

301 長鎖脂肪酸資化性アルカリゲネス属細菌によるバイオポリエステルを生合成

(理研・高分子)

○秋山 稔, 土肥 義治

1 目的

我々はバイオポリエステルの研究の一環として石油資化菌 *Pseudomonas oleovorans* によるポリ(3-ヒドロキシアルカノエート)(PHA)共重合体の生合成を研究してきたが、その過程で新しい菌株を分離した。この菌株の分類学的同定試験を依頼した結果、*Alcaligenes* 属に属するものと判明した。本発表ではこの新菌株による各種炭素源からのPHAの生合成挙動を調べた結果を報告する。

2 方法

培養は坂口フラスコを用いたバッチ式で好氣的な1段培養にて行なった。培養には無機培地 100mlに試験炭素源の所定量(3g/lまたは1g/l)を添加し、pH=7.0に調整した培地に植菌し、30°Cで振とう培養した。培養終了後、遠心分離、水洗を経て集菌し、凍結乾燥により菌体を得た。乾燥菌体からのポリエステル抽出は、CHCl₃中ソックスレー抽出器により行なった。精製が必要な場合、抽出溶液からn-ヘキサンまたはCH₃OHで再沈した。

PHAの分析には、ガスクロマトグラフィーにより組成および生成量を決定した。試料には乾燥菌体を酸性CH₃OHで分解して得たモノマーのメチルエステル含有CHCl₃溶液を用いた。融点(T_m)、溶融熱量(ΔH_m)、ガラス転移点(T_g)の測定はDSC、分子量の測定はGPCにより常法通り行なった。

3 結果

試験炭素源としては、直鎖脂肪酸、油脂、両末端n-ジカルボン酸、n-アルカン、n-アルカナール(n-アルキルアルデヒド)、n-アルキルエステルおよびヒドロキシル直鎖脂肪酸を選定した。菌体の増殖には中～長鎖の直鎖脂肪酸類および油脂が優れていた。PHAの乾燥菌体含有率は、増殖の場合と同じく中～長鎖脂肪酸と油脂の他に、両末端n-ジカルボン酸が高い値を示した。生成したPHAの組成に関しては、分子鎖長の異なる直鎖脂肪酸を唯一の炭素源とした場合に興味ある結果を得た。即ち、偶数炭素数の脂肪酸からはポリ(3-ヒドロキシブチレート)(P(3HB))、奇数炭素数の脂肪酸からは3HBと3-ヒドロキシバリレートのランダム共重合体(P(3HB-co-3HV))を生成する事が明らかとなった。更に、この共重合体中の3HV単位のもル含有率は、用いた奇数炭素数(5以上)の脂肪酸の炭素数の増加と共に減少する事が示された(図1)。一方、油脂や両末端n-ジカルボン酸からは例外なくP(3HB)単独重合体が生成した。

n-アルカン、n-アルカノール、n-アルカナールは末端酸化に始まる代謝を受けるならば、直鎖脂肪酸になる一連の化合物である。炭素数8および9の上記3群の化合物を唯一の炭素源として培養した結果、n-アルカンから生成するP(3HA)は、炭素数の奇偶に関わりなくP(3HB)であり、既述したn-アルカンの末端酸化では説明できない結果を示した。また、12-ヒドロキシステアリン酸、リシノール酸、ヒマシ油はいずれも12-ヒドロキシ脂肪酸(C₁₆)とその誘導体であるが、上記の偶数炭素数の未置換直鎖脂肪酸と異なり、3HV単位のもル含有率が2%以下と小さいながらもP(3HB-co-3HV)を生成した。その生成機構についても検討した。

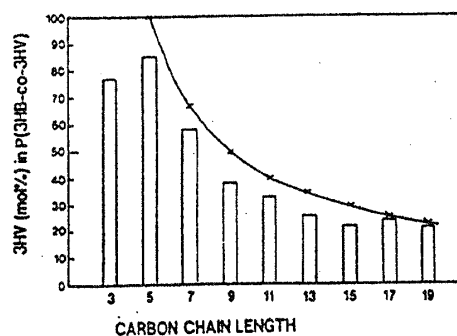


Fig. 1 The mole fraction of 3HV unit in P(3HB-co-3HV) copolymers produced by *Alcaligenes* sp. AK 201 from n-alkanoates of odd carbon numbers.