

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 尹 載宇

培養不能あるいは難培養微生物 (VBNC) として知られている *Verrucomicrobia* 門の細菌群は、自然界の多くの環境に分布しているが分離・培養などが非常に困難であるため、今までこれらの菌の分類に関する研究報告は殆んどなされていない状況である。現在 *Verrucomicrobia* 門の細菌群は主に培養に依存しないクローン解析の手法に基づいて Subdivision 1-5 に分けられている。そのうち 3 つの subdivision については Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 2 に掲載されている。すなわち Class *Verrucomicrobiae* (subdivision 1), Class *Opitutae* (subdivision 4) および Class '*Spartobacteriae*' (subdivision 2) である。最近、海洋バイオテクノロジー研究所・笠井宏朗らは海中環境を模倣した *in situ* culture の手法を用いて、海水から *Verrucomicrobia* 門の細菌群を分離・培養することに成功した。本研究は海洋バイオテクノロジー研究所より上述の *Verrucomicrobia* 門細菌株の提供を受け、それらの菌株の系統分類学的位置づけを明らかにし、これにより *Verrucomicrobia* 門細菌の分類体系の確立をめざしたものである。

第 1 章では研究の背景と目的について述べた。

第 2 章では *Verrucomicrobia* 門、*Opitutae* 綱に含まれる新属 *Coralimargarita*, *Pelagicoccus*, *Cerasicoccus* の提唱、および *Opitutae* 綱に含まれる菌種の細胞壁組成について述べた。

海洋から分離された 11 株について 16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析、化学分類、生理生化学的性状、形態学的性状、DNA-DNA 相同性試験、などの多相分類の手法で解析を行った結果、これらの分離株はすべて *Opitutae* 綱の *Puniceicoccaceae* 科に含まれる新属、新種と判断されたので、それぞれ *Coralimargarita akajimensis* gen. nov., sp. nov. (基準株 04OKA010-24<sup>T</sup>), *Pelagicoccus mobilis* gen. nov., sp. nov. (基準株 02PA-Ca-133<sup>T</sup>), *Pelagicoccus albus* sp. nov. (基準株 YM14-201<sup>T</sup>), *Pelagicoccus litoralis* sp. nov. (基準株 H-MN57<sup>T</sup>), *Pelagicoccus croceus* sp. nov. (基準株 N5FB36-5<sup>T</sup>), *Cerasicoccus arenae* gen. nov., sp. nov. (基準株 YM26-026<sup>T</sup>), *Cerasicoccus maritimus* sp. nov. (基準株 YM31-114<sup>T</sup>), *Cerasicoccus frondicus* sp. nov. (基準株 YM31-066<sup>T</sup>) とすることを提唱した。また *Opitutae* 綱の全菌株について細胞壁組成を調べた結果、ムラミン酸やメソ-ジアミノピメリン酸が検出されないこと、ペプチドグリカン合成阻害剤である  $\beta$ -lactam 系抗生物質に高度の耐性を示すことが判明した。このことは、ほとんどの真正細菌が有する細胞壁の構成成分であるペプチドグリカンを *Opitutae* 綱の細菌は欠如しているものと考えられた。このように、*Verrucomicrobia* 門の *Opitutae* 綱の細菌はの細菌群は、通常のグラム陰性細菌よりもさらに原始的な細胞壁を有している可能性が強く示唆され、これは *Planctomycetes* 門に次ぐ進化学的に興味深い発見である。

第 3 章では Class *Verrucomicrobia* の新属 *Persicirhabdus*, *Roseibacillus*, *Luteolibacter*, *Haliferula* および *Rubritalea* 属に見出された 3 新種について述べた。さらに phylum (門) *Verrucomicrobia* の正式提唱、および class (綱) *Verrucomicrobiae*, order (目) *Verrucomicrobiales*, family (科)

*Verrucomicrobiaceae* の各分類群の修正を行った。

海洋環境から分離された 19 株について 16S rRNA 遺伝子に基づく系統解析、化学分類、生理生化学的性状、形態学的性状、DNA-DNA 相同性試験、などの多相分類の手法で解析を行った結果、これらの分離株はすべて *Verrucomicrobia* 綱の *Verrucomicrobiaceae* 科に含まれる新属、新種と判断されたので、それぞれ *Rubritalea spongiae* sp. nov. (基準株 YM21-132<sup>T</sup>), *Rubritalea tangerina* sp. nov. (基準株 YM27-005<sup>T</sup>), *Rubritalea sabuli* sp. nov. (基準株 YM29-052<sup>T</sup>), *Persicirhabdus sediminis* gen. nov., sp. nov. (基準株 YM20-087<sup>T</sup>), *Roseibacillus ishigakijimensis* gen. nov., sp. nov. (基準株 MN1-741<sup>T</sup>), *Roseibacillus ponti* sp. nov. (基準株 YM27-120<sup>T</sup>), *Roseibacillus persicicus* sp. nov. (基準株 YM26-010<sup>T</sup>), *Luteolibacter pohpeiensis* gen. nov., sp. nov. (基準株 A4T-83<sup>T</sup>), *Luteolibacter algae* sp. nov. (基準株 A5J-41-2<sup>T</sup>), *Haliferula harenosa* gen. nov., sp. nov. (基準株 YM23-227<sup>T</sup>), *Haliferula pudorinus* sp. nov. (基準株 06SJR1-1<sup>T</sup>), *Haliferula phycoensis* sp. nov. (基準株 AK18-024<sup>T</sup>), *Haliferula helveola* sp. nov. (基準株 05IJR53-1<sup>T</sup>) および *Haliferula sargassicola* sp. nov. (基準株 MN1-1037<sup>T</sup>) をそれぞれ提唱した。このように、*Verrucomicrobiaceae* 科に 4 新属 14 新種を追加することとなった。

以上のように *Verrucomicrobiaceae* 科、*Verrucomicrobiales* 目、*Verrucomicrobiae* 綱に含まれる新属新種を提唱したので、それぞれの科、目、綱の分類学的定義の変更を提唱した。さらに、*Verrucomicrobia* 門について正式提唱を行った。

第 4 章は結論である。

以上、本論文は細菌分類の 1 大系統群である *Verrucomicrobