

氏名(本籍)	さいとうたけし 齋藤 猛(福島県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	博甲第3102号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	<i>mlrA</i> 遺伝子を保有する細菌 <i>Sphingomonas</i> による microcystin の特異的分解に関する研究
主査	筑波大学教授 工学博士 松村正利
副査	筑波大学教授 工学博士 田中秀夫
副査	筑波大学教授 農学博士 馬場忠
副査	筑波大学教授 理学博士 山根國男

### 論文の内容の要旨

富栄養化湖沼では、有毒アオコの発生が顕在化している。このアオコは、microcystin という肝臓毒を産生することが知られており、これまでに多くの家畜やヒトへの被害が報告されている。microcystin は、環状の低分子ペプチドであるために物理化学的に極めて安定であること、既知の酸素類では分解されないことが明らかとなっている。安全な水利用を確保するためには、この microcystin の挙動を明らかにし、その因子を把握することが重要である。本論文は、microcystin の水域内での挙動に関わる重要な因子である細菌群の特異的分解能に注目し、microcystin の消滅との関係性について明らかにすることを目的として研究を行った。以下にその成果をまとめる。

まず microcystin の湖水中での消滅に特異的分解が関与することを現象論的に明らかにするため様々な条件下における湖水サンプル中での microcystin 生分解性を評価した。その結果、アオコ発生水域の細菌群は特に microcystin 分解活性が高いことが明らかとなった。また、このような水域ではサンプル内の細菌群の全生物活性(呼吸活性)あたりの microcystin 分解活性が顕著に向上していたことから、microcystin の水域での消滅にはそれに特異的な分解が関与しており、それがアオコの発生と連動して発現しているものと結論付けられた。

次に microcystin の特異的分解を司る細菌の単離を試み、さらに microcystin 分解に関わる遺伝子について調べた。その結果、霞ヶ浦のサンプルから microcystinLR 分解菌として *Sphingomonas sp.* を単離することができた。さらに、この *Sphingomonas sp.* からの既往研究で明らかにされている microcystin 分解酵素遺伝子 *mlrA* の検出を行ったところ、その相同遺伝子を有していることが明らかとなった。また、*Sphingomonas* 近縁種(依託株10株)からは *mlrA* は検出されなかったことから、地理的に隔離された2水域で microcystin に特異的な分解酵素遺伝子が分布していることが明らかとなった。

さらに、*Sphingomonas sp.* の microcystin 分解に関する酵素学的知見として、構造の異なる複数の microcystin の特異的分解メカニズムの同一性について調べ、構造の異なる microcystin は *Sphingomonas* の細胞内ではほぼ同一の酵素により分解されていることを明らかにした。

最後に、様々な水域のサンプルから *mlrA* 遺伝子の検出を試みた。その結果、いずれの水域のサンプルからも *mlrA* は検出されなかった。このとき microcystin を用いて馴養した湖水中からも *mlrA* 遺伝子は検出されなかった。このことから、自然水域での microcystin の特異的分解を司る酵素には多様性があることが考えられた。

本研究では、microcystin の消滅には特異的生分解が重要であること、また近年明らかにされた microcystin 分解

酵素遺伝子 *mlrA* が様々な水域に広く分布する可能性があること、さらに microcystin の特異的分解には多様性があり、*mlrA* 遺伝子以外に特異的分解酵素が存在することを示すことができた。今後、水域での microcystin の挙動を把握するためには、microcystin に対する特異的分解の多様性と水域での発現を明らかにすることが重要である。

## 審査の結果の要旨

近年、物理化学的処理や生物学的処理による湖水現場でのアオコ処理法が実用化されつつあるが、その処理後に有毒物質 microcystin 等が湖水中へ溶出することが懸念されている。本論文はこの有毒物質 microcystin 等の湖水中での挙動の解明にいち早く取り組み、その対策指針を与える上での基礎知見を提供したという点で社会的有用性の高い研究内容といえる。

本論文では、アオコ産生有毒物質 microcystin の水域での挙動を把握することを目的として microcystin 消滅と生分解の関係についてまとめたものである。現象論的な解析から、自然水域での microcystin の消滅には、微生物による特異的分解が強く関与していることを明らかにし、さらにその水域から microcystin 分解菌として *Sphingomonas* を単離することに成功した。また、この細菌が保有する microcystin 分解酵素遺伝子 *mlrA* は、既往の研究のものと極めて類似していることを明らかにし、この遺伝子に着目した microcystin 生分解モニタリングの可能性を見出すことができた。また、湖水細菌の microcystin による馴養過程と *mlrA* 遺伝子の関係性から、microcystin の特異的分解には *mlrA* タイプ以外の分解酵素が関与していることが示唆された。このような結果から、本論文では microcystin の挙動把握のための生分解性モニタリングの重要性を見出し、そのメカニズムに関わる遺伝子の多様性を示唆したという点においては、本分野に対し大きく貢献した研究といえる。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。