

氏 名	柳澤 恵広		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	農 学		
学位授与番号	博甲第	6 8 6 1	号
学位授与の日付	2 0 2 3 年 3 月 2 4 日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文の題目	Studies on self-assembly of anionic cyclic lipodepsi-peptide surfactin for its application (アニオン性環状リポデプシペプチドサーファクチンの応用に向けた自己集合に関する研究)		
論文審査委員	教授 清田 洋正	教授 神崎 浩	教授 仁戸田 照彦 教授 田村 隆
学位論文内容の要旨			
環境問題は喫緊の課題で、サステナビリティの追求は必須である。様々な場面で大量消費される界面活性剤の殆どは化学合成品であるため、近年、天然物であるバイオサーファクタントが注目されている。その一種のサーファクチン (SF) は、アミノ酸 7 分子と β-ヒドロキシ脂肪酸 1 分子から成る環状リポデプシペプチドで、類縁体の混合物として生合成され培養条件によりその組成比は変化する。また、界面活性剤の培養液からの精製は困難で、SF の既存報告例は組成や純度不明の試料を用いた検討が殆どで応用展開に不十分であった。最近、厳密に制御された製造条件による一定品質の Na 塩 (SFNa) の工業生産が達成されたため、本研究では SFNa の界面活性剤としての応用を目指し、構造上の 2 つの特徴である環状ペプチド及び 2 つのカルボキシ基が機能に与える影響に注目し、各種機器分析等を用いて自己集合挙動について検討した。 第 1 章ではまず、界面活性剤としての基本性質である臨界ミセル濃度 (CMC) とミセルサイズを確認し、SFNa の優れた表面張力低下能を示し ($CMC = 2.7 \times 10^{-5} M$, $\gamma_{CMC} = 27.2 mN/m$)、巨大ミセルの形成を明らかにした。更に、環状ペプチド部分を活用して Cs イオンを包接し、限外ろ過で濃縮できると示した。 第 2 章では、カルボキシ基の解離挙動を明らかにした ($pK_1 = 5.8$, $pK_2 = 6.8$)。更に、その解離に伴い環状ペプチドのコンフォメーションが変化し分子内及び分子間の水素結合形成が促進されると確認した。また、SFNa のプロテアーゼ活性への影響は小さいこと、自己集合に環状構造が極めて重要であることを示した。 第 3 章では、SFNa から K 塩等を調製して対カチオン種の自己集合への影響を検討し、種類により CMC が 2.8~4 倍異なると確認し、更に、対カチオン種の疎水度がコンフォメーション変化に影響することも示した。また、カチオン性界面活性剤との併用で SFNa が混合ミセルやベシクルを形成することを確認した。 第 4 章では、界面活性剤は一般に複数種の混合で相乗効果を引き出し使用されるため、ドデシル硫酸 Na (SDS) との併用を検討し、SFNa が SDS の CMC ($8.8 \times 10^{-3} M$) を 3 桁低下させ低濃度から機能発揮させることを示した。また、これには環状構造が重要と示した。更に、相分離モデルに基づく理論による計算で強い分子間相互作用を証明し、NMR により環状ペプチドの NH プロトンが SDS と相互作用する様子を確認した。これらから、SFNa は SDS ミセル表面の分子間静電反発を抑制しているものと推測された。 以上のように、SFNa の優れた自己集合能を確認した。SFNa は、pH や対カチオン種の影響を受け分子内及び分子間水素結合によりコンフォメーションを変化させて集合し、他種の界面活性剤との併用ではベシクル形成や強い相乗効果を示すと明らかにした。また、SFNa の機能発揮には環状構造が極めて重要であることも示した。これらの知見は、SFNa の応用につながるものと考ええる。			

論文審査結果の要旨

本学位論文申請者は、バイオサーファクタントの一種のサーファクチン（SF）のNa塩（SFNa）の構造上の2つの特徴である環状ペプチド及び2つのカルボキシ基が機能に与える影響に注目し、各種機器分析等を用いて自己集合挙動について検討し、界面活性剤としての応用を目指した。

まず、SFNaが優れた表面張力低下能を示し（臨界ミセル濃度= 2.7×10^{-5} M）、巨大ミセルを形成することを明らかにし、環状ペプチド構造を活用してCsイオンを包接し濃縮できることを示した。

次に、カルボキシ基の解離挙動（ $pK_1 = 5.8$, $pK_2 = 6.8$ ）を明らかにし、その解離に伴い環状ペプチドのコンフォメーションが変化し分子内及び分子間の水素結合形成が促進されると確認した。また自己集合に環状構造が極めて重要であることを示すとともに、その構造を有さない他の界面活性剤と比較してSFNaがプロテアーゼの失活を引き起こしにくいことを明らかにした。

続いて、SFNaのカチオン種を置換した分子種を調製し、対カチオン種の種類によりCMCが2.8～4倍異なると確認し、対カチオン種の疎水度がコンフォメーション変化に影響することも示した。また、カチオン性界面活性剤との併用でSFNaが混合ミセルやベシクルを形成することを確認した。

最後に、界面活性剤の複数種の混合で相乗効果を引き出し使用されることが知られているため、SFNaのドデシル硫酸Na（SDS）との併用効果を検討したところ、SFNaの低濃度での添加によりSDSのCMC（ 8.8×10^{-3} M）を3桁低下させること、その効果にはこSFの環状構造が大きく関与していることを明らかにした。更に、相分離モデルに基づく理論による計算で強い分子間相互作用を証明し、NMRにより環状ペプチドのNHプロトンがSDSと相互作用する様子を確認した。これらから、SFNaはSDSミセル表面の分子間静電反発を抑制して、より強い界面活性効果を発揮すると推測された。

以上、本研究は、SFNaの構造上の特徴が機能に与える影響を与え、応用につながる重要な知見を提示している点で高く評価される内容を含んでおり、その内容は国際的な論文誌に三報（いずれもIF 4以上）に掲載されていることも併せて考慮し、博士の学位に値するものと判定する。