

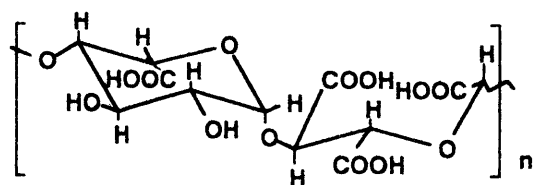
論文審査の結果の要旨

申請者氏名 尾 崎 紀 昭

生物が鉱物を形成する反応はバイオミネラリゼーションと呼ばれ、微生物から高等動植物にいたるまで幅広い生物に見られる。なかでも、炭酸カルシウムや燐酸カルシウムが関与する鉱物化反応は石灰化と呼ばれ、骨、歯、無脊椎動物の外骨格などの組織を形成し、生体の維持や防御に重要な役割を果たしている。本研究では、海洋の単細胞藻類である円石藻を対象にして、この藻が形成する炭酸カルシウムの鱗片（ココリスと呼ばれる）に含まれる微量の有機物のうち、石灰化に重要と考えられる化合物の精製と構造、機能に関する研究を行った。

序論では、バイオミネラリゼーション全般について概観し、これまでに同定された有機基質の特徴を述べている。その背景を踏まえて、円石藻を材料にした意義を説明している。円石藻は、海洋における主要な二酸化炭素固定者であり、地球上の炭素循環に重要な役割を果たしているが、炭酸カルシウム固定の機構はほとんどわかっていないことから、有機基質の構造と機能解析を通じて固定の機構に迫ろうとするものである。

第1章では、まずpH下降法を用いた有機基質の検定法について述べている。この方法は、過飽和の炭酸カルシウム溶液から結晶が析出するのを阻害するのを溶液のpHの変化で判定する方法である。海水を主とした培地で培養した円石藻 (*Pleurochrysis carterae*) の藻体を超音波処理し、ココリスを集めた。これをEDTA溶液で溶かすことによって脱灰し、脱灰液を陰イオン交換HPLCにかけたところ、結晶化阻害活性は2つの画分 (A, B) に認められた。それぞれ食塩濃度0.24, 0.28Mに溶出された。いずれの画分もCBBに染まらず、Stains-all, アルシアンブルー, カルバゾール硫酸で染色されたことから、酸性多糖と推定された。阻害活性のより強いBについて再度陰イオン交換HPLCにかけ、より緩い塩濃度勾配で溶出し、連続した6つの画分 (B1-B6) に分離した。これら6つの画分はすべて結晶化阻害活性を示した。B1-B6について、それぞれ¹H NMRを測定したところ、この画分には主に2種類の化合物が含まれることがわかった。一つは、B1-B6に共通に含まれ、他方はB4からB6になるにしたがって増加した。後者は、さらに解析した結果、すでに同種の円石藻から1992年に同定され、PS-2と命名された酸性多糖であることがわかった。前者は新規化合物と考えられたので、ココリス基質酸性多糖 (coccolith matrix acidic polysaccharide, CMAP) と命名した。CMAPの構造は各種NMR (¹³C NMR, ¹H-¹H COSY, HMQC, HMBC, HOHAHA) を測定したスペクトルの解析から図に示す構造であることが明らかとなった。すなわち、イズロン酸, メソ酒石酸, グリオキシル酸を単位とするポリマーであることが判明した。



イズロン酸 メソ酒石酸 グリオキシル酸

ココリス酸性多糖 (CMAP) の化学構造

第2章では、有機基質による炭酸カルシウム結晶形成の制御について述べている。すなわち、第1章で用いた検定法およびそれよりさらに微量で検定できる方法を開発したことについて詳しく述べている。市販のウロン酸ポリマーや酸性アミノ酸は数百 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で阻害活性を示したのに対して、第1章で単離した CMAP は 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ というきわめて低濃度で阻害活性を示した。一方、結晶誘導化条件において、B1 の画分 (CMAP) は方解石結晶を、B6 (CMAP と PS-2 を含む) はパテライト結晶を誘導した。これまで、天然の有機化合物でパテライトを誘導する化合物はほとんど見つかっておらず、材料化学の分野に新しい知見を与えるものである。

以上、本論文は円石藻の有機基質中の新規酸性多糖の精製と構造解析、さらには結晶形成に対する作用について新たな知見を提供したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。