



Title	Bioactivities of extracellular pigments produced by cyanobacteria
Author(s)	Susilaningsih, Dwi
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44134
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	SUSILANINGSIH DWI スシラニンシ－ ドゥイ
博士の専攻分野の名称	博士（薬学）
学位記番号	第 17785 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 薬学研究科生命情報環境科学専攻
学位論文名	Bioactivities of extracellular pigments produced by cyanobacteria (ラン藻が生産する細胞外色素の生物活性に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 宮本 和久 (副査) 教授 八木 清仁 教授 小林 資正 教授 那須 正夫

論文内容の要旨

原核光独立栄養生物であるラン藻は、陸上植物にはない構造および生物活性を有する二次代謝物質を生産することから、医薬品や農薬などの原料となる新規物質の探索源として注目されている。これらの代謝物質の自然界での生理的な役割についてはほとんど研究されていないが、その一部、特に細胞外へ放出される物質については、捕食者や栄養競合生物などに対する毒性物質やアレロケミカルとして作用すると考えられている。

我々は、これまで生物資源の宝庫である東南アジア由来のラン藻を対象として、新規生物活性物質の探索研究を行ってきた。この研究の一環として、タイおよびインドネシアで採集された淡水性のラン藻 *Nostoc spongiaeforme* TISTR 8169 および *Oscillatoria* sp. BTCC/A 0004 が、紫色およびピンク色の色素を細胞外へ放出することを見出した。そこで本研究では、これらの色素の自然界での生理的な役割の解明に向けた基礎的な情報の収集と、新規生物活性物質としての有用性の評価のために、以下の検討を行った。

- 1) *N. spongiaeforme* が生産する紫色素の生物活性とその作用機序
- 2) *Oscillatoria* sp. が生産するピンク色素の界面活性物質としての特性
- 3) 上記ピンク色素の生物活性とその生産に対する培養条件の影響

まず、*N. spongiaeforme* が生産する紫色素、nostocine A の生物活性について検討したところ、数種のラン藻および緑藻に対して増殖抑制作用を示した。また、代表的な水田の雑草であるタイヌビエの根に対する伸長抑制作用、代表的な害虫であるオオタバコガに対する摂食抑制作用およびマウスに対する急性毒性が認められ、特に摂食抑制作用と急性毒性は非常に強いものであった。*N. spongiaeforme* の nostocine A 生産に対する培養条件の影響について調べた結果、温度の上昇、照射光の強度の上昇および過酸化水素の添加によって有意に生産が促進された。さらに、nostocine A を NaBH₄ により還元した後、空気酸化するとともとの物質に戻ることが明らかとなり、またこの再酸化の際に活性酸素の一種であるスーパーオキシドラジカル (O₂[·]) が生成することが確認された。以上の結果から、nostocine A は、*N. spongiaeforme* が酸化ストレスに曝された場合に生産され細胞外へ放出されるストレス応答物質であると考えられる。また nostocine A は、他の生物の細胞へ取り込まれ生体内で還元されると直ちに酸素と反応して O₂[·] を生成すると考えられるため、nostocine A の生物活性は、この O₂[·] あるいはこれから派生する他の活性酸素が細胞に傷害を与えたことに起因するものと考えられる。したがって本色素は、その生育環境において、捕食者や

栄養競合生物に対して毒性物質あるいはアレロケミカル様物質として機能していると考えられる。

次に *Oscillatoria* sp. が生産するピンク色素については、種々の定性試験の結果、分子量 10 kDa 以上の複数のリポタンパク質から成ることが示された。本色素は種々の界面活性物質としての特性を有し、特に炭化水素や高級脂肪酸に対する乳化活性は、対照物質として用いた Triton X-100 と同等の強いものであった。したがって本色素は、環境浄化や農業生産の分野での利用価値が高い生物由来の乳化活性物質、いわゆる bioemulsifier として有望であると考えられる。

本色素の生物活性について調べたところ、一部のラン藻や緑藻などの微細藻類、細菌やタイヌビエに対して弱い増殖抑制作用を示した。増殖が最も強く抑制された *Euglerna gracilis* については、色素添加により著しい溶菌が認められたことから、本色素の増殖抑制作用は界面活性の特性のひとつである溶菌活性によるものであると考えられる。次に、本色素の自然界での生理的役割について検討するために、*Oscillatoria* sp. を東南アジアで一般的に認められる数種のラン藻および緑藻と共に培養したところ、*Anabaena variabilis* および *Anabaena cylindrica* との共存により色素生産が強く促進された。また *A. cylindrica* については、細胞を分子量 7,000 以上の分子を通さない透析膜で隔離して共存させた場合、さらにその定常増殖期の培養液を濃縮して添加した場合にも同様に色素生産が促進された。これらの結果は、*A. cylindrica* から分子量 7,000 以下の何らかのシグナル物質が放出され、これに応答して *Oscillatoria* sp. の色素生産が促進されたことを示唆するものである。したがって本色素は、特定の生物の存在に応答して生産が促進されるアレロケミカル様物質として機能すると考えられる。

以上の研究により、東南アジア産の 2 種のラン藻からそれぞれユニークな特性を有する新規色素を発見し、さらにそのアレロケミカルとしての生理的役割を解明する上で有用な知見を得た。これらの成果は、今後当該色素の農業生産や環境浄化などへの応用へ向けた研究の展開を図る上で、有益な基礎情報となると考えられる。

論文審査の結果の要旨

ラン藻は、原核生物としての特徴をもつ微細藻類で、多様な環境に棲息しているので、新規生物活性物質の探索源として注目されている。本研究は、生物資源の宝庫であるタイおよびインドネシアで採集された淡水性のラン藻 *Nostoc spongiaeforme* および *Oscillatoria* sp. が、それぞれ紫色およびピンク色の色素を細胞外へ放出することを見出し、それらの生物活性を探査し、生態系における生理的役割について検討したものである。

N. spongiaeforme の紫色素 (Nostocine A) の生産が、温度、光強度および過酸化水素添加によって有意に変動することを認めた。この色素が、数種のラン藻および緑藻に対して増殖抑制作用を示し、また、タイヌビエの根に対する伸長抑制作用、オオタバコガに対する摂食抑制作用、マウスに対する急性毒性など、広い範囲の生物活性を示すことを見出した。さらに、この色素は酸化ストレス負荷によって生産され、細胞外へ放出されるストレス応答物質であることを示唆する実験結果を提示している。

Oscillatoria sp. が生産するピンク色素については、分子量 10 kDa 以上の複数のリポタンパク質から成り、炭化水素や高級脂肪酸に対する高い乳化活性をもつことを示した。また、*Euglerna gracilis* に対する高い溶菌活性を認め、bioemulsifier としての利用の可能性を示唆している。次に、本色素の自然生態系における生理的役割について検討するため、*Oscillatoria* sp. を数種のラン藻および緑藻と共に培養した。*Anabaena variabilis* および *Anabaena cylindrica* との共存により色素生産が強く促進されたことから、特定の生物の存在に応答して生産されるアレロケミカル様物質として機能する物質であると考察した。

以上のように、本論文は、ラン藻が生産する新規色素のアレロケミカルとしての生理的役割についての基礎的な情報を探査しており、環境浄化や農業生産への応用を図る上で有用であると認められる。よって、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。