

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 中村 浩平

太古から行われている複数の微生物種（微生物群集）による有機性廃棄物の分解処理に関して、様々な経験的・技術的知見が培われている一方、その分解処理を担う微生物に関する知見は少ない。その多くは微生物群集の構造を解析したものがほとんどで、微生物群集の構造と機能を関連付けた知見はほとんどない。本論文は、一般家庭から排出される生ゴミの分解処理過程における微生物学的知見を得るべく行われたもので、微生物群集の構造を多面的に解析し、そこから見出された群集内優占種の単離・諸性質の解析を行い、更にそれら優占種の群集内における機能を解析し、微生物群集の構造と機能を関連付けており、5章からなっている。

第1章では、生ゴミ分解処理に関する基礎的知見を明らかとしている。本論文では家庭用生ゴミ処理機を改良し、そこに処理開始時に水分調節材・微生物担体としておが屑を添加し、毎日生ゴミを投入している。分解処理過程における生ゴミの分解処理効率、生ゴミの形状や物理化学的性状の変化を明らかとしている。

第2章では、第1章で明らかとした生ゴミ分解処理の基礎的知見が微生物群集とどのように関係しているかを調べている。微生物群集の解析処方として、従来の培養に基づく手法および近年開発された培養を経ない手法を導入し多面的解析を行っている。分解処理過程における微生物群集はそのほとんどが細菌で、顕微鏡で観察された細菌のうち60%前後が難培養性細菌として存在していることが示された。また、微生物群集の基質資化性を利用したCLPP解析により、微生物群集の構造が基質の資化性レベルで遷移が明らかとなった。さらに細菌の16S rRNA遺伝子を標的としたPCR-DGGE解析によって細菌群集の遷移が明らかとされ、そこから多くのこれまでに単離されていない低GC含量のグラム陽性細菌の存在が示唆された。また、生物の呼吸鎖の一要素であるキノン分子種を標的としたQuinone profile解析はPCR-DGGE解析の結果をはば裏付けるものであった。但し、Quinone profile解析からPCR-DGGE解析で生じたバイアスが示唆されている。

次に、本論文ではPCR-DGGE解析で見出されたある細菌に注目している。その細菌とは*Bacillus licheniformis*が最近縁種として挙げられるものの、より高い相同性を示す遺伝子配列が未培養の細菌由来として他の有機性廃棄物処理過程からも検出されていた。更に本論文実験系において再現的に、かつ処理残渣中の優占種として存在することが示されており、その分解処理過程における機能を解明すべくその細菌をBLx株と名づけている。

第3章においてBLx株の単離に成功し、その諸性質を検討している。BLx株は生ゴミ処理物中では細菌の数十%を占める優占種として存在していたものの、平板上では稀有であつ

た。平板上では *B. thermoamylovorans* に関連付けられる BTa 株が優占種であった。単離された BLx 株はその系統分類学的諸性質から、*Bacillaceae* 科の新属新種 *Cerasibacillus quisquiliarum* BLx 株と提唱された。BLx 株は優占種として存在していたことから、有機性廃棄物処理過程から頻繁に検出される *B. subtilis* や *B. licheniformis* と同様に多くの炭素源の資化性や生体高分子分解能が期待されたが、それらは非常に限定されており、数種類の糖・有機酸の資化能とゼラチン分解能を有するのみであった。

第4章において、群集内優占種として存在するゼラチン分解能を有する BLx 株とデンプン分解能を有する BTa 株を用いて、それぞれがゼラチナーゼやアミラーゼを生ゴミ処理残渣中に分泌しているかを調べている。優占種の群集内における機能を解析することで、微生物群集の構造と機能の関連付けを試みている。定量的 PCR 法を用い、両菌株存在率の分解処理過程における増減を解析した。また処理残渣中の酵素活性を測定し、存在率と酵素活性の変化の関連を調べている。その結果、BLx 株はゼラチナーゼを処理残渣中に分泌していることが示唆され、更に処理残渣中の酵素活性が BLx 株由来であることが明らかとされた。一方、BTa 株はアミラーゼを分泌していないことが示唆された。これらの結果から、微生物群集の構造と機能を関連付けるには、存在比という見かけの重要性に拘わらず、群集内における機能発現を解析する必要性が強く提示されている。

第5章では、本研究のまとめと今後の展望が述べられている。

以上、本論文は、不明な点が多かった生ゴミ分解処理過程における微生物学的知見を、複数の原理の異なる解析手法を用いた微生物群集構造の多面的解析と群集内優占種の群集内における機能解析から明らかとしたものであり、学術的貢献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して認めた。