

[ 別紙 2 ]

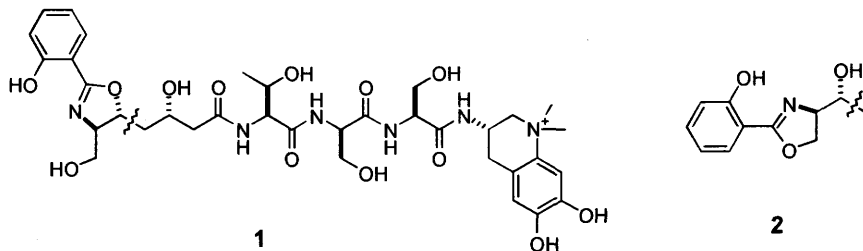
## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 伊藤裕才

近年、水中の鉄濃度が微細藻類の消長に強く関わっているとして微細藻類の鉄獲得機構が注目されている。特に原核生物である藍藻類は、酸素発生型の光合成以外に鉄酵素 *nitrogenase* を用いて窒素固定も行うため、過剰の鉄が必要とされる。藍藻類も細菌と同様にシデロフォアによる鉄獲得機構を備えるとの報告が過去に数例あり、湖沼での藍藻ブルーム形成の一因は、シデロフォアによる鉄の独占によるとの推測もなされている。しかしながら、これまで単離・構造決定された藍藻シデロフォアは僅か一例のみであり、藍藻種間のシデロフォア産生能に関しても統一的な報告はない。これらの観点から藍藻類のシデロフォア産生能の評価およびその化学的性状に関する研究を行った。

第1章では、シデロフォア産生能のスクリーニングをブルームに関わる淡水産藍藻種を中心に41株の藍藻類を鉄欠乏下で培養し、それらのシデロフォア産生能をCAS法による鉄キレート活性によって評価した。その結果、ブルームの代表種である *Microcystis* 属などの単細胞性の藍藻類は活性を示さなかった。一方、*Anabaena cylindrica*、*A. variabilis*、*Nostoc* sp.、*Scytonema hofmanni*、等の窒素固定能力をもつヘテロシスト形成糸状性藍藻は強力なシデロフォア産生活性を示した。また嫌気的条件下のみで窒素固定を行うとされる *Plectonema boryanum* 等のヘテロシスト不形成糸状性藍藻の一部も活性を示した。これはシデロフォア産生能力がブルーム形成と関係がないことを示すと同時に、窒素固定能力との強い相関を示唆するものであった。

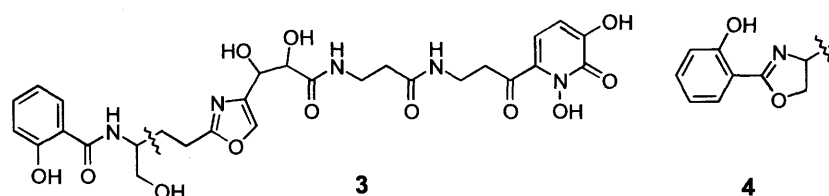
第2章では、窒素固定種の代表種である *A. cylindrica* NIES-19 の産生するシデロフォアの構造を明らかにするために、本株を鉄欠乏合成培地中で大量培養し、培地上清より ODS カラムおよび逆相 HPLC を用いて2つのシデロフォア *anachelin-2* (1) および *anachelin* (2) を単離した。両物質の平面構造は1次元および各種2次元 NMR 解析、MS 分析、アミノ酸分析を用いて決定した。



*Anachelin* 類は、これまでに他の微生物から報告されているものとは全く異なる構造をもつ新規シデロフォアであり、藍藻類が独自の構造のシデロフォアを持つことを強く示した初めての例である。

第3章では、*Anabaena variabilis* M-204 および NIES-23 よりクエン酸を中心に左右対称な構造を持つヒドロキサム酸系の既知シデロフォア schizokinen を単離・構造決定した。Schizokinen は *Bacillus megaterium* より最初に発見され、また *Anabaena* sp. PCC7120 よりも唯一の藍藻シデロフォアとして報告されている。

第4章では、*Oscillatoria tenuis* UTEX1566 の産するシデロフォアの単離・構造を行った。*O. tenuis* UTEX1566 はヘテロシスト不形成糸状性藍藻の1種である。本株を鉄欠乏培地中で通気培養を行い、濃縮したろ液より各種クロマトグラフィーを用いて oscillabactin A (3) を単離し、MS および各種 NMR スペクトル解析によりその構造を決定した。しかし、3 は oxazoline 環が加水分解物された化合物であることが強く示唆された。そこで CAS 活性を示す 100%MeOH 画分を精査したところ、3 よりも分子量が 18 小さい oscillabactin (4) の単離に成功した。NMR 解析により 4 の oxazoline 環の存在が証明され、これにより本株の真のシデロフォアは 4 であることが分かった。



以上、本研究において、藍藻種間におけるシデロフォア産生能の有無が藍藻種の窒素固定能と強く相関することが示された。またほとんど未開拓であった藍藻シデロフォアの構造解析の結果、1, 2 や 4 のように新規かつ複雑な構造を有していることが明らかにされた。これらは生態・進化の観点からみても非常に興味深い結果である。これらの成果は学術上、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。