

# 論文審査の結果の要旨

カンヌルル フダ  
氏名 Khan Md. Nurul Huda

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) は 1872 年に初めて記載され、細菌学の中でも最も古い研究歴を持つ細菌種の一つである。この細菌は我々の体にも常在し、疾病や手術などによって免疫力が低下している場合、日和見感染菌として重篤な症状や死を招く。また、陸および淡水域に広く分布し、多様な有機物の分解菌あるいは脱窒菌として知られるが、海洋からの報告は内湾などの沿岸域や河口域を除いてはなかった。しかし、1995 年、海洋の溶存態有機物フラクションに、緑膿菌の外膜中のポリタンパクに相当するものが存在するとの報告 (Tanoue et al. 1995) から、外洋域にも緑膿菌が存在する可能性が出てきた。論文提出者はこの背景のもとに、外洋に緑膿菌が存在する、との仮定を設定し、一連の研究を行なった。

本論文は General Introduction、3つの章および General Discussion からなる。第1章では緑膿菌の外洋からの分離、同定およびその抗生物質耐性等の性状試験、さらに Pulsed Field Gel Electrophoresis(PFGE)を用いた遺伝子型の解析を行なった。その結果、世界で初めて外洋からの緑膿菌の分離、同定に成功し、外洋株の抗生物質耐性が他の株と比較してもかなり高いことを明らかにした。さらに、PFGE により、海洋分離株が他の株と比較して、独自の遺伝子型を持つことを示した。第2章では、これらの外洋株が高いナトリウム濃度およびアルカリ性の pH 条件にどの程度適応能を持つかを実験的に検討した。その結果、緑膿菌は一般にこれらの条件に高い適応性を示すが、外洋株が最も優れていることを明らかにした。また、様々な温度、ナトリウム濃度、pH 環境下に置いた細胞が、「生きているが培養できない生理状態 (Viable but nonculturable : VBNC)) に陥ること、さらに条件に応じてこの状態からとの生理状態に戻ることを明らかにした。これらの結果、緑膿菌が外洋を含めた海洋にも生息しうる性状を有することが確認された。第3章では、外洋から分離された株の系統的な位置づけを明らかにするため、MLST (Multilocus Sequence Typing) という方法を用い、7種の House keeping gene の塩基配列を求め、その結果をデータベース上の様々な株と比較した。また、これらの遺伝子を Concatenate して解析を行い、相互の系統関係を調べた。その結果、外洋分離株は少なくとも3つの異なるクラスターからなり、それぞれは陸、淡水、臨床由来株とは異なる独自の系統的な位置を持つことが確認された。この結果は、従来の緑膿菌の種内の系統関係に根底的な見直しを迫るものである。

論文提出者の研究の最大の意義は、以前全く報告がなかった外洋からの緑膿菌の分離に成功し、それらについて基礎的な知見を得たことである。従ってその研究は全て独創的であり、かつ従来の緑膿菌の概念の変更を迫り、今後の研究に多大なインパクトを与えると考えられる。また、提出者は、常識的には見込みの薄い危険な仮説を自ら博士課程の課題として設定し、結果的にその仮説が正しかったことを証明した。この結果が多く数の研究者から驚きの声を持って迎えられていることから分かるように、提出者は卓抜

な挑戦的探究心と丹念に努力を積み重ねる資質を持っていることを示している。

8月3日に行なわれた公開審査会では、論文提出者の発表に続き、上記の点に関連して様々な質疑が交わされた。その後の審査委員による議論の結果、研究内容、質問に対する応答などは十分に評価されるが、論文には一部論理展開の弱さ、図表や表現のミス、体裁上の問題などが指摘された。いずれも小幅な変更であるが、最終稿はこれらの訂正を行なったものを提出することを決めた。

なお、本論分第1章は、石井良和、木野則子、江寄英剛、西野智彦、西村昌彦、木暮一啓らが共著者となり、投稿論文が受理されている。実際に研究船に乗って緑膿菌を外洋から分離し、同定したのは論文提出者であり、この分離なしには共同研究は成立しなかった。このため、論文提出者は本質的な部分に寄与をしていると認められる。

したがって、博士（環境学）の学位を授与できると認める。