

氏 名	ないとうか なこ 内 藤 佳 奈 子
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2908 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 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	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学位論文題目	鉄不足にある水域環境下での真核植物プランクトンの鉄取り込み機構に関する研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 宗 林 由 樹	教 授 中 原 勝	教 授 梅 村 純 三
--------	----------------------	-----------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

植物プランクトンは、増殖に必要な数多くの元素を水中から取り込む。なかでも鉄は地殻中には4番目に豊富に存在する元素であるが、pH8付近の自然水中では難溶性である水酸化物を形成し除去されるため極めて濃度が低く、一次生産の制限因子と考えられている。植物プランクトンが増殖の際にどのようなメカニズムで鉄を取り込むかという問題の解明は、現代海洋学・陸水学において重要なテーマの一つである。本研究では、微量鉄濃度、無菌、人工合成培地における培養の困難さを克服し、2つの視点から真核植物プランクトンの鉄取り込み機構の解明を試みた。

1) 真核植物プランクトンによるシデロホア生産

鉄不足環境下において多くの原核生物や植物は、鉄を細胞内に取り込むためにシデロホア（鉄運搬体）を生産するといわれている。シデロホアとは、3価の鉄と選択的に錯生成する低分子量有機配位子である。しかし、現在のところシデロホア生産が確認された真核の植物プランクトンは数種しかない。そこで、数種の淡水・海洋植物プランクトンに対してシデロホア生産の検出を行った。植物プランクトンが生産するシデロホアの研究は、バクテリアを排除した条件下で、微量の鉄濃度を制御しながら実験を行う必要がある。この操作には非常に高度なクリーン技術を必要とする。この技術を用いることにより、淡水培地では15nM Fe以下、海水培地では50nM Fe以下に制御した人工合成培地による無菌培養を可能とした。さらに、従来バクテリアによるシデロホア生産の検出に用いられてきた比色試薬 Chrome azurol S (CAS) による方法を改良し、淡水・海洋の真核植物プランクトンからのシデロホア生産の検出に適用できる検定法を確立した。検定の結果、淡水植物プランクトンでは、緑藻 *Closterium aciculare*, 海洋植物プランクトンでは、クリプト藻 *Rhodomonas ovalis* が最も多量に CAS 反応性物質を生産することを見出した。種類の検討の結果、これらの CAS 反応性物質がシデロホアである可能性を示した。

2) 真核生物である赤潮プランクトンの増殖における利用鉄種

鉄をはじめとする栄養要求性の調査実験では、添加する栄養素量を操作するため、組成と濃度を決定できる化学合成培地が必要である。本研究では広範な種の海洋赤潮植物プランクトンを培養できる人工合成培地を開発した。この人工合成培地を用いて、難溶性鉄 ($>2.5\mu\text{M}$) の添加培養実験を15種類の真核赤潮プランクトンについて行い、底層に存在する難溶性鉄利用の可能性を見出した。また、pH8で水溶性の有機鉄錯体を形成するサリチル酸、クエン酸、EDTA が赤潮プランクトンの増殖に及ぼす影響を検討した。増殖に最適なキレート配位子の種類と濃度は、植物プランクトンの種によって大きく異なることを見出した。

以上の結果に基づいて、利用可能な溶存鉄濃度が低い水域において、真核植物プランクトンが鉄を取り込むための戦略として、シデロホア生産と難溶性鉄および有機鉄利用の可能性を提案した。

論文審査の結果の要旨

鉄は地殻中では4番目に豊富に存在する元素であるが、酸素を含む自然水中では難溶性の $\text{Fe}(\text{OH})_3$ を形成して沈殿するため極めて低濃度である。溶存鉄濃度は、外洋海中では $\text{nM}(10^{-9}\text{mol/L})$ 以下であり、沿岸海水や湖沼においても数十 nM 以下に過ぎない。一方、鉄は全ての生物にとって必須な元素である。近年、植物プランクトンは、鉄の不足によって成長が制限されうること（鉄制限）が見出された。鉄制限は最初外洋で確認されたが、最近になって、沿岸域や陸水でも鉄制限が起こる可能性が注目されている。植物プランクトンは水圏の基礎生産の主役であるので、鉄制限が生じる機構を明らかにすることは、現代の海洋学・陸水学において主要なテーマである。この中の重要な課題の一つが、植物プランクトンの鉄取り込みメカニズムの解明である。この分野の研究は長足の進歩を遂げつつあるが、未知の点が多く残されている。水圏の鉄の研究において、最大の障害は鉄の汚染混入（コンタミネーション）である。汚染源は空気中の塵、容器、試薬、人間など数多く、コンタミネーションを抑えるには、高度なクリーン技術が必要である。そのため、鉄制限下での植物プランクトン培養実験を実行できるグループは、世界的に見ても限られている。

申請者は、高度なクリーン技術に基づいて、鉄制限下での植物プランクトン培養実験を可能にした。プランクの鉄濃度は、外洋種の研究には高すぎるが、沿岸種や淡水種の研究には適用可能である。また、申請者は人工合成培地の組成を再検討し、多くの種の培養が可能である新しい培地を開発した。これらの技術に基づいて、淡水性（主に琵琶湖の優占種）ならびに沿岸性（主に赤潮を形成する種）の真核植物プランクトンを培養し、その鉄取り込み機構を研究した。得られた成果の一つは、複数の種が $\text{Fe}(\text{III})$ と強く錯生成する有機配位子を細胞外に放出するのを見出したことである。これは細菌などが鉄取り込みのために生産するシデロホアと同じ働きをする分子であるかもしれない。もう一つの成果は、赤潮プランクトン数種が、溶存無機錯体の鉄だけでなく、難溶性の鉄化合物や有機錯体鉄を利用して増殖できることを確かめたことである。類似の研究は昔から行われていたが、鉄濃度を厳密に制御した条件下でデータを得ている点に意義がある。おそらく個々の植物プランクトン種は複数の鉄取り込み機構を有しており、それらを分子レベルで解明することは容易ではない。そのため本研究では実験結果に対して十分な解釈を与えるところまでは至っていないが、得られたデータは今後のこの分野の発展に大きく寄与すると考えられる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。