

論文審査の結果の要旨

報告番号	博（水・環）甲第 26号	氏名	姜 珊 珊
学位審査委員会		主 査	荒 川 修
		副 査	桑 野 和 可
		副 査	阪 倉 良 孝
		副 査	高 谷 智 裕
<p>・論文審査の結果の要旨</p> <p>姜 珊珊氏は、2011年3月に中国大連海洋大学を卒業後、同年4月に長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科博士課程（5年一貫制）に入学し、現在に至っている。同氏は、同研究科において海洋フィールド生命科学を専攻して所定の単位を修得するとともに、貝毒産生藻類の培養および成長／増殖と毒産生に及ぼす環境要因の影響に関する研究に従事し、その成果を2016年12月に主論文「<b>Studies on Growth and Toxin Production of Several Toxic Algae</b>（数種有毒藻類の成長／増殖と毒産生に関する研究）」として完成させ、参考論文として、学位論文の印刷公表論文2編（うち審査付き論文2編）、印刷公表予定論文1編を付して、博士（海洋学）の学位を申請した。長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科教授会は、2016年12月14日の定例教授会において論文内容等を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、上記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施するとともに、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を2017年2月15日の水産・環境科学総合研究科教授会に報告した。</p> <p>提出論文は、有毒藻類における毒の産生機構や生理機能解明に資するため、麻痺性貝毒（PST）産生渦鞭毛藻 <i>Alexandrium catenella</i> (Ac) を対象に、継代培養や培地中の微量金属、単色光の照射が増殖と PST 産生に及ぼす影響について検討するとともに、記憶喪失性貝毒ドウモイ酸（DA）とその関連物質カイニン酸（KA）を保有する紅藻ハナヤナギとマクリにつき、これまで前例のない単藻培養を試みたものである。</p> <p>まず、長崎県五島列島より単離した Ac 株につき、改変 SWM-III 培地中、温度 20℃、光強度 60 <math>\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}</math> (12L/12D) で継代培養し、HPLC 蛍光分析で毒量と毒組成を調べたところ、天然細胞、第 1、第 2、および第 3 代培養細胞の毒量は、それぞれ 646、50、12、および 15 fmol/cell で、継代培養により産生毒量が大きく減少することがわかった。</p>			

毒組成にも変化がみられ、C1-4、GTX1,4、GTX5 から成るよりシンプルな組成となった。一方、Ac を SWM-III 培地から微量金属を除いた培地で培養したところ、増殖に際立った変化は認められなかったが、産生毒量は2倍以上に増加した。

次に、五島産 Ac 株につき、改変 SWM-III 培地中、温度 20°C、光強度 80  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  (12L/12D) で青色 (470 nm)、緑色 (530 nm)、または赤色 (660 nm) LED を照射する実験を行った。その結果、細胞密度 (Cd) は青で急速に、赤で緩やかに増加したのに対し、細胞体積 (Cv) は青で次第に減少し、赤で増加した。緑では、Cd は赤、Cv は青に類似した推移を示した。単位培地量当たりの総バイオマス (Cv  $\times$  Cd) は青と赤で同程度に増加した。毒産生をみると、1 細胞当たりの毒量、細胞中の毒の濃度、および単位培地量当たりの毒量のいずれも赤で最も高く、次いで緑、青の順となった。バイオマスの増加が同程度であるにもかかわらず、Ac は青色光より赤色光を受けた方がより多量の毒を産生することがわかった。

次いで、鹿児島県花瀬崎で採取したハナヤナギにつき、葉状部小枝先端を 0.1 mm 程度切り取り、改変 PES 培地、ならびにその組成を改変した種々の培地を用いて単藻培養を試みた。その結果、ハナヤナギは、mPES 培地より、微量金属または Mn 非添加の mPES 培地で良好な成長を示したことから、本藻では過剰の Mn が成長阻害因子として作用するものと推察された。次いで、異なる 3 濃度で栄養塩を添加した N·P·Fe 培地でハナヤナギを培養したところ、相対濃度 50% で最もよく成長した。各培養藻体の DA 含量を LC-MS で測定したところ、天然藻体の 4-5 倍 (2273-3308  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) に達することがわかった。プールした培養藻体から分離・精製した DA の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは、既報のスペクトルとよく一致した。

最後に、鹿児島県花瀬崎もしくは沖縄県石垣島で採取したマクリにつき、葉状部小枝先端を切り取り、mPES、N·P·Fe、および栄養塩無添加の 3 種の培地で単藻培養したところ、本藻は、過剰の Mn に対する感受性を示さず、mPES 培地中で良く成長した。各培養藻体の KA 含量 (1748-2378  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) は、天然藻体 (1562  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) より若干高く、培養藻体から分離・精製した KA の  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルは、既報のスペクトルとよく一致した。一方、mPES の  $\text{NaNO}_3$  を  $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$  で置き換えた培地 ( $^{15}\text{N-mPES}$ ) でマクリを培養したところ、藻体中の総測定 KA 量に対する  $^{214}\text{KA}$  量の割合は、培養開始時の 0.1 から次第に増加して 6 週間後には 2.5 に達した。

以上のように、論文は、貝毒産生藻類の成長／増殖と毒産生に及ぼす環境要因の影響や紅藻類の培養手法に関わる新たな発見と有意義な知見を含んでおり、関連分野に大きく寄与するものと考えられ、高く評価できる。

学位審査委員会は、藻類学、海洋生命科学、水産学、生化学等の進歩発展に貢献するところが大きく、博士 (海洋科学) の学位に値するものとして合格と判定した。