（様式第３号）

論　文　要　旨

論　文　題　目

Biological analysis of relationship between sponge genus *Haliclona* and soft coral genus *Sarcophyton*

(海綿*Haliclona*属・ソフトコーラル*Sarcophyton*属と含有二次代謝物に関する研究)

This study presents the biological analyses of secondary metabolites produced by marine organisms. Its main objective was to consider relationships between classification of organisms and their chemical contents (secondary metabolites). Sponge and soft coral species were chosen as targets. In order to verify the relationship between *Haliclona* sponge and its secondary metabolites, organic compounds including novel compounds were extracted from the sponge. Success was difficult, because the presence of novel compounds resulted in a high amount and diversity of chemical contents. Therefore, Chapter 2 dealt with the characterization of the novel compounds isolated from the sponge. In the following chapters, soft corals were chosen as target material, as they had a simpler variety of secondary metabolites compared with sponges.

In Chapter 2, a novel compound from a sponge was characterized. A new polyunsaturated brominated fatty acid 1 possessing acetylenic bonds was isolated from the Indonesian sponge *Haliclona* sp. The structure of the fatty acid 1 was elucidated using NMR and mass spectroscopic techniques. It showed cytotoxicity against cultured cells with IC_{50} values of 36 μg/mL.

In Chapter 3, the study focused on the relationship between the diversity of the soft coral genus *Sarcophyton* and secondary metabolites in Okinawa. In order to understand this relationship, *Sarcophyton* specimens from Okinawa, Japan, were examined by utilizing three methods: morphological examination of sclerites, chemotype identification, and phylogenetic examination of both *Sarcophyton* and their endosymbiotic *Symbiodinium* spp. Chemotypes, molecular phylogenetic clades, and sclerites of *Sarcophyton trocheliophorum* specimens formed a clear and distinct group. *Sarcophyton glaucum* was divided into four clades. A characteristic chemotype was observed within one of the phylogenetic clades of *S. glaucum*. Identities of symbiotic algae *Symbiodinium* spp. had no apparent relation to chemotypes of *Sarcophyton* spp.

In Chapter 4, I aimed to verify whether compound types vary within the same *Sarcophyton* species in different environments by examining specimens from Okinawa and Indonesia. In the results, *S. trocheliophorum*, the "mixed" and "F" clades of *S. glaucum* had different compound types at different sites. The "mixed" clade, which includes *Lobophytum* and *Sarcophyton* specimens, previously erected based on molecular phylogenetic analyses of *msh1* sequences, was divided into two well-supported groups with *COI* sequences.

The findings of this study are an important first step to tackle the chemical ecology and accurate classification of the soft coral genus *Sarcophyton*. Understanding of the relationships between organisms and their secondary metabolites is necessary for understanding the ecosystems of the marine environment.

氏　名　　荒武　里衣

（様式第５－２号）課程博士

平成 25 年 2 月 15 日

琉球大学大学院
理工学研究科長　殿

論文審査委員
主査　氏　名　　前川　秀彰　　印
副査　氏　名　　酒井　一彦　　印
副査　氏　名　　田中　淳一　　印
副査　氏　名　　James Davis Reimer 印

学位（博士）論文審査及び最終試験の終了報告書

学位（博士）の申請に対し，学位論文の審査及び最終試験を終了したので，下記のとおり報告します。

記

申　請　者	専攻名　海洋環境学　氏名　荒武　里衣　　学籍番号 [redacted]	
指　導　教　員　名	前川　秀彰	
成　績　評　価	学位論文　(合格)　不合格	最終試験　(合格)　不合格
論　文　題　目	Biological analysis of relationship between sponge genus *Haliclona* and soft coral genus *Sarcophyton*（海綿 *Haliclona* 属・ソフトコーラル *Sarcophyton* 属と含有二次代謝物に関する研究）	

審査要旨（２０００字以内）

海洋生物由来の二次代謝産物は、医薬品としての利用を目指し、多くの天然物化学研究が行われている。申請者は多くの化合物が見出されている海綿から新規化合物を発見し、その同定・解析、活性試験を行った。海洋生物にとって二次代謝産物は、摂餌行動・防御行動・生物保全などの生物間コミュニケーションに使用されていると考えられている。そのため、二次代謝産物は、海洋生物の生態系に深く関与していると推測される。しかしながら、海洋生物や生態系に対する二次代謝産物の役割を明らかにした研究は、化合物の同定や構造解析に比べ少ない。更に、二次代謝産物のタイプとそれを含む海洋生物種の関係は、曖昧である。そこで申請者は本研究で、サンゴ礁の主要構

