

# 助成年度：平成3年度

[所属] 都立衛生研究所  
[役職] 主任研究員  
[氏名] 渡辺真利代 (他計5名)

[課題]

## 水の華を作る藍藻に含まれる有毒化合物の生産及び分解に影響する環境要因の解析

[内容]

各地の富栄養化した湖沼でアオコを作る藍藻 *Microcystis* 属には肝臓毒素として作用するペプチド *microcystin* を生産するものがあり、特にその水の利用に際しては人体への影響も憂慮されている。しかし、この毒素が生産される条件及び環境中での毒素の動態についてはほとんど明らかにされていない。そこでこの毒素の生産と分解に影響する環境条件を明らかにするため、諏訪湖での毒素生産種の消長の解析を含め環境中での毒素の動態の追跡を以下のように行った。

### [1] *Microcystis* の分解実験

水の華消失時など藻体が分解される時の *microcystin* の挙動を知るため、細胞を暗条件下に置き、細胞の分解に伴う *microcystin* の溶出を測定した。その結果、実験開始細胞中にあった毒素は細胞数の減少に伴いそのまま変化せず培養液中に溶出し、その後細菌による分解を受けることが判明した。また、分解される速度は *microcystin* の成分により異なることが明かとなった。

### [2] 毒素分解菌の単離

諏訪湖底泥に生息する細菌及び諏訪湖から分離した *M. aeruginosa* に共存する細菌から毒素分解菌の単離を行ったところ、後者から2種類の *Pseudomonas* 属と考えられる細菌を分離した。これらの細菌の分解による *microcystin* の分解産物は3成分検出されたが、その化学構造、毒性との関係について検討中である。

### [3] *Microcystis* 毒素の分解実験

自然界での *microcystin* の無毒化への経路を明らかにするため毒素の分解に対する環境要因の影響を検討した。pH1、5、7、9の条件下で、5、20、40℃に温度変化させたところ、40℃の条件でpH1及び9の場合に毒素の減少が顕著であり、毒素は低温の酸性条件では安定であることが判明した。また、蛍光灯照射、自然光の影響を調べたところ、光による分解を受け易いことも明かとなった。

### [4] *Microcystis* 毒素の生産に影響する環境要因の検討

(1) 毒素生産に及ぼす光の影響：3種の毒素を生産する *M. viridis* を2,000luxと5,000luxの条件に置き成長に伴う毒素量の変化をみたところ、最高値には同時期になったが、毒素量は5,000luxの条件下のほうが1.5倍多くなった。また、*microcystin* YRの最高値は*microcystin* LR, RRよりも後れて測定された。

(2) *microcystin* の幾何異性体の生産：自然の *Microcystis* 細胞中にはAddaのジェン部分が幾何異性であり、無毒の成分である6(z)-Adda *microcystin* が含まれているが、これの生産に及ぼす要因の解析をもとの *microcystin* との関連で調べた。暗条件下、蛍光灯照射下、自然光下に *microcystin* LR を静置した時、前二者に比較し自然光下においたもので、*microcystin* LR の減少と6(z)-Adda *microcystin* LR の増加がみられ、この反応は水溶性色素、chlorophyll a 等の色素添加により促進された。特に、水溶性色素の添加により6(z)-Adda *microcystin* LR の生産は促進され、5mg/l の添加で一週間後に *microcystin* LR と異性体の比が1:1となった。

### [5] 環境中での毒素の挙動

(1) 諏訪湖における *Microcystis* 属の種類組成と毒素組成の変化：諏訪湖において'92年4月から10月の10日毎に、*Microcystis* 属を *M. viridis* (MV)、*M. wesenbergii* 及び *M. aeruginosa* を S と L の2つの分類群 (MAS, MAL) に分けこれらの組成を毒素組成の変化とともに測定した。その結果、5月には MAL と MV が同程度の割合で観察されたが、その後 MV の割合が著しく増加し、9月10日では94%を占めた。これ以後、MV の割合の減少に伴い MAS の増加が顕著であった。細胞の毒素含量は7月20日にピークとなった後、真夏には一旦減少したが、再び9月から10月にかけて増加し、10月20日に最も高い値となった。この時の種組成は MV72%、MAS20% の構成となっていた。

(2) 水中における microcystin 類の検出：諏訪湖と霞ヶ浦において湖水をろ別し、ろ液に溶出している microcystin 量を測定した。霞ヶ浦で7月から9月にかけて測定した結果では、いずれも定量限界以下であった。しかし、諏訪湖では10月に入って  $3.6 \mu\text{g}/\text{L}$  測定されており、水の華消失時との関連が示唆された。

(3) 動物への毒素の移動：microcystin が食物連鎖を通して動物体へ移動するものか明らかにするため、諏訪湖で採取した貝について分析した結果、ドブガイから microcystin RR を検出した。

#### [6] 藍藻に含まれる生理活性物質の検索

(1) *Microcystis* 属からの溶血性物質の単離：*Microcystis* 属の自然及び培養藻体に溶血反応がみられたため、培養した *M. aeruginosa* からこの物質を単離し、GC/MS により構造を決定した。その結果溶血性物質は主にパルミトレイン酸、リノール酸及びオレイン酸の不飽和脂肪酸群であることが判明した。

(2) *Microcystis* 属が生産する microcystin 以外の物質の単離：*Microcystis* 属の生産する肝臓毒以外の物質が microcystin の作用を促進している可能性があるため、他のペプチド化合物の検索を行った。その結果、*M. aeruginosa* 2株から分子量 1044, 1048, 1145, 1149 の4種のペプチド化合物 aeruginopeptin を単離し、2次元 NMR を用いてその構造を決定した。