

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 安 善榮

細菌の分類体系は分子系統 (Phylogeny) 研究が反映された分類体系に改革されている。しかしこのような中で、まだ系統解析の不十分な分類群も数多く残されている。そのような分類群の一つとして本研究では *Microbacteriaceae* 科と *Bacillaceae* 科細菌を取り上げ、この分類群に系統解析を加えたものである。

第1章では *Microbacteriaceae* 科細菌の系統分類に関する研究について述べた。*Microbacteriaceae* 科は *Actinobacteria* 門に属し、好気性、グラム陽性、高 G+C で、B タイプの細胞壁ペプチドグリカンをもつ。本科には 22 属が含まれているが、16S rRNA 遺伝子は塩基置換率が低いため、*Microbacteriaceae* 科の属内の近縁種の識別が困難であり、属以下の種・亜種レベルの分類や検出・識別が不十分であった。本研究では 16S rRNA 遺伝子よりも進化速度が速く、生物全体に広く存在する機能タンパク質をコードする遺伝子と DNA ジャイレースサブユニット B 遺伝子 (*gyrB*) と RNA ポリメラーゼの α サブユニット遺伝子 (*rpoA*) とリコンビナーゼ A 遺伝子 (*recA*) を用いて系統解析を行い 16S rRNA 遺伝子の結果と比較検討した。3 つの遺伝子断片を増幅するために各機能タンパク質のアミノ酸配列の保存領域からプライマーを設計し、入手した各菌種の基準株の DNA を用いて設計したプライマーを利用して各遺伝子の目的領域を増幅した。各遺伝子の増幅産物の塩基配列を決定後、系統樹を作成し、既知の 16S rRNA 遺伝子による系統樹と比較検討した。その結果、*recA* に基づいた系統解析では、各属の中の種のまとまりがなかったことより、分子マーカーとして適当ではないと考えられたが、*gyrB* と *rpoA* は *Microbacteriaceae* 科に属する細菌の系統関係をより明らかにする有用な分子マーカーであることが判明した。また、*gyrB* と *rpoA* の塩基置換率は 16S rRNA 遺伝子のものより早いことから、近縁種での識別に高い解像度を持っていることが判明した。16S rRNA 遺伝子のみでの解析では分類学的位置が混乱していた *Salinibacterium*、*Leifsonia*、*Rhodoglobus* 属と *Zimmermannella*、*Pseudoclavibacter*、*Gulosibacter* 属は *gyrB* と *rpoA* の解析結果からこれらの属の再整理が必要であることが明らかになった。

第2章では *Microbacteriaceae* 科細菌の分類学的検討結果について述べた。主に *Leifsonia* 属の菌種について分類学的位置が適当でない菌株についてその正し

い位置について検討した。その結果、*Rhodoglobus* 属へ移行して *Rhodoglobus aurea* とすること、地衣類からの分離株 2S-B 株を新種 *Leifsonia lichenia* とすること、野外からの分離株 KHIA について新属 *Iamella luteola* とすることを提唱した。

第3章では *Bacillaceae* 科細菌の系統分類に関する研究 について述べた。*Bacillaceae* 科は *Firmicutes* 門に属し、芽胞を形成する絶対好気性もしくは通性嫌気性のグラム陽性桿菌である。本研究では多方面で利用されている有用な微生物資源であるこれら *Bacillaceae* 科の細菌の確保及び応用研究の基盤構築を目的として水圏及び土壌由来の好気性有芽胞子菌の分離株について分類学的な研究を行い、新種提案を行った。水圏由来の 12 株と土壌由来の 10 株、総計 22 株について 16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく系統解析を行った結果、*Bacillaceae* 科の既知属あるいは新属であると推定された。これら分離株について形態観察、生理・生化学的性状、化学分類、DNA-DNA ハイブリダイゼーションによる比較検討を行った。その結果、分離株 1 株は *Bacillus* 属の既知菌種と同定されたが、分離株 21 株は新種であることを明らかにした。21 分離株中、3 株は *Bacillaceae* 科の新属 (*Terribacillus*) の 2 新種、6 株は *Bacillus* 属の 6 新種、2 株は *Virgibacillus* 属の 1 新種、1 株は *Halobacillus* 属の 1 新種、1 株は *Amphibacillus* 属の 1 新種、8 株は *Sporosarcina* 属の 3 新種とすることを提唱した。

以上、本論文は *Microbacteriaceae* 科細菌の系統関係および *Bacillaceae* 科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。