

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 先 第 429 号	氏 名	村川 直美
審査委員	主査 中村 嘉利 副査 田井 章博 副査 櫻谷 英治		
学位論文題目			
フザリウム属糸状菌を活用した水酸化脂肪酸生産に関する研究			
審査結果の要旨			
<p>バイオディーゼル製造過程で副産物として廃グリセロールが生成される。本研究ではまず廃グリセロールの有効活用を目指し、微生物スクリーニングを行った。徳島県内からサンプリングした土壌や汚水の試料から、廃グリセロール資化性に優れた糸状菌D2株を単離した。ITS-5.8S rDNA配列による簡易同定の結果、D2株は<i>Fusarium solani</i>であると推測された。D2株は廃グリセロールを炭素源とした培地（CG培地）で培養した場合、10-ヒドロキシ-<i>cis</i>-12-オクタデセン酸（HYA）、10-ヒドロキシオクタデカン酸（HYB）、10-オキソオクタデカン酸（KetoB）を蓄積した。D2株のHYB生産量は培地中の廃グリセロール濃度に依存し、8%の廃グリセロールを含むCG培地で培養すると2.20 g/L（総脂肪酸の40%）に達した。廃グリセロールには総脂肪酸の内、オレイン酸（C18:1<math>\omega</math>9）が53.8%、リノール酸（C18:2<math>\omega</math>6）が29.4%の割合で含まれているが、CG培地で培養したD2株の菌体内脂質からはC18:1<math>\omega</math>9が3.2%しか検出されなかった。このことから、D2株はC18:1<math>\omega</math>9を効率よくHYBに変換していると考えられた。また、D2株を6%の廃グリセロールを含むCG培地で4日間振とう後、3日間静置培養することで好気条件における水酸化脂肪酸生産への影響を評価した。その結果、HYBの収量は7日間振とう条件の2.2倍に相当する1.19 g/Lに達し、総脂肪酸の53%を占めた。次に、HYBやHYA生産性バクテリアの知見を基に、水酸化脂肪酸生産に関与するオレイン酸水和酵素を推定し、大腸菌による異種発現を行った。さらに、精製した推定オレイン酸水和酵素（D2Ohy2）について至適pHと至適温度を検討した結果、pH 5.0、45°Cで最も高い活性を示した。これらの至適条件は既報のバクテリア由来水和酵素に比べて至適pHは低く、至適温度は高いことが分かった。また、D2Ohy2における基質特異性について検討したところ、長鎖脂肪酸であるC18:1<math>\omega</math>9に対する基質特異性が非常に高いだけでなく、パルミトレイン酸（C16:1<math>\omega</math>7）にも比較的高い水和活性を示した。以上のことからD2Ohy2はバクテリア由来の酵素とは異なる性質を持つことが示唆された。</p> <p>以上本研究は、廃グリセロールを資化する糸状菌が不飽和脂肪酸の水和反応により希少な水酸化脂肪酸やオキソ脂肪酸を蓄積することを明らかにしたものであり、本論文は博士（工学）の学位授与に値するものと判定する。</p>			