

氏名(本籍)	インティラ クッドギャウ (タイ)			
学位の種類	博士(農学)			
学位記番号	博甲第 6137 号			
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 23 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	生命環境科学研究科			
学位論文題目	<b>Isolation, Identification and Characterization of Phytotoxic Compounds from Cyanobacterium <i>Hapalosiphon</i> sp.</b> (ハパロシフォン属シアノバクテリアからの植物毒性物質の単離、同定および特性解析)			
主査	筑波大学教授	農学博士	松本 宏	
副査	筑波大学教授	博士(理学)	田中 俊之	
副査	筑波大学講師	博士(農学)	春原 由香里	
副査	筑波大学講師	農学博士	松山 茂	

### 論文の内容の要旨

シアノバクテリアは多様な二次代謝産物を産生することから、生理活性物質の探索対象として注目され、これまで多くの生物活性を有する化合物が見いだされている。それらの中には植物に対する毒性を示す化合物もあり、植物成長制御剤として開発・利用されてゆく可能性が考えられるが、抗菌作用を示す物質などと比較すると研究例は少なく、また、植物への作用機序まで解明されているものはほとんどない。シアノバクテリアのうちハパロシフォン属からの抽出液には植物成長抑制活性があることがこれまでの研究で知られているが、活性化合物の同定は行われていなかった。本研究は、生物検定と機器分析によりハパロシフォン属の植物生育抑制活性物質を単離・同定し、さらに、それらの作用機序を明らかにしようとしたものである。

液体培地 (BG-11) で培養したハパロシフォンの乾燥粉末 20 g からのメタノール抽出物について、各種カラムクロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーによる分離を行い、さらに、レタス発芽種子を用いた生物試験 (シャーレ試験および薄層クロマトグラフィーで分離した物質の活性を薄層プレート上で検定する試験) を組み合わせることにより、4つの抑制活性物質を単離した。これらのうち、より活性の高かった2つの化合物について、NMR、マススペクトロメトリー、赤外分光法などにより構造決定を行った。その結果、最も活性の高い化合物はすでに報告のある ambiguine D isonitrile と同定された。もう一方の化合物は環状のヘキサペプチド構造を持つ新規の化合物であったことから、hapalocyclamide と命名した。Hapalocyclamide を構成するアミノ酸の種類は、常法の酸加水分解およびオゾン分解処理後の加水分解物を分析することにより、さらに各アミノ酸の立体配置は、マーフィー法に従って決定した。その結果、hapalocyclamide の絶対配置を cyclo-thiazole-L-alanine-oxazole-D-alanine-D-thiazoline-D-phenylalanine と決定することができた。

Ambiguine D isonitrile および hapalocyclamide はレタス実生の茎葉部および根部の生育を濃度依存的に阻害することから、その作用機序を解析した。Ambiguine D isonitrile は分裂期に入る細胞を減少させることが明らかとなり、これが成長抑制につながっているものと推定された。また、レタス根部細胞における活性酸素

の発生増加およびこれによる膜脂質の過酸化障害の発生と死細胞の増加も観察された。さらに、この活性酸素の発生には NADPH オキシダーゼの関与が推定される結果も得た。Hapalocyclamide の作用は ambiguine D isonitrile より弱かったが、作用機序は極めて類似していることも明らかとなった。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究はタイ国で採取されたハパロシフォン属シアノバクテリア (*Hapalosiphon* sp.) が生産する化学物質のうち、植物に対して生育抑制活性を示すものに着目し、それらを単離・同定するとともに、植物への作用機構を検討したものである。抽出・分離および機器分析と、薄層クロマトグラフプレート上で活性を検定するなどの工夫した生物試験を組み合わせることにより、4つの活性物質の単離に成功している。また、活性が大きく抽出液全体の活性のほとんどを担っている2つの化合物を同定している。このうち、Ambiguine D isonitrile は既知の化合物であったが、植物への成長阻害は新たな発見である。また、hapalocyclamide は新規化合物で、しかも、D-アミノ酸を含むというユニークな構造をしていることを明らかにしている。さらに、本研究ではこれらの化合物の植物への作用機構を検討し、両物質とも植物細胞内で活性酸素産生を増加させ、細胞死を引き起こしていることを示している。

シアノバクテリアからの各種生理活性物質の探索が盛んに行われているが、植物生育抑制活性物質はこれまでほとんど明らかになっていなかった。審査においては、本研究において新規物質を含む2つの化合物を明らかにしていること、また、これらの化合物の植物に対する生育抑制活性だけでなく作用機序まで検討し、活性酸素が関与するという新規の知見を得ている点が高く評価された。Hapalocyclamide は構造の新規性から今後の利用に向けた新たな研究の展開が期待される。

平成 24 年 1 月 24 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。