

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 吉村 航

スサビノリ(*Pyropia yezoensis*)を用いたノリ養殖は日本各地で行われており、その経済規模は大きい。近年、ノリ養殖においては生育途中のスサビノリ葉状体が著しく褪色する現象である「色落ち」が大きな問題になっている。ノリを原料としてつくられる乾ノリの価格はその色によって大きく左右され、色の薄い乾ノリは価格が低いことから、色落ちはノリ養殖に大きな経済的損失をもたらす。そのため、色落ちの原因の解明と対策が求められてきた。以前より、色落ちの原因として、必須栄養素の欠乏が有力視されてきたが、議論は決着しておらず、また色落ちのメカニズムについては解明されていない。そこで本研究では色落ちの原因を栄養欠乏と仮定し、海洋中で特に不足しやすい栄養素である窒素、リン、鉄に着目した。本研究は栄養欠乏によって生じる色落ちのメカニズムの解明を試み、またスサビノリの栄養状態を評価する方法を開発し、それを養殖ノリに適用することで、色落ちの原因について新しい知見を得たものである。

第 1 章の序論では、スサビノリについて概説し、研究の背景となるノリの色落ちと海水中の栄養塩との関連について説明した。また、スサビノリの培養に関する方法や手順についてまとめた。

第 2 章ではスサビノリ葉状体を窒素、リン、鉄の欠乏条件下で培養し、それらの栄養欠乏によって葉状体に色調の変化が生じること、光合成色素であるフィコエリスリン、クロロフィル a の含量が低下することを確認した。また、アンモニア態の窒素を含む培地や、窒素とリンが両方欠乏した培地で培養による葉状体の色調の変化についても観察を行った。また、逆相高速液体クロマトグラフィーによって、窒素欠乏をかけた葉状体の 1 M 酢酸抽出液中に特異的に観察される、極大吸収波長を 265 nm にもつ 2 つのピークを見出した。これらのピークのうち 1 つを分取し、TOCSY NMR を用いてこのピークに含まれる物質の構造決定を試みた。構造の決定には至らなかったものの、部分構造に関する情報が得られ、物質の同定への足掛かりを得た。

第 3 章ではスサビノリ葉状体の栄養欠乏の指標となる遺伝子を探索した。他の生物種での先行研究から、窒素、リン、鉄の取り込み及び同化に関与していると考えられる遺伝子について、スサビノリのゲノムデータベース中から相同性の高い遺伝子を検索した。それらの遺伝子の発現解析を、定量 PCR を用いて行った。その結果、窒素欠乏では、硝酸トランスポーター、硝酸還元酵素、アンモニアトランスポーターの相同遺伝子が、リン欠乏ではリン酸トランスポーター、アルカリフォスファターゼの相同遺伝子が、鉄欠乏では高親

和性鉄(III)トランスポーター、鉄同化タンパク質、鉄酸化酵素の相同遺伝子の発現がそれぞれ、特異的に誘導されることが明らかになった。これにより、スサビノリの窒素、リン、鉄の欠乏に対する遺伝子発現応答について基本的な知見を得るとともに、栄養状態の指標となる遺伝子を特定することに成功した。

第4章では、スサビノリ葉状体中の代謝産物に着目し、栄養欠乏時の代謝産物の変動を解析した。 ^1H NMRによる粗抽出液のメタボローム解析から、窒素欠乏によるクエン酸の蓄積が明らかになった。また ^{31}P NMRによるリン化合物の解析では、リン欠乏により、無機リン酸、ポリリン酸の濃度が低下することが明らかになった。さらに、アミノ酸組成分析装置により遊離アミノ酸の含量を分析したところ、窒素欠乏ではアラニンやグルタミン酸などの主要な遊離アミノ酸の濃度が低下すること、微量アミノ酸においてはロイシン、メチオニン、リジンなどが蓄積することが明らかになった。一方、リン欠乏ではシステイン、シスタチオニンなどが蓄積することが明らかになった。

第5章では、第2章から第4章までの知見を踏まえて、実際の養殖場から採取したスサビノリ葉状体の分析を行った。千葉県富津沖の養殖場にて、経時的に3回のサンプリングをおよそ一月おきに行なった。3サンプルのうち目視でもっとも色が薄いサンプルで、光合成色素含量がもっとも低かったことから、これを色落ちノリと考えた。遺伝子発現を解析したところ、色落ちノリでは無機リン酸トランスポーター、アルカリフォスファターゼの発現が他の2サンプルに比べて高いことが明らかになった。また、遊離アミノ酸分析ではシステイン、シスタチオニンの蓄積が認められた。さらに、 ^{31}P NMRによるリン化合物の分析では、ポリリン酸の消失と、無機リン酸含量の低下が認められ、硝酸分解とICPによる測定から全リンの量も低いことが確認された。これらのことから、この色落ちサンプルではリン欠乏が生じていると結論付けた。

第6章で研究の総括と、今後の展望について議論を行った。

以上本研究は、実験室系においてスサビノリの栄養欠乏に対する生理的応答を分析することで、スサビノリの栄養状態を評価する種々の因子を特定し、それらの評価方法を用いて実際の養殖ノリを分析したことで、養殖ノリにおける色落ちについて、栄養欠乏の関与を示す結果を得た。これらの成果は紅藻の生理的応答に関して理解を深めるものであり、ともに、今後のノリ養殖においても色落ち対策につながるものであり、学術上、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）の論文として価値あるものと認めた。