

氏 名	北 口 博 隆
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1068 号
学位授与の日付	平成 11 年 5 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 水 産 学 専 攻
学位論文題目	海産渦鞭毛藻 <i>Crypthecodinium cohnii</i> におけるジメチルスルフォニオプロピオン酸の生合成に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 内 田 有 恒 教 授 坂 口 守 彦 教 授 中 原 紘 之

論 文 内 容 の 要 旨

ジメチルスルフォニオプロピオン酸 (DMSP) は地球規模でのイオウ循環に重要な役割を果たしている揮発性有機イオウ化合物硫化ジメチル (DMS) の前駆物質として注目されてきた。特に海産微細藻類からは大量の DMS が放出されるにもかかわらず、DMSP の生合成経路あるいはその生理作用については未だ明らかにされていなかった。本研究の目的は、DMSP を大量に生産する渦鞭毛藻 *Crypthecodinium cohnii* における DMSP の生合成経路を解明し、DMSP の細胞内生理機能を明らかにすることにある。内容は以下のとおりである。

第一章では、これまでの研究背景としての DMSP と DMS の地球規模でのイオウ循環への関与について述べている。また、DMSP の細胞内生理活性物質としての機能についても紹介している。地球規模でのイオウ循環のミッシング・リンクとなっている DMSP 生合成経路の解明の重要性を述べている。

第二章では、*C. cohnii* における DMSP 生合成経路を *in vivo* トレーサー実験法を用いて検討した結果について述べている。メチオニンが DMSP の近い前駆物質であり、メチオニンから DMSP が合成されるのには、脱炭酸反応、脱アミノ反応、メチル基付加反応がこの順序でおこなわれることをまず明らかにしている。また、DMSP 生合成の各反応に関与すると考えられる酵素について *C. cohnii* 細胞粗酵素液中に検索した結果についても述べている。*C. cohnii* 細胞粗酵素液中にはメチオニン脱炭酸酵素活性、3-メチルチオプロパンアミン (MTPA) アミノ基転移酵素活性、メチルチオプロピオン酸メチル基転移酵素活性が存在しており、*in vivo* トレーサー実験法によって明らかにした結果と矛盾しない結果であると述べている。これらのことから、*C. cohnii* における DMSP の生合成経路は他の生物で報告されている DMSP 生合成経路とは異なるものであると結論している。

第三章では、*C. cohnii* における DMSP 生合成経路の鍵酵素であるメチオニン脱炭酸酵素を4段階のカラム操作で完全精製し、その諸性質を検討した結果について述べている。本酵素は分子量 200 kDa のホモニ量体で、最適活性 pH は 7.3、最適活性温度は 30℃ であった。酵素反応にはピリドキサルリン酸を要求する。本酵素によるメチオニンの脱炭酸反応産物は MTPA であることも明らかにした。本酵素の N 末端アミノ酸配列についても 9 残基までを明らかにしている。

第四章では、*C. cohnii* 細胞内における DMSP の生理機能について検討した結果について述べている。*C. cohnii* を塩濃度の異なる液体培地で培養し、さらにそれよりも塩濃度の高い培地に移して培養を続けると 6 時間後に、細胞内 DMSP 量と DMSP 生合成活性がともに上昇すること、一方、塩濃度の低い培地に移して培養を続けると 6 時間後に細胞内 DMSP 量と DMSP 生合成活性がともに減少し、分解産物である DMS を細胞外に放出することを示している。これらの結果は、*C. cohnii* が、DMSP を合成したり分解することにより細胞内浸透圧を調節していることを示すものであるとしている。

第五章では、得られた結果を総括しており、*C. cohnii* において、浸透圧調節作用をおこなう DMSP がメチオニンから脱炭酸反応、アミノ基転移反応、メチル基転移反応の順番で合成されるという事実が、イオウ循環におけるミッシング・リンクを完結させる可能性を指摘している。

論文審査の結果の要旨

ジメチルスルフォニオプロピオン酸 (DMSP) は、地球規模でのイオウ循環において海洋から陸上へのイオウの返還に大きな役割を果たしていると考えられる硫化ジメチル (DMS) の前駆物質である。しかしながら、DMSP の主たる生産者である海産微細藻類におけるその生合成経路についての知見は少なく、イオウ循環のミッシング・リンクとなっていた。本研究は、DMSP を大量に生産する海産渦鞭毛藻 *Cryptocodinium cohnii* を用いて DMSP の生合成経路を詳細に検討した結果をまとめたものであり、評価すべき点は以下のとおりである。

1. 渦鞭毛藻 *C. cohnii* における DMSP の生合成経路を *in vivo* トレーサー実験法を用いて検討した結果、メチオニンが近い前駆物質であることを証明した。さらに、メチオニンからの中間体として予想される物質についてそれらの希釈効果を検討したところ、メチオニンの脱炭酸反応により、3-メチルチオプロパンアミン (MTPA) が生じ、続いてアミノ基転移反応によって生じる3-メチルチオプロピオン酸 (MTP) にメチル基が付加されることにより最終的に DMSP が合成されるという経路を提示した。これは、これまでに報告されている他の生物における DMSP 生合成経路とは異なる新規な生合成経路である。

2. *C. cohnii* 細胞粗酵素液中に上記の各反応を触媒する酵素活性の有無を検討した結果、メチオニン脱炭酸酵素活性、MTPA アミノ基転移酵素活性、MTP メチル基転移酵素活性が全て存在することを明らかにした。これは、DMSP 生合成経路に関連する酵素群をすべて明らかにした初めての成果である。

3. *C. cohnii* における DMSP 生合成経路の第一段階を触媒するメチオニン脱炭酸酵素を完全精製することに成功した。精製した酵素については詳細にその諸性質を明らかにした。本酵素によるメチオニンの脱炭酸反応産物が MTPA であり、これが続いて脱アミノされることについても証明した。

4. *C. cohnii* における DMSP の浸透圧調節としての役割を検討した結果、高浸透圧条件下では DMSP 合成を活発におこなない DMSP 量を能動的に高く維持すること、低浸透圧条件下では DMSP 合成系の抑制、分解系の活性化により DMSP 量を減少させ DMS を細胞外へ放出することにより適応する機構を有することを示した。この放出された DMS が地球規模でのイオウ循環に貢献している可能性を示した。

以上のように、本論文は海産渦鞭毛藻におけるメチオニンから DMSP への生合成経路を解明し生理機能を明らかにすることにより、イオウ循環におけるミッシング・リンクを繋ぐための新知見を得たものであり、海洋微生物学、海洋環境化学に寄与するところが大きい。よって本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 11 年 3 月 17 日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。