

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 吉田明弘

---

海洋環境中の原核生物は海洋生物の中で最大の生物量を持ち、その機能および物質循環に果たす役割は極めて多様である。例えば光合成を通じた有機物生産を担っているラン色細菌、有機物分解を担っている従属栄養細菌群集はその中でも典型的なものであるが、これに加えて窒素固定や硝化、脱窒などの窒素代謝に関わる細菌群集、イオウ化合物の酸化や還元に関わる細菌群集、メタンの生成や分解に関わる細菌群集などが存在する。近年、これらの海洋細菌群集の存在や機能を知るための多くの技術が開発され、その物質循環に果たす役割がかなり明らかになってきた。例えば、RIを用いた方法により、細菌群集は一次生産された有機物の30 - 50%程度の分解にあずかっていることが分かってきた。さらに分子生物学的な手法により、培養を経ることなくそれらの群集構造を知ることが可能になってきた。海洋細菌群集の99%は通常の方法では培養ができないことが知られており、こうした手法によって初めて細菌群集の中身が明らかにされつつある。

吉田明弘君の学位論文は、こうした学問的背景の上に立ち、DGGE(Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)法という新しい分子生物学的手法の基礎的な検討をするとともに、これをMDS(multidimensional scaling)という方法と組み合わせて天然水界中の細菌群集に当てはめ、群集構造に関する新たな知見を得ようとしたものである。その主要な学問的意義は以下の3点にまとめられる。

1. DGGE法の基礎となる知見が得られたのは1970年代(Fisher and Lerman 1979)であるが、自然環境に適応しうる形として提案されたのは、1990年代に入ってからである(Muyzer et al. 1993)。この方法は環境中から抽出、増幅された特定遺伝子断片の塩基配列の違いを、変性剤の勾配のついた電気泳動上での速度の違いに置き換え、ゲル上のパターンとして示す方法である。近年はいわゆるspecies richnessを示す方法として広く使われているが、具体的な方法論の細部は研究者によって異なり、そのデータの相互比較は今だに困難である。吉田君は、天然海水中の細菌試料の濃縮量、DNAの抽出法とその条件、PCRの条件、DGGE法に適用するDNA量とその定量性との関わり、電気泳動の条件について詳細な検討と標準化を行い、その再現性と定量性を確保することを可能にした。

2. 海洋の化学的な要因は細菌群集構造に影響を与えることが知られるが、その具体的な作用を知るには、現場に近い環境を維持した実験的な施設に特定の化学物質を添加して観察を行うのが有力な方法である。浜名湖に設置されたメソコズムにおいて、油およびその処理剤の添加効果が細菌群集の群集構造にどのような影響を及ぼすかを調べた。DGGE法およびMDS法を用いることにより、油の添加よりも、処理剤の添加が大きな構造変化を招くことを世界で初めて明らかにした。さらにこれをマイクロコズム実験を併用することにより証明した。

3. スルー海およびその周辺海域の細菌群集の水平的、鉛直的分布を調べ、環境要因と群

集構造との関わりを調べた。スーラー海は北方は南シナ海と、南方はセレベス海とつながる閉鎖的空間で、水深は約4,500mに及ぶものの、水温は約10℃に保たれている。これは周辺海域と比較すると高いが、その溶存酸素量は逆に周辺海域より少ない。こうした基本的な環境要因が細菌群集構造にどのような影響を与えるかについてはこれまで知見が欠落していた。吉田君は第一に鉛直方向にデータを統合することにより、海域間で群集組成が違うこと、第二に、これらの海域では、その群集組成は水平的よりは鉛直的に大きく変化する傾向があり、そのパターンには共通性があること、第三に、古細菌 (*Archaea*) と真正細菌 (*Bacteria*) を比較することにより、前者の多様性が一般に後者より高いこと、を明らかにした。

吉田君は浜名湖の実験結果を *Marine Pollution Bulletin* に、スーラー海の解析結果を *Deep-Sea Research* に投稿している。前者は既に受理され、後者も minor revision で受理可能とのコメントを受け、改定稿を送付済みである。いずれも著名な国際誌であり、論文の書き方および editor との対応などについて基本的な技術を全て習得している。

上記の諸点を考慮し、審査委員一同は、吉田君は独立した研究者として研究を遂行していくのに必要とされる全ての能力、知識、経験、学問的実績を持っており、博士(農学)の学位を授与するのにふさわしいとの結論を得た。