

氏 名	白 坂 憲 章
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	論 農 博 第 2258 号
学位授与の日付	平 成 11 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	PRODUCTION AND METABOLISM OF UNIQUE FATTY ACIDS BY AQUATIC MICROORGANISMS (水生菌類による機能性脂質の生産と代謝)

論文調査委員 (主 査) 教 授 清 水 昌 教 授 岩 村 俣 教 授 天 知 輝 夫

論 文 内 容 の 要 旨

微生物由来の油脂は「SINGLE CELL OIL (SCO)」と呼ばれ、従来から知られている油糧種子、魚介類などから得ることが困難な高度不飽和脂肪酸を含有する油脂の供給源として注目されている。様々な脂肪酸組成を有する SCO が用いる微生物およびその培養条件を選択することにより生産できることから、SCO は、機能性食品、医薬品素材としての利用が期待されている。本研究で著者は、ラジカル補足活性を有し、生体内において脂質の過酸化を抑制する新しいタイプの機能性脂質として注目されているフラン脂肪酸に着目し、その供給源を微生物に求め探索を行った。得られたフラン脂肪酸生産菌よりフラン脂肪酸著量蓄積変異株を誘導し、その生合成経路についての詳細な検討を加えた。また、天然に实际的な供給源が知られていない9,12-ヘキサデカジエン酸や9,12,15-ヘキサデカトリエン酸などのC-16高度不飽和脂肪酸の合成を、パルミトレイン酸から上記の脂肪酸への変換能を有する微生物を用いることにより可能とし、これらの脂肪酸の生産法を確立した。さらに、n-3系高度不飽和脂肪酸の新たな供給源として、エイコサペンタエン酸(EPA)生産性糸状菌を取得し、EPAおよび5,8,11,14,17-ノナデカテトラエン酸の生産法を確立した。また、ドコサヘキサエン酸(DHA)生産性微生物よりDHA著量蓄積変異株を取得し、DHAの生産法も確立した。その主な内容は、以下のとおりである。

1) 海産動物の消化管より単離した海洋性細菌 *Shewanella putrefaciens* にフラン脂肪酸が存在することを発見し、魚介類に存在するフラン脂肪酸がそれらの腸内細菌に由来することを示唆した。また、本菌からフラン脂肪酸著量蓄積変異株を誘導し、その詳細な脂肪酸組成の検討から、バクセン酸を出発脂肪酸とするフラン脂肪酸の新しい生合成経路を提案した。さらに、本変異株のフラン脂肪酸生合成に影響を与える化合物の検索を行い、オキシゲナーゼの阻害剤である *p*-ニトロ安息香酸メチルがフラン脂肪酸の生成を抑制することを発見し、フラン脂肪酸の生合成にオキシゲナーゼ様の反応が関係していることを明らかにした。

2) パルミトレイン酸から9,12-ヘキサデカジエン酸への高い変換能を有する *Trichoderma* sp. AM 076 を取得した。本菌の培養条件を最適化し、9,12-ヘキサデカジエン酸の生産が可能であることを示すとともに、本脂肪酸が菌体内の主要脂質であるトリアシルグリセロールおよびリン脂質画分に分布することを明らかにした。また、本菌より誘導した α -リノレン酸高生産性変異株を用いて、新規なC-16高度不飽和脂肪酸である9,12,15-ヘキサデカトリエン酸をパルミトレイン酸から微生物変換により合成できることを示すとともに、 $\Delta 12$ および $\Delta 15$ 不飽和化反応が関与する本脂肪酸の生合成経路を推定した。

3) 水生菌類を中心に探索を行い、EFA生産性の高い糸状菌 *Saprolegnia* sp. 28 YTF-1 を取得した。本菌の培養条件を最適化することにより、従来より高いEPA生産が可能であることを示した。また、本菌をペンタデカン酸メチルを炭素源として培養することにより、新規な非天然型奇数鎖高度不飽和脂肪酸である5,8,11,14,17-ノナデカペンタエン酸の合成が可能であることを示した。さらに、DHA生産菌 *Schizochytrium* sp. SR 21 株よりDHA生産性の高い変異株を取得し、本変異株の培養条件を最適化することによりDHAの著量蓄積条件を設定した。

論文審査の結果の要旨

微生物由来の油脂「SINGLE CELL OIL (SCO)」は、用いる微生物およびその培養条件を選択することにより、多様でユニークな脂肪酸を含む油脂の供給源となりうるため、近年これらを機能性食品や医薬品の素材として利用することが検討されている。本論文は、新しい機能性脂質の素材となりうる様々な脂肪酸を生産する微生物の探索、生産条件の確立、およびそれら脂質の生合成経路の解明を目的として行った研究成果をまとめたものである。評価すべき点は以下のとおりである。

1) 海産動物の消化管より単離した海洋性細菌 *Shewanella putrefaciens* にフラン脂肪酸が存在することを発見し、魚介類に存在するフラン脂肪酸がそれらの腸内細菌に由来することを示唆した。

2) *Shewanella putrefaciens* のフラン脂肪酸著量蓄積変異株を取得し、その詳細な脂肪酸組成の検討からフラン脂肪酸生合成経路を推定し、従来より提唱されていた植物のフラン脂肪酸生合成経路とは異なることを示した。

3) オキシゲナーゼの阻害剤である *p*-ニトロ安息香酸メチルがフラン脂肪酸の蓄積を抑制することを発見し、フラン脂肪酸の生合成にオキシゲナーゼ様の反応が関係することを明らかにした。

4) パルミトレイン酸から9,12-ヘキサデカジエン酸への高い変換能を有する *Trichoderma* sp. AM 076 を取得し、本菌を用いた9,12-ヘキサデカジエン酸の生産条件を確立した。

5) *Trichoderma* sp. AM 076 より誘導した α -リノレン酸高生産性変異株を用いて、新規な C-16 高度不飽和脂肪酸である9,12,15-ヘキサデカトリエン酸をパルミトレイン酸から微生物変換により合成できることを示すとともにその生合成経路を推定した。

6) EPA 生産性糸状菌 *Saprolegnia* sp. 28 YTF-1 を取得し、生産性の高い EPA 生産法を確立した。

7) *Saprolegnia* sp. 28 YTF-1 をペンタデカン酸メチルを炭素源として培養することにより、新規な非天然型奇数鎖高度不飽和脂肪酸である5,8,11,14,17-ノナデカペンタエン酸の合成が可能なことを示した。

8) *Schizochytrium* sp. SR 21 株の DHA 高生産性変異株を取得し、本変異株による DHA の大量生産法を確立した。

以上のように、本論文は、代謝工学的手法を用いて、様々な機能や構造を有する脂肪酸を発酵生産する方法を確立するとともに、それらの脂肪酸の生合成機構を解明したものであり、応用微生物学並びに発酵生理学の進展に貢献するところが大きい。

よって、本論文は、博士（農学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、平成 11 年 6 月 10 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。