

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 鄭 盛 充

魚介類の養殖は広く行われているが、時として赤潮発生により、多大な被害をうけることで世界的な社会問題となっている。韓国でも赤潮による養殖魚介類に対する被害が多数報告され、中でも渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides* は韓国各地で赤潮を形成し、養殖魚介類の大量斃死を引き起こしているが、同時に現場海域では海洋細菌によると推測される同種の消滅も観測されている。近年、殺藻活性を持つ海洋細菌による赤潮防除が注目されており、また生態学的にも興味深い生物間相互作用と考えられる。海洋細菌による赤潮の消滅は、細菌より分泌される殺藻物質によると推測されるが、今までに単離・構造決定された殺藻物質は高度不飽和脂肪酸を除いてはなく、その殺藻メカニズムに関する知見も少ない。

このような背景に基づき、本論文では *C. polykrikoides* の赤潮発生海域から、同種に対する殺藻細菌を分離し、殺藻物質の単離・構造決定を行ったもので、その概要は以下の通りである。

第一章では、韓国 Masan 湾の赤潮発生海域において、通年殺藻細菌のスクリーニングを行っている。*C. polykrikoides* は 9 月に優占種として出現し、10 月には消滅した。殺藻細菌は 9 月に最も増え前月の約 30 倍となり、赤潮が消滅する 10 月には大きく減少した。そこで、9 月に現場海域において殺藻細菌株の分離を行い、110 株の殺藻細菌を得ている。

第二章では、強い殺藻活性を示した 20 株を選択し、16S rDNA 塩基配列による系統分類を行った。その結果、殺藻細菌は主に Firmicutes、Actinobacteria および γ -Proteobacteria の 3 グループに属することを明らかにした。また、*C. polykrikoides* に対し最も強い殺藻活性を示した菌株は *Bacillus subtilis* と高い相同性を示し、*Bacillus* sp. SY-1 株と命名した。

第三章では、*Bacillus* sp. SY-1 の培養ろ液より殺藻物質の精製を行い、mycosubtilin 類 (1-3) を単離し、構造決定を行っている。1-3 は各々 1 mol の D-Tyr、D-Asn、L-Gln、L-Pro、D-Ser および 2 mol の L-Asn で構成されることを明らかにしている。化合物 2 および 3 は既知物質であったが、1 は新規物質であった。1-3 は *C. polykrikoides* に対してそれぞれ $LC_{50} = 2.3$ 、0.8 および 0.6 $\mu\text{g/ml}$ と強力な殺藻活性を示した。この他、6 種の渦鞭毛藻と 2 種のラフィド藻に対しても強い殺藻活性を示した。また、最も強い活性を示した 3 はその他 2 種のカビと 2 種の酵母に対しては強い増殖阻害活性を示し、2 種の藍藻には弱い活性を示したが、6 種の細菌および 4 種の緑藻には全く活性を示さなかった。

第四章では、*Bacillus* sp. SY-1 の培養ろ液より bacillamide (4) および tryptamine (5) を単離し、構造決定を行っている。各種 2 次元 NMR 解析から、4 はチアゾール環を含む新規トリプタミン誘導体であった。bacillamide と tryptamine の *C. polykrikoides* に対する殺藻活性はそれぞれ $LC_{50} = 3.2$ および 12.7 $\mu\text{g/ml}$ であった。また 4 は殺藻細菌 *Dietzia* sp. SY-2 から単離している。4、5 は渦鞭毛藻とラフィド藻に対して強い殺藻活性を示したが、類縁体の tryptophan と serotonin は赤潮生物に対してほとんど活性を示さなかった。また 4 は緑藻、藍藻、珪藻、細

菌、カビ、酵母に対しては 50 µg/ml まで全く増殖阻害活性を示さなかった。

第五章では、殺藻細菌 *Dietzia* sp. SY-2 の培養ろ液から *C. polykrikoides* に対し殺藻活性を示す新規環状ペプチド [Ile5, Asp7] surfactin (**6**) を単離し、その構造決定を行っている。**6** は 1 mol の L-Glu、L-Leu、L-Val、L-Ile、L-Asp および 2 mol の D-Leu で構成され、既知の surfactin と比べ二つのアミノ酸が異なる新規物質である。*C. polykrikoides* に対して **6** は $LC_{50} = 6.2$ µg/ml の殺藻活性を示した。また **6** は赤潮生物以外の生物には顕著な増殖阻害活性を示さなかった。

以上本研究においては、渦鞭毛藻 *C. polykrikoides* の赤潮発生海域から分離され、その消長に関与すると考えられる海洋細菌から新規化合物を含む 6 種の殺藻物質を単離し、それらの構造を明らかにした。これらの成果は学術上および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。

