

論文題目 : Studies on biosynthesis and chemical structure of poly(ϵ -L-lysine) from newly isolated strains of *Streptomyces* sp.

(新たに単離した放線菌が生産するポリ(ϵ -L-リジン)の生合成と化学構造に関する研究)

著 者 : 才村 正幸

研究科、専攻名 : 工学研究科、材料科学専攻

学位記番号 : 工課第5号

博士号授与年月日 : 平成20年3月21日

論文の要旨

ポリ(ϵ -L-リジン) (ϵ -PL)は L-リジンの ϵ -アミノ基と α -カルボキシル基が結合した分子量数千の中分子量分子であり、土壌放線菌 *Streptomyces albulus* の一株によって菌体外に蓄積されることが四半世紀余りに発見された。この菌株によって生産された ϵ -PL は、生分解性かつ水溶性で抗菌活性を有し、また動物細胞に対する毒性が低いことから、天然の食品保存料としてこれまでに実用されている。また、免疫増強活性、腫瘍抑制活性など多様な生物学的機能が報告され、DNA ベクターの利用が検討されるなど医療分野への応用が期待され、さらには ϵ -PL の第一級アミノ基を利用して架橋高分子化することで、環境適応型の凝集剤・吸水剤へと適用することも現在検討されている。

しかし、このように多岐にわたる興味深い機能を有する新規な材料物質であるにもかかわらず、ごく最近までは上記の一株のみしか生産株としては知られていなかった。また、その生産制御や生合成機構および化学構造について多数の菌株を用いて比較検討することはこれまで一切なされておらず、これらに関する知見の乏しさが有用バイオポリマーである ϵ -PL の学術面・応用面での発展を遅れさせているものと思われた。本論文は、新たに ϵ -PL 生産菌を複数単離し詳細に比較検討することで、 ϵ -PL の生合成および化学構造を明らかにすることを目的としており、次の5章より構成されている。

第1章は緒論で ϵ -PL の機能性と現在 検討されている用途およびこれまでの研究発達過程と問題点について概説し、本研究の必要性和独自性について述べた。

第2章では、放線菌を対象に絞ってスクリーニングを行うことで複数の ϵ -PL 生産菌を効率的に単離できることを明らかにした。得られた生産菌を用いた比較研究により、ポリマー生産には硫酸アンモニウムや硫酸ナトリウムなどの硫黄源を要求し、ポリマー生産は菌体密度によって厳密に制御されていることを明らかにした。複数の生産菌を用いてポリマー生産における栄養要求性・生産制御に関する知見を得たのは本論文が初めてであり、こ

れにより以降の様々な菌株を用いての ϵ -PL 生合成研究が可能となった。

第3章では、スクリーニングにより今回 得られた新規生産菌 10 株由来の ϵ -PL について 詳細な化学構造の解析・比較検討を行った。様々な鎖長の混合物である ϵ -PL を重合度に応じて一分子ずつ単離する逆相カラム分析により ϵ -PL は全て分子量分布 $M_w/M_n = 1.03$ の単分散性を有すること、分子量は炭素源に依存し グリセロールを用いるとグルコースに比べポリマー分子量が低下すること、また 600 MHz NMR によりこの分子量の低下にはポリマーC 末端が一部グリセロールエステル化されることが関与することを明らかにした。これにより前章の硫黄源依存性の結果も含め ϵ -PL 生合成反応を 4 段階（モノマーの活性化、重合、停止、菌体外排出）に分類しメカニズムの推定を行うことができる。

- 1 単分散なペプチド系抗生物質の生合成に見られるチオテンプレート機構に類似して、リジンのカルボキシル基は ATP によってアデニル化による活性化を受けた後、生合成酵素の活性中心である SH 基と反応しリジンチオエステルを形成する(モノマーの活性化)。
- 2 このようなりジンチオエステルは生合成酵素内で少なくとも 2 箇所以上形成され、両者でチオエステル交換反応が行われるごとに 1 残基 鎖が伸長する(重合)。
- 3 重合の停止は水分子あるいは培地に添加したグリセロール分子による重合の活性点(チオエステル部位)への求核攻撃によって行われ、これにより伸長途中のペプチドは生合成酵素の活性点から切り離される(反応の停止)。
- 4 遊離した ϵ -PL ペプチドはそれ自身がカチオン性を帯びることから、一旦負に帯電した菌体表面に吸着・蓄積するが、吸着飽和に達した後にはポリマーは菌体外へと分泌される(菌体外排出)。

第4章では、こうして生産された ϵ -PL はその単分散性から楕形ポリマーのバックボーンとすることで明確な性質を示す高機能性材料となることを提案した。 ϵ -PL の側鎖アミノ基の pK_a 値は中和滴定実験により およそ 7.0 であった。本ポリマーが水溶性であることを考慮すれば、中性から弱アルカリ水溶液中でアミノ基の求核性を利用して様々な生理活性物質と結合反応することは、多機能性材料をグリーンケミストリー的に効率よく創製する有力な手段になりうると考えられた。

第5章は結論であり、本論文の研究成果を要約するとともに、今後の ϵ -PL の展望について述べた。