審査要旨

成種である海綿*Haliclona*属とウミキノコ*Sarcophyton*属に着目し、1. 新規生理活性物質の単離、2. 今まで多用されていない分子系統解析法の利用、3. 統計処理による形態分類法の導入、4. 二次代謝産物の化合物タイプのNMR法の解析により、相互の関連性を総合的に検討し、二次代謝産物の役割を探った。

まず*Haliclona*属より、新規生理活性物質を単離しNMR等により構造を決定し抗癌活性を測定し、精製の手順を確立した。*Sarcophyton*属は、特徴的なセンブレン骨格をもつジテルペノイドの多様なタイプを含有することが知られている。また1個体に含まれるジテルペノイドの含有量が多いため、この二次代謝産物が *Sarcophyton* 属にとって重要な物質であると予測した。従来、海洋生物の二次代謝産物の多くは、共生する褐虫藻や、食物連鎖で捕食した微細藻類が産出する例が多い。*Sarcophyton* 属は褐虫藻を体内に取り込み、共生関係を保持している。そのため、*Sarcophyton* 属の多様な化合物タイプは、褐虫藻に由来していると考えられてきた。しかし、多様な化合物タイプと種の関係性を今までは確認できなかった。申請者は、1種とされた *S. glaucum* が前述の分子系統解析で多数の clade に分かれた報告が出たことから、いち早くこの方法を取り入れ、分かれた clade と化合物タイプの関係を調べることが重要であると考えた。

沖縄産ソフトコーラル *Sarcophyton* 属について解析した結果、大変興味深いことに、褐虫藻の分子系統解析と化合物タイプは、関連性がないことが明らかになった。これは、従来の常識を覆す結果であった。さらに *Sarcophyton* 属分子系統解析と化合物タイプの比較の結果、従来の結果と異なり *S. glaucum* の F clad
は、各 clade と化合物タイプに関連性を確認したことで新たな発見となった。次に *S. glaucum* の clade B・D・F の骨片を統計解析した結果、各 clade 間で有意差を確認した。分子系統解析と形態解析の結果から、*S. glaucum* は種分類の再検討が必要であることが示唆され、従来分類に問題ありと考えられていた答の一つを提示したことは大きい功績である。

次に、地域差の違いを確認するため、沖縄とインドネシア産の *Sarcophyton* 属について解析した。異なる地域の *Sarcophyton* 属の分子系統解析と化合物タイプの比較は、*S. trocheliophorum*、*S. glaucum*、mixed clade で、化合物タイプに地域差がある事を確認した。最後に、*Sarcophyton* 属の *msh1* マーカーでは、1つのクレードであった mixed clade が、*COI* マーカーでは、2つの大きな clade に分けられた。当初 *msh1* が有利と考えたがオールマイティーではなく、他のマーカーを併用することでより正確な分類ができることを示した。ここでも骨片の統計処理を併用することが有効な方法であることを示したことは意義がある。

申請者は常に斬新な方法論を取入れ、またそれを積極的に進めることで従来曖昧であった結果に一石を投じている。これは、たゆまぬ探究心の表れであり研究者としての必要な資質である。技術的にも、NMR、走査型電子顕微鏡、光学顕微鏡の解析ソフト、シーケンサを使いこなし、組換えDNA実験技術、分子系統解析法に精通している。本研究は、新規性、学術性ともに高く将来的に更なる研究の発展が見込まれる。申請学位論文を各審査委員が熟読した後、学位論文審査を行った結果、審査委員の全会一致で申請学位論文の成績は充分に「合」に値するという結論に至った。

平成25年2月15日15時から最終試験を理学部理系複合棟102教室において行った。試験は40分の口頭発表と論文審査委員も含め20分の質疑応答により行った。申請者は質問に対し的確な回答をするとともに、特に目標と結果の差について、今後の検討が必要であるとのコメントに対し、すでにトランスクリプトーム解析を進めていることを報告することにより適切な答えとした。学位論文の内容に関しても充分な専門的知識を習得していることが伺えた。

申請者は「琉球大学大学院理工学研究科博士課程後期の学位授与に関する申し合わせ」及び「海洋環境学専攻における学位授与に関する申し合わせ」のうち生物学分野の規程（査読付き論文2報以上、うち一つ以上を第一著者とする）を満たしている。申請論文及び学力試験の内容に関し、平成25年2月15日16時より学位論文審査委員会を改めて開催し、全会一致で本申請学位（博士）論文を「合格」と判定した。