

氏名(本籍)	かめ やま けい し 亀山恵司(岐阜県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第3348号
学位授与年月日	平成16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	藍藻類 <i>Microcystis</i> 属の有毒物質 microcystin 産生特性に関する研究

主査	筑波大学教授	農学博士	前川孝昭
副査	筑波大学教授	農学博士	黒田健一
副査	筑波大学教授	農学博士	小林達彦
副査	筑波大学助教授	農学博士	杉浦則夫

論文の内容の要旨

我国をはじめ世界各地の汚濁湖沼において、シアン化カリウムより強い毒性物質 microcystin を産生する藍藻類(アオコ)の異常増殖が顕在化している。これらの湖沼は農業用水・飲料水等、多目的に活用されていることから大きな社会問題となっているため、アオコおよび microcystin の発生抑制のための対策を講じることが急務となっている。しかし、アオコ形成藍藻類の代表種の一つである *Microcystis* 属の microcystin 産生のメカニズムに関しては未だ不明な点が多いのが現状である。従って、本研究では *Microcystis* 属がいつどのような条件下でなぜ microcystin を産生するのかを解明することを目的とし、富栄養化湖沼における有毒物質 microcystin 発生抑制に資する基礎的知見を得るための検討を行った。

まず、我国の代表的な富栄養化湖沼でアオコの発生が認められる水域において、microcystin 現存量の実態調査を行い、特に、夏季の *Microcystis* 属細胞が活発に増殖した時に細胞内 microcystin 含有量が最も高くなるという現象が認められたことから、*Microcystis viridis* NIES-102 を用いて回分培養実験を行ったところ、対数増殖期に細胞内 microcystin 含有量が高いことが明らかになった。このことから、細胞増殖の原単位である細胞周期に注目する必要があることがわかった。一方、湖沼の富栄養化の原因物質の一つである $PO_4\text{-P}$ 濃度の *M. viridis* の microcystin 産生への影響解析を回分培養系によって行ったところ、 $PO_4\text{-P}$ の枯渇により細胞内 microcystin 含有量が増加するという現象が認められ、細胞内 ATP の枯渇が microcystin 含有量の調節機構に対して影響することが考えられた。つまり細胞内の microcystin 含有量の調節には細胞増殖という内的要因と $PO_4\text{-P}$ という外的要因が影響していることが明らかとなった。そこで、フローサイトメーターを用いて *M. viridis* の細胞周期測定を行い、細胞周期と microcystin 産生の関係についての詳細な検討を行い、microcystin は G2/M 期 > S 期 > G0/G1 期の順で細胞内に多く含有されることが明らかとなり、S 期 ~ G2/M 期の間に microcystin 産生が活発に行われることを示した。更に microcystin 産生時期を特定するために、各細胞周期における microcystin 合成遺伝子 (*mcy*) の発現レベルを調べたところ、S 期の細胞の割合が最も高いときに *mcy* 遺伝子の発現レベルが高く、*mcy* 遺伝子は S 期に発現し G2 期までの間に microcystin が合成されることが明らかとなった。

上記の結果を鑑み、microcystin はプロテインホスファターゼ 2A (PP2A) に対して強い阻害作用を持つ

ことが知られていることから、microcystin は細胞周期中の G2 期において細胞分裂の中心的な制御因子として働くサイクリン依存性キナーゼ (CDK) とともに細胞周期制御機構におけるタンパク質活性化に関与し、CDK を介した Cdc25 のポジティブフィードバック機構によって急速な細胞分裂を引き起こすとともに、G2 チェックポイント機構を調節するための重要な役割を持つ物質であることが推定された。

このことから藍藻類の microcystin 産生を抑制することは湖沼における有毒物質の発生を抑制するだけでなく有毒藍藻類の増殖をも抑制し、結果としてアオコそのものの低減化が可能であると期待できる。今後は S 期における *mcy* 遺伝子発現の転写因子を特定し、その阻害物質を探索・開発することが課題である。

審 査 の 結 果 の 要 旨

これまで、湖沼における microcystin の発生を予防・抑制する対策として、溶存する窒素およびリンの削減が重要であると考えられてきた。確かに、窒素の削減は細胞の増殖および microcystin 産生を抑制する効果が認められたが、細胞周期が microcystin 産生には大きく関与していることがわかった。リンに関しては濃度の減少が逆に細胞内の microcystin 含有量を増加させるという新たな知見が得られ、今後、湖沼水質管理指針の是正が求められると考えられる。さらに、当研究は藍藻類の microcystin 産生と細胞増殖(細胞周期)の関係に言及した世界的にも初めての例であり、藍藻類細胞内における microcystin の役割と挙動について詳細に考察し、microcystin 産生抑制が有毒アオコそのものの低減化に資することを理論的に導き出している。また、当研究の成果は今後の microcystin 産生に係る転写因子特定のための研究や藍藻類の microcystin 産生阻害物質の開発を促進する基盤となり、その貢献度は高い。

以上のように、本研究はアオコ形成藍藻類 *Microcystis* 属の有毒物質 microcystin 産生特性に関する基礎的知見を得ており、湖沼の水環境改善に寄与するだけでなく学術的にも価値の高い研究であると判断した。

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。