

[別紙 2]

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 カーン ムナワール アリ

本論文は活性汚泥中におけるバクテリオファージの存在について基礎的な検討を行ったものである。活性汚泥は下廃水を処理する際に用いられる、さまざまな細菌や原生動物等からなる微生物の集塊である。活性汚泥中の細菌の種構成や役割について検討しようとする研究が近年非常に活発におこなわれている。活性汚泥中の細菌に寄生するバクテリオファージも存在すると思われ、処理水質や細菌の種構成にも大きな影響を与えている可能性があるが、しかしながらそうしたバクテリオファージに関する研究はこれまでほとんど行われてこなかった。本研究では、活性汚泥中の細菌に寄生するバクテリオファージを単離すること、そしてそれらの宿主域や宿主との関係を明らかにすることを中心に、活性汚泥中におけるバクテリオファージの役割を明らかにしようとしたものである。

本論文は「ISOLATION, CHARACTERIZATION OF BACTERIOPHAGES AND THEIR POTENTIAL SIGNIFICANCE IN THE ACTIVATED SLUDGE PROCESSES (活性汚泥からのバクテリオファージの単離とその性質、およびバクテリオファージが活性汚泥に及ぼす影響)」と題し、8章からなる。

第1章は「はじめに」であり、本研究の背景および目的について述べている。

第2章は「既往の研究」であり、活性汚泥プロセス中のバクテリオファージに関する研究の他、海洋や湖沼など他の環境中のバクテリオファージに関する研究についてレビューしている。

第3章は「方法」であり、第4章から第7章について共通する実験方法について述べている。

第4章は「活性汚泥プロセスからの細菌及びバクテリオファージの単離である。ここでは活性汚泥からバクテリオファージを単離する方法について検討しており、活性汚泥から単離した45株の細菌のうち25株についてバクテリオファージが存在することを見いだした。実験室で人工下水を用いて馴致した活性汚泥からも多くのバクテリオファージが得られたことから、活性汚泥の常在細菌にも寄生するバクテリオファージが存在することがわかった。

第5章の「活性汚泥から単離されたバクテリオファージの宿主域」では、第4章で単離したバクテリオファージおよび宿主細菌を用いて、バクテリオファージの宿主域について検討した。21株のバクテリオファージについて検討した結果、複数の宿主にプラークを

形成するバクテリオファージが多数見いだされ、そのうち8株はグラム陽性と陰性の双方にプラークを形成した。

第6章の「蛍光染色バクテリオファージ法に関する検討」では蛍光染色したバクテリオファージを用いて宿主域について検討する方法（FLP法）について基礎的な検討を行った。バクテリオファージ1株について検討したのみであったが、プラーク法で確認された宿主域とFLP法により確認された宿主域は、若干の違いは見られたもののほぼ一致していた。また、蛍光染色したバクテリオファージを活性汚泥に適用した結果、特異的に染色される菌が見いだされた。しかし、その形状はもとの宿主とは異なっていた。

第7章の「活性汚泥から単離された細菌の溶原性」では活性汚泥から単離された細菌に抗生物質（mitomycin C）を適量作用させ、溶原化しているバクテリオファージの存在の可能性について検討した。15株の細菌について検討した結果、14株からDAPIで染色される粒子が細菌から菌体外に放出されることがわかった。これら粒子はバクテリオファージである可能性が高く、活性汚泥中の細菌の多くが溶原性をもっていることが示された。

第8章の「結論と今後の展望」では、以上の結果に基づいて、活性汚泥中に広くバクテリオファージが存在すること、そしてそれらが宿主と緊密な関係をもって生活していることを示した。また、非常に幅広い宿主域を持つバクテリオファージが見いだされたことは、活性汚泥中での遺伝子の水平伝播の広さを示していることを指摘した。さらに、FLP法は活性汚泥中の細菌を簡便に同定するために用いることができるかもしれないことを指摘した。また、今後の展望として、活性汚泥中のバクテリオファージの役割についてさらに明確に明らかにする方法について議論した。

本論文は、これまでほとんど研究されてこなかったまったく新しい研究分野に精力的に取り組んだものである。活性汚泥中の多くの細菌がバクテリオファージと相互作用をすること、非常に幅広い宿主域を持つバクテリオファージが存在することを示したこと、また、バクテリオファージの生態について検討するためにFLP法を導入したことは、非常に高く評価することができる。今後、微生物を用いた下 wastewater 処理プロセスの基礎的なメカニズムを明らかにすることにつながっていく研究成果が得られた。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。