

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 細谷 祥一

地球表面積の約 70%を占める海洋には多種多様な生物が生息している。海洋環境の生物活動とその物質循環が重要視されており、中でも細菌は潜在的に大きな役割を担っていると考えられている。海洋細菌を新規に分離することは、未知の生物資源の確保および新規生理活性物質の発見も期待できる。これまでに多くの海洋細菌が同定されている。特に *Proteobacteria* 門の  $\gamma$ -*Proteobacteria* 綱に属する細菌が多くを占めている。本研究では第一に、この  $\gamma$ -*Proteobacteria* 綱以外の  $\alpha$ -*Proteobacteria* 綱や  $\beta$ -*Proteobacteria* 綱および *Bacteroidetes* 門に特異的な 16S rRNA 遺伝子プライマーを使った Signature-PCR を行い、これらの分類群に属する海洋細菌を選択分離し、新規細菌を取得することを行った。さらに、タイ国の海洋環境から得られた新規滑走運動性海洋細菌株について、主要菌体脂肪酸組成としてアラキドン酸を含むことから、その分類学的位置を明らかにすることを行った。

第 1 章は序論で、研究の背景と本研究の意義について述べた。

第 2 章では Signature-PCR による海洋細菌の選択分離と系統分類について述べた。日本国内沿岸の 7 か所の地域で海水を採水し、6 種類の平板培地を用いて菌株を分離した。分離株 419 株について、特異的プライマーによる Signature-PCR を行って  $\alpha$ -*Proteobacteria* 綱や  $\beta$ -*Proteobacteria* 綱、*Bacteroidetes* 門の選抜を行った。その結果、 $\alpha$ -*Proteobacteria* に属する分離株 16 株、*Bacteroidetes* 門 27 株を選択分離した。これら分離株の 16S rRNA 遺伝子塩基配列による系統解析を行ったところ、 $\alpha$ -*Proteobacteria* 綱に属する分離株は、*Brevundimonas* 属、*Erythrobacter* 属など 10 属の菌種に近縁であった。また、*Bacteroidetes* 門に属する分離株はほぼ *Flavobacteriaceae* 科に属し、*Flavobacterium* 属、*Maribacter* 属など 11 属菌種に近縁であった。また、"*Flammeovirgaceae*" 科の *Flammeovirga* 属に近縁な菌株も得られた。分離株は近縁既知種との DNA 相同性試験の結果から数株が新種であると示唆された。その中で、WSF2 株については *Pseudovibrio japonica* sp. nov.、IG8 株は *Loktanella atroaurantiaca* sp. nov. 並びに YS10 株は *Flammeovirga kamogawanensis* sp. nov. とすることを提唱した。

第 3 章では *Flexithrix dorotheae* と [*Flexibacter*] *aggregans* の系統分類学的研究について述べた。"*Flammeovirgaceae*" 科に属する *Flexithrix dorotheae* と

*Flexibacter aggregans* は 16S rRNA 遺伝子塩基配列が一致すること、DNA 相同性試験で 70%以上の高い値を示すこと、生理・生化学試験において差異が認められないことから同種であると判断されたことから、*Flexibacter aggregans* を *Flexithrix dorotheae* のシノニムとした。

第 4 章ではアラキドン酸高度産性能を有する海洋細菌の分類学的研究について述べた。タイ国産、滑走運動性海洋細菌 4 株 (No.24 株、No.62 株、No.71 株 および 59SA 株) は 16S rRNA 遺伝子塩基配列による系統解析から、*Bacteoidetes* 門に属し、*Saprospira* 属に近縁な新属であると推定された。これら 3 株の 16S rRNA 遺伝子塩基配列はほぼ 100%相同であり、DNA-DNA 相同性試験の結果から、同種と示唆された。59SA 株とこれら 3 株とでは 16S rRNA 遺伝子塩基配列の相同値は 94%、No.24 株との DNA 相同性試験を行ったところ 5%未満の低い数値であり、別種であると示唆された。これら 4 菌株の菌体脂肪酸組成を分析したところ、一般的に動物のみが持つとされる高度不飽和脂肪酸 20:4 (アラキドン酸) を主成分とする特徴を持つことが分かった。以上の 3 分離株は既知の属とは異なる新属新種であると同定し、No.24 株を基準株とする *Aureispira marina* gen. nov., sp. nov., また、59SA 株を基準株とする *Aureispira maritima* sp. nov. を提唱した。

以上、本論文は新たに分離された海洋細菌の系統分類学的位置を明らかにしたもので、学術上、応用上、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認めた。