

氏名(本籍)	なかしまけんじ (千葉県)
学位の種類	農学博士
学位記番号	博乙第506号
学位授与年月日	平成元年3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	イソプレノイド炭化水素および関連化合物の微生物変換に関する研究
主査	筑波大学教授 農学博士 高橋 穰 二
副査	筑波大学教授 農学博士 今川 弘
副査	筑波大学教授 農学博士 中原 忠 篤
副査	筑波大学教授 農学博士 井上 嘉 幸

### 論 文 の 要 旨

イソプレノイド炭化水素のような側鎖を有する分岐状炭化水素は、*n*-alkaneのような直鎖の炭化水素に比べて、微生物によって資化・利用されにくく、その微生物資化性やそれらからの有用物質生産に関する研究例はあまりない。しかし、これらイソプレノイド炭化水素類は shale oil 中に比較的多く含まれているなど自然界にはかなり広く分布しており、また、イソプレン、1,3-ブタジエン、プロピレン等を基本骨格とする交互重合オリゴマーの合成により、天然イソプレノイド炭化水素と構造の類似した種々の化合物も得られるようになってきているなど資源的にもその重要性は高まってきた。

本研究は、イソプレノイド炭化水素類の微生物変換に関して、それらの構造と微生物資化性の関係を調べるとともに、微生物変換による有用物質の生産についても検討したものである。

まず、土壌から分離した多数の菌株のなかからイソプレノイド炭化水素 pristane に生育し培養液中に酸化生産物を蓄積する3菌株を新しく発見し、そのうちの代表的1菌株 BPM 1613の菌学的性質を検討して *Rhodococcus* sp. に属することを明らかにした。

次に、本菌株の培養液中から酸化生産物を単離し、主酸化生産物は pristane の片末端が酸化をうけて生成した pristanal および pristanic acid であることを、微量酸化生産物は、同様に片末端が酸化をうけて生成した pristyl pristanate および pristyl aldehyde であることを確かめた。また本菌株による pristane 代謝経路上の分解産物として 2,6-dimethylnonanedioic acid など3種の代謝産物を新たに単離・同定し、本菌株による pristane の代謝は、末端酸化物のアルコール、アルデヒドを経由して pristanic acid に酸化された後、さらに、pristanic acid が  $\beta$ -酸化をうける系と  $\omega$ -酸化をう

けた後 $\beta$ -酸化をうける系の2つによって行われていることを明らかにした。

さらに、ビタミンEおよびK<sub>1</sub>の合成原料として利用できる有用物質である pristanal および pristanic acid の本菌による培養生産条件を検討し、pristane を基質として約37%という高い変換率でそれらを生産する条件を確立した。

次に、pristane 以外の shale oil 系イソプレノイド炭化水素成分である phytane, 1 - pristene, norpristane および farnesane の微生物酸化について検討し、それら4つの炭化水素がいずれも本菌株により資化され、培養液中に酸化生産物が蓄積されることを見出した。それらの酸化生産物はいずれも、isopropyl 末端が酸化をうけて生成したアルコールおよびモノカルボン酸であり、4種のアルコール類はいずれも新規化合物であった。

一方、類似の炭素数を有し、末端構造の異なる phytane, pristane, 1 - pristene および norpristane の4種の化合物を用いて構造と資化性の関係、酸化生産物の蓄積量などを比較検討し、末端がそれぞれ ethyl, isopropyl および isopropenyl 基からなる phytane, pristane および 1 - pristene よりも、末端により長い鎖長の pentyl 基を有する norpristane の方がよく資化されることを認め、末端に isopropenyl 基と ethyl 基をそれぞれ有する phytane は、両末端に isopropyl 基のみ有する pristane より資化されにくいことも明らかにした。また、これらのイソプレノイド炭化水素からの片末端酸化物であるアルコールは資化性の最も良好であった norpristane からほとんど生成されず、モノカルボン酸は、pristane から生成されることを見出した。

さらに、これまで微生物による末端酸化物の生成蓄積の報告が全くない squalene の微生物酸化を試み、基質の両末端の *trans* の位置が特異的に酸化をうけて生成した新規化合物 *trans* - squalenedioic acid の生成を確認し、その生産条件を検討して、消費基質に対して収率45% (w/w) の蓄積に成功した。

続いて、イソプレノイド関連交互重合オリゴマー (3量体) およびそれらの誘導体からの BPM 1613株による酸化生産物の検索を行い、2 -methyl-2 -nonanol からの生産物は $\omega$ -位の methyl 基が酸化をうけて生成した新規化合物 8 -hydroxy-8 -methylnonanoic acid であり、生理活性物質ミルミカシン (アリの分泌する花粉の成長阻害物質) と構造的に類似していることを確認した。

このように、微生物によって資化・利用されにくいといわれている pristane, squalene, isoalkane などのイソプレノイド炭化水素類およびイソプレノイド関連合成オリゴマー類の微生物による代謝経路や、それらの化合物の構造と資化性との関係、さらに酸化生産物の生成蓄積等を明らかにし、該分野に多くの新たな知見をつけ加えるとともに、7種類の新規化合物を得た。

## 審 査 の 要 旨

微生物によって資化・利用されにくいと言われており、該分野での研究例の少ない pristane などのイソプレノイド炭化水素類, squalene, isoalkane およびイソプレノイド関連合成オリゴマー類の微生物資化性を調べ、それらの代謝経路と微生物変換による有用物質の生産について検討したもの

である。

まず、pristane 資化能を有し、酸化生産物を生成蓄積する新規分離株 BPM 1613 の菌学的性質を検討し、*Rhodococcus* sp. 属に分類した。本菌株による pristane の主酸化生産物として pristanol と pristanic acid を、また 2 種の微量酸化生産物および 3 種の代謝経路上の分解産物を同定し、pristane の代謝経路を示すとともに、pristanol と pristanic acid の効率的な生産のための培養条件を検討している。

次に、本菌株による phytane, 1-pristene, norpristane および farnesane の微生物酸化を試みた結果、4 種の新規化合物を分解・同定するとともに、それらイソプレノイド炭化水素の構造と資化性の関係や、酸化生産物の蓄積条件についても比較検討を加え新しい知見を得ている。

また、本菌株による squalene の酸化を試みた結果、新規化合物 *trans*-squalenedioic acid を分離・同定し、さらにイソプレノイド関連合成オリゴマー類を基質として、2 種の新規酸化生産物を確認し、微生物による有用生理活性物質生産への可能性を示している。

以上の研究は、イソプレノイド炭化水素および関連化合物の微生物による代謝と変換に関して多くの新たな知見を提供したものであり、さらに本研究の過程で得られた 7 種類の新規化合物の中には生理活性物質合成の中間体として有用なものも含まれている。従って、本研究の成果はイソプレノイド炭化水素のファインケミカルズへの未知を拓くとともに、光学活性体などの有機合成への利用にも今後大いに役立つものと期待できる。

よって、著者は農学博士の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。