SY16 と同定した。

B. subtilis C9 の生産するバイオサーファクタント、C9-BS を培養液より分離、精製しその構造を検討した。その結果、C9-BS はリポペプチドの一種でありC₁₄ ないしC₁₅ の脂肪酸に7つのアミノ酸からなるペプチドが結合したサーファクチンに類似の構造をもつ化合物であることが明らかとなった。C9-BS の生産条件の最適化を行いさらにジャーファーメンター培養での生産を検討した。また、サーファクチン生合成に関与する sfp 遺伝子を B. subtilis C9よりクローニングし B. subtilis 168 に導入したところ、B. subtilis 168 は C9-BS の生産能を獲得するとともに炭化水素資化能を示した。

Candida sp. SY16 の生産するバイオサーファクタント、MEL-SY16 を培養液より分離、精製し新規なグリコリピッドであることを認めた。その構造を検討した結果、脂肪酸部分にヘキサン酸、及びテトラデカン酸またはテトラデセン酸を含む 6-O-acetyl-2,3-di-O-alkanoyl- β -D-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O-meso-erythritolであることを明らかにした。MEL-SY16 は大豆油を含む培地で高い生産量を示した。グルコースと大豆油を炭素源とする培地で大豆油を逐次添加する流加培養を行い 95 g/liter の生産量を得た。

本研究で得たバイオサーファクタント、C9-BS 及び MEL-SY16 は、合成界面活性剤であるドデシルベンゼンスルホン酸、ラウリル硫酸ソーダと比較して表面張力減少活性、pH安定性、耐塩性、低毒性などにおいて優れていた。また、活性汚泥により容易に分解されることも確認した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 金 熙 植

サーファクタント（界面活性剤）は親水基及び疎水基をもちさまざまな分野で広く利用されている。その多くは化学的に合成されているが、近年、微生物の生産するバイオサーファクタントがその生分解性、構造的多様性から注目され研究が進んでいる。

本論文は、石油流出事故など水不溶性物質による環境汚染の修復に利用することを目的としてバイオサーファクタント生産菌の検索、生産物の分離、構造解明、生産条件さらに化学合成品との性能比較を行った結果をとりまとめたものである。

まず、原油を塗布したプレートを用いてハロー形成能を指標に生産菌の検索を行い、数百株のうち比較的強い生産能を示す細菌及び酵母を選択し以下の研究を行っている。

Bacillus subtilis C9 と同定された細菌の培養液から単離されたバイオサーファクタントはサーファクチンと同様のペプチド構造をもつリポペプチドであることが示された。生産条件の最適化を行うとともにより高い生産性を得るためにサーファクチン生合成に関与する 4'-ホスフォパンテテイントランスフェラーゼをコードする sfp 遺伝子を B. subtilis よりクローニングしサーファクタント生産能をもたない B. subtilis 168 に導入したところサーファクチンを生産した。形質転換株は同時に炭化水素資化能を獲得したことよりバイオサーファクタントの生理的役割の一端が明らかにしたものである。

酵母、Candida sp. SY16 の生産するバイオサーファクタント、MEL-SY16 は疎水基として2種類の脂肪酸、親水基としてマンノピラノシルエリスリトールからなる新しいグリコリピドであることが明らかにされた。その生産に炭素源として大豆油が有効であることから大豆油を逐次添加する流加培養システムを構築し、95 g/literという高い生産量を得ることに成功したことは本物質の大量生産の展望を示したものである。

本研究で得られた2つのバイオサーファクタントは生分解性はもとより、種々の物理化学的性質において従来汎用されている化学合成品よりも優れており、現在、原油汚染の現場でその実用性が試験されている。

以上のように、本論文は、環境修復技術に利用できるバイオサーファクタントの生産について新しい知見を得たもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。