

氏 名	にし ぼり なお よし 西 堀 尚 良
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	論 農 博 第 2638 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	細胞内および沿岸海水中のポリアミン動態からみた赤潮原因藻類の増殖 機構に関する研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 原 紘 之 教 授 左 子 芳 彦 助教授 今 井 一 郎

論 文 内 容 の 要 旨

赤潮原因藻の増殖には、ビタミンや腐植物質、核酸関連物質など微量の有機物が促進物質として働き、赤潮にいたることが示唆されている。しかし、促進作用を有する有機物の実体はほとんど明らかにされていない。

微量でさまざまな機能を持つ有機物の一つであるポリアミンは、普遍的に生物体内に分布する生体アミンであり、環境中にも存在し、様々な細胞の増殖に重要な役割を果たすことが知られている。しかしながら、赤潮原因藻類のポリアミンに関する研究はほとんど行われていない。そこで、赤潮原因藻の細胞内および環境水中のポリアミンの動態を明らかにし、赤潮原因藻類の増殖との関係を考察した。

本論文では、第2章で赤潮原因藻類に含まれるポリアミンを同定し、ポリアミン構成を比較検討した。その結果、赤潮原因藻の主要な遊離ポリアミン構成が綱レベルで大きく異なることが明らかになり、ラフィド藻はスベルミジンを、渦鞭毛藻はノルスベルミンを、珪藻はプトレシン、スベルミジン、ノルスベルミジンを主要なポリアミンとして含むことが示された。

第3章では、同定されたポリアミンの細胞内含量と増殖との関係を調べるとともに、ポリアミン合成阻害剤が増殖に与える影響を検討した。ラフィド藻 *Chattonella antiqua* および *Heterosigma akashiwo* の指数増殖期には遊離スベルミジンの含量が著しく増大し、遊離スベルミジンの細胞内含量と増殖速度との間に高い相関関係が見られた。スベルミジンの合成を阻害する薬剤(MGBG)の添加により藻類の増殖が抑制されたが、この抑制はスベルミジンの添加で回復した。これらのことから、遊離スベルミジンはラフィド藻の増殖に重要な役割を果たしていることが明らかになった。渦鞭毛藻 *Karenia mikimotoi* および *Alexandrium catenella* では指数増殖期には遊離ノルスベルミン含量が著しく増大し、増殖速度と遊離ノルスベルミン含量との間には高い正の相関関係が見られた。また、ポリアミン合成阻害剤(DFMO)によって増殖が抑制されたことから、渦鞭毛藻類のポリアミン合成には、オルニチンデカルボキシラーゼが関与し、ノルスベルミンが増殖に重要であることが判明した。珪藻 *Skeletonema costatum* の指数増殖期には遊離型のプトレシン、スベルミジン、およびノルスベルミジンと、結合型のプトレシンおよびスベルミジンの含量が顕著に増加した。これらポリアミンの細胞内含量は増殖速度と高い正の相関を示したことから、これらのポリアミンが *S. costatum* の増殖に重要であることが判った。

第4章では赤潮原因藻類によるポリアミンの利用と排出について検討を行った。渦鞭毛藻は海水中的のスベルミン、およびノルスベルミンの前駆体と考えられるジアミノプロパンを利用できた。ラフィド藻ではスベルミンが利用可能であるが、珪藻のポリアミン利用能は他の藻類より低いと推察された。細胞外へはラフィド藻はスベルミジンを、珪藻はプトレシンとスベルミジンを排出するが、渦鞭毛藻ではポリアミンの排出は見られなかった。

第5章では、海水中的の種々のポリアミンの濃度を同時に測定する方法を確立して、高知県浦ノ内湾、広島湾、播磨灘南部海域において海水中的のポリアミン濃度の変化を測定し、赤潮藻の増殖との関連を調べた。プトレシンとスベルミジンは、いずれの海域でも著量に検出され、沿岸海水中的の主要なポリアミンであることが判った。この他に、高知県浦ノ内湾ではノルスベルミンが、広島湾北部ではノルスベルミンに加えてノルスベルミジンが著量に検出され、ポリアミン構成は海域によって異なった。これらのポリアミン濃度は表層で高く、また高濃度に分布した期間は、赤潮藻類の細胞密度あるいはクロロフ

イル a 濃度の高い期間としばしば一致し、藻類が海水中ポリアミン供給源の一つであることが示された。赤潮原因藻類は多様なポリアミン構成を示すが、海水のポリアミン構成は単純で、ジアミノプロパンやスペルミンなどはほとんど全く検出されなかった。これらのことから放出されたポリアミンは海水中で直ちに藻類を含む微生物に利用されと考えられた。

以上のように、赤潮原因藻類の増殖に細胞内ポリアミンの動態が重要な機能を果たしていることが明らかになった。また、環境水中へ放出されたポリアミンは、赤潮原因藻類を含む海洋微生物の生態に影響をおよぼす可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

赤潮の発生海域は世界的に拡大傾向にあり、それに伴い被害も拡大している。赤潮を引き起こす要因として、有機物や増殖促進物質の重要性が指摘されてきたが、藻類増殖を促進し赤潮形成に関与する有機物の実体は明らかにされていない。本研究では細胞の増殖に重要な役割を果たす有機物の一つであるポリアミンに着目して、研究が進められた。ポリアミンは様々な細胞の増殖に重要な役割を果たすことが知られているが、赤潮原因藻類の増殖とポリアミンとの関係は明らかにされていない。本論文では主要な赤潮原因藻のポリアミン組成を明らかにするとともに、細胞内ポリアミンの動態が赤潮原因藻類の増殖に重要な機能を果たすことを明らかにした。評価すべき点は以下の通りである。

1. 藻類の細胞内ポリアミンは網ごとに特徴的であり、ラフィド藻ではスペルミジンが、渦鞭毛藻類ではノルスベルミジンが、珪藻ではプトレシン、ノルスベルミジン、スペルミジンが主要なポリアミンであることが明らかにされた。また、これら主要なポリアミンの細胞内含量と増殖速度は高い正の相関を示すことがわかった。

2. スペルミジン合成を阻害する酵素阻害剤（MGBG）によるラフィド藻の増殖抑制はスペルミジンの添加により回復すること、プトレシン合成阻害剤（DFMA, DFMO）の添加により藻類増殖が抑制されることから、赤潮原因藻類の増殖にはポリアミンが重要な役割を果たしていることを明らかにした。

3. 種々のポリアミンを培地に加えた試験により、渦鞭毛藻類はジアミノプロパンとスペルミンを、ラフィド藻ではスペルミンを利用できるが、珪藻のポリアミン利用能は低いことが示された。また、ラフィド藻はスペルミジンを、珪藻はプトレシンとスペルミジンを細胞外に排出するが、渦鞭毛藻はポリアミンが排出されないことがわかった。

4. 海水中の種々のポリアミン類濃度を同時に測定する方法を確立し、海水中のポリアミン類濃度が測定された。プトレシンとスペルミジンは、いずれの海域でも著量に検出され、これらのポリアミンは沿岸海水中の主要なポリアミンであることが明らかにされた。また、赤潮原因藻類は海水中ポリアミンを利用すると同時に、供給源の一つであることが示され、海水中ポリアミンの動態から、放出されたポリアミンが海水中で藻類を含む微生物に利用されと考えられた。

以上のように、本論文は赤潮原因藻類の増殖機構に関する研究に新たな視点からの知見を加えるものである。さらに海水中でのポリアミンの動態を明らかにし、沿岸のプランクトン群集の消長と密接な関係があることを示しており、微生物生態学、浮遊生物学の発展に寄与するところが多い。

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19年1月15日、論文並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。