

論文内容要旨

報告番号	甲 先 第 395 号	氏 名	中川 香澄
学位論文題目	Bioelectrochemical Studies on Indigo Reduction Mechanisms in Indigo Fermentation (藍染液中のインジゴ還元メカニズムに関する電気化学的研究)		
内容要旨			
<p>極限環境生物はその過酷な環境で生存するためにユニークな適応能力を発達させており、生態学的な観点からも、工学的ツールとしても極めて魅力的な研究素材である。日本の伝統的な藍染めは、タデアイの葉を発酵させた「すくも」を元に、石灰やふすま、日本酒などを調製過程において適量添加した高アルカリの藍染液で行われる。非水溶性のインジゴは微生物によってロイコインジゴ(LI)へと還元されることが知られているが、その詳細なメカニズムは染液が上記のように複雑な環境であるため解析が進んでいない。また、染液の染まり具合を安定化させるために、LI量を知ることが重要であるが、LIは空気中の酸素により直ちにインジゴへと酸化されるため、定量することが困難であった。さらに、既報のインジゴ還元菌の多くはインジゴと同じ構造を持つ水溶性のインジゴカルミンを用いて評価されており、それらの菌が染液中でインジゴを本当に還元するかに関しては不明であった。以上3点を明らかにするために、下記の研究を行った。</p> <p>第1章では、サイクリックボルタンメトリー(CV)を用いて、微生物によるインジゴ還元メカニズムを明らかにすることを目的とした。藍染液を作製し、その上清をCVで測定した結果、-0.51 Vと-0.71 Vに一对の酸化還元ピークが観察され、インジゴを化学的に還元したCV結果と一致した。また、濃縮した染液のCVでは、微生物によるインジゴの触媒波が観察された。そこで、この生体電気触媒反応を明らかにするため、染液から単離したインジゴ還元菌K2-3'株と可溶性メディエーターとしてインジゴと同程度の酸化還元電位を持つメチルピオロゲン(MV^{2+})を用いてモデル実験を行った。その結果、K2-3'株はアセトアルデヒドを添加したとき、MV^{2+}の還元反応を触媒した。以上のことから、染液中の微生物はアセトアルデヒドをエレクトロドナーとしてインジゴの還元に関与していることが示唆された。</p> <p>第2章では、染液中のLI量をin-vivoで測定することを目的とした。染液中に直接電極を設置し、CV測定を行った。酸化ピーク電流値をロイコインジゴ濃度の指標として用いた結果、生地の染色強度と一致した。作製した染液の経時的なモニタリングによって、インジゴが還元されるために必要な日数や以前作製した古い染液の残渣を活用することの有効性を示した。また、インジゴ還元活性が低下した染液を回復させるためには炭素源だけでなく、窒素源を添加することが重要であることも見出した。さらに、上記方法を応用することにより、使用済みの染液やすくも抽出物中に含まれるインジゴ量を測定することも可能であることを提案した。</p> <p>第3章では、染液中のインジゴ還元を効率よく行うための条件を明らかにすることを目的とし、新規インジゴ還元評価法により単離されたインジゴ還元菌の同定、インジゴ還元を促進するメディエーターの探索および染液の菌叢解析を行った。新規インジゴ還元評価法はインジゴ還元活性を数値化することができただけでなく、従来の方法で見落とされていた株を含むインジゴ還元菌を新たに10株取得することに成功した。また、インジゴ還元活性を増強するメディエーターとして、アントラキノンが有効であることを明らかにした。次に、生産者(生産地)が異なるすくも自体やそれらすくもを利用して調製した藍染液の菌叢に大きな違いは観察されなかった。また、調製後の日数経過に伴う菌叢は栄養源を加えた後に大きく変化し、染色強度は増加したが、インジゴ還元菌の減少も観察された。これらの結果から、インジゴ還元活性を高めるために、インジゴ還元菌だけでなく、他の菌とのバランスが重要であることが考察された。</p>			