

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 倉橋 みどり

近年、生物の種多様性に関する研究は、多方面から積極的に取り組まれている。環境中の DNA 断片を分析したり、蛍光プローブを用いるなどの解析手法の発展にともない、その多様性が次々に明らかにされている。現在、細菌の分離、培養は、大きく2つの方向からアプローチされている。一つは生きていますが培養困難な状態 VBNC (Viable but nonculturable) にある微生物を詳細に研究する事によって、VBNC 状態から培養可能な状態へ転換させる方法を開発しようとするもの、もう一つは、人類がこれまで容易に接近することのできなかつた極限環境などから新規性の高い細菌を探索していく方向である。しかし身近な環境からの微生物が本当に探索し尽くされたわけではない。本研究では、身近な海洋生物の内臓を新規細菌の探索源として分離を試み、海洋生物に由来する細菌の系統分類学的位置について解析した結果を述べたもので、5章より構成されている。第1章は序論で、本研究の概要について述べている。

第2章では海洋生物からの細菌の分離について述べている。21種類の海洋生物から、116株の細菌を分離した。分離した細菌の 16S rDNA の後半約 500 bp の部分塩基配列による相同性検索に基づいて同定した結果、*Proteobacteria* 74 株、*Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* group 12 株、*Bacillus/Clostridium* group 2 株、*Actinobacteria* 2 株であり、1株は酵母の *Saccharomycotina* であった。

第3章では新規性が高いと思われる分離株についての分類学的評価について述べている。16S rDNA の既知種との塩基配列相同性が95%以下であったのは、116株の分離株のうち17株であった。これらの菌株について 16S rDNA の全塩基配列を決定して系統樹を作成したところ、分離株 17 株は、*Alteromonas* group (8 株)、*Rhodobacter* group (4 株)、*Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* group (5 株)の3つの細菌グループにわけられた。

第4章では新規分離株についての分類学的位置について述べている。*Alteromonas* (γ -*Proteobacteria*) group に含まれる MKT92 株の近縁種としては *Thalassomonas* 属があげられるが、その 16S rDNA の相同性は 94%であったことより、本菌株を新属新種とすることを提唱した。MKT82, 86, 87, 89, 106, 112 の6株は異なる海洋生物から分離されたが互いに高い類似性を示した。この6株と、*Thalassomonas* 属、*Glaciecola* 属、*Alteromonas* 属、*Pseudoalteromonas* 属との 16S rDNA の相同性は 89~91%であったことより、これらの株に対して新属新種 *Visceriomonas onchidia* を提唱した。MKT110 は、*Pseudomonas andersonii* と 90%、*Marinobacter* 属と 89%の 16S rDNA の相同性であることより、本菌株に対して新属新

種 *Lisanelia elysia* を提唱した。 *Rhodobacter* (α -*Proteobacteri*) group に含まれる MKT107 株は [*Ruegeria*] *gelatinovorans*, *Sulfitobacter mediterraneus*, *Sulfitobacter pontiacus* の何れとも 16S rDNA の相同性が 94%であったことより、本菌株に対して新属を提唱する。MKT95 は 16S rDNA の相同性は、 [*Roseobacter*] *gallaeciensis* と [*Ruegeria*] *atlantica* の何れとも 96%であり、系統樹上では、 [*Roseobacter*] *gallaeciensis* と [*Ruegeria*] *algicola* とクラスターを形成した。 [*Roseobacter*] *gallaeciensis*、 [*Ruegeria*] *algicola* および MKT95 とをまとめて新属 *Glossomonas* とすることを提唱した。MKT84, MKT94 の 2 株は異なる種の海洋生物から分離されたが両株間の 16S rDNA の相同性は 100% であった。近縁属との 16S rDNA の相同性は、 [*Stappia*] *stellulatum* と [*Roseibium*] *denhamense* のいずれとも 94%であったことより、MKT89, 94 に対して新属新種 *Slimobacter olivia* を提唱した。 *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* group に含まれる MKT38 株は *Gelidibacter algens* との 16S rDNA の相同性は、90%であった。系統樹では、*Zobellia* 属、 [*Cytophaga*] 属とクラスターを形成した。MKT38 に対して新属を提唱した。MKT93 株の 16S rDNA の相同性は、*Polaribacter* 属、*Tenacibaculum* 属いずれとも 94%であり、*Polaribacter* 属、*Tenacibaculum* 属とクラスターを形成したことより、MKT93 に対して新属を提唱した。MKT44 は [*Cytophaga*] *fermentans* は 96%の 16S rDNA の相同性を示し、系統樹上でも [*Cytophaga*] *fermentans* とクラスターを形成した。 [*Cytophaga*] *fermentans* は誤分類と考えられるので、MKT44 とまとめて新属を提唱した。MKT111 株は *Flammeovirga aprica* との 16S rDNA の相同性が 92%であり、系統樹上でも *Flammeovirga aprica* とクラスターを形成したことより、本菌株に対して新属を提唱した。MKT109 株は *Persicobacter diffluens* と 91%の 16S rDNA 相同性を示し、系統樹上でも *Persicobacter diffluens* とクラスターを形成した。本菌株に対して新属新種を提唱した。

第 5 章は総括であり、本論文から得られた知見を要約してある。

以上、本論文は、海洋生物に由来する細菌の系統分類学的位置について明らかにしたもので、学術上、応用上寄与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）の学位論文として価値あるものと認めた。