

# 論文審査の結果の要旨

氏名 李 相賢

本論文は、廃水処理法として広く普及する活性汚泥法の中で、重要な構成メンバーであるにも関わらず、これまでほとんど顧みられることの無かったバクテリオファージの機能について検討を試みた非常に野心的な論文と言える。本論文では、とくに生物学的リン除去を不安定にさせる要因の一つとしてバクテリオファージに注目しており、生物学的リン除去プロセスから単離したバクテリオファージの特性評価や、ポリリン蓄積細菌として知られる *Microlunatus phosphovor* を宿主とするバクテリオファージを用いた新しい研究手法の開発を試みたものである。

本論文は4章からなる。第1章は「Background of Study」である。本研究の前提となる知見に関して既存の研究をレビューしている。

第2章は「Host-Specific Bacteriophages from EBPR Activated Sludge: Isolation and Characterization of Bacteriophages -1」であり、実験室内で運転した生物学的リン除去活性汚泥法プロセスからのバクテリオファージの単離とその特性評価をおこなっている。まず16株の細菌を単離した上で、その単離細菌を宿主とするバクテリオファージ40株を単離した。その中の代表的な株について、宿主特異性・感染から「溶菌までの潜伏時間、溶菌後のファージ粒子生産数等の指標について明らかにした。これらのバクテリオファージの宿主菌一個体あたり生産される個体数 (burst size) は約6-48個であり、この結果は活性汚泥内でこれらのバクテリオファージが宿主菌を活発に溶菌させる可能性のある事を示唆した。

第3章は「Host-Specific Bacteriophages from EBPR Activated Sludge: Isolation and Characterization of Bacteriophages -2」であり、ポリリン蓄積細菌として単離されている *Microlunatus phosphovor* を宿主とするバクテリオファージの単離と特性評価を試みている。その結果として、まず2株の溶菌性バクテリオファージを分離に成功した。宿主菌である *M. phosphovor* に対するこれらのファージの宿主特異性を調べるために、*M. phosphovor* に系統分類学上で隣接している23個の菌株を含む総数70菌株に対する溶菌性実験をおこない、この二つのバクテリオファージは、溶菌実験において、宿主細菌である *M. phosphovor* だけを溶菌することを示した。これらの2種のファージのゲノムは2本鎖DNAで大きさは約45±3kbと24±4kb、潜伏期は18と32時間、burst sizeは163と322であった。これらの数字から、このファージの溶菌力は非常に大きく、リン蓄積細菌を直接的に減少させる可能性を強く示唆している。

第4章は「Fluorescent Dye Labeling of bacteriophages Specific to PAO from EBPR Activated Sludge: Application of Bacteriophages」であり、第3章で確立した宿主—ファージ系に対して、微生物学的特定細菌検出法の一つである蛍光染色ウィルス標識法を適用し、*M. phosphovor*us を検出するシステムを構築することを試みた。紫外線により異なる蛍光発色する SYBR Green I(緑)と DAPI(青)をそれぞれバクテリオファージと全体細菌に染色する改良を加えることで、活性汚泥中で全菌数と特定細菌数を同時にしかも正確に定量することを可能にした。

第5章は「Summary and Future Study」であり、本研究で得られた上記の成果をまとめ、また今後の研究に対する提言を述べている。

以上、本論文は、バクテリオファージが活性汚泥法の微生物群集構造に大きな影響を与える可能性を実験的に示すとともに、具体的な対象としてリン除去に関わるバクテリアである *Micrococcus phosphovor*us を宿主とするバクテリオファージを単離し、その特性を評価すると共に、このバクテリオファージを蛍光染色したものをプローブとする新しい宿主細菌検出法を提案した。本研究の成果は、生物学的リン除去法の不安定性改善のための今後の研究にまったく新しい方向性を与えるものであり、ひいては、環境学の発展に大きく寄与するものである。

なお、本論文の第2-4章は、味埜俊、佐藤弘泰、片山浩之、栗栖太との共同研究であるが、本論文の内容にかかわる研究については、論文提出者が主体となって実施し、分析、検証をおこなったものである。論文提出者の寄与は十分であると判断する。

したがって、博士(環境学)の学位を授与できると認める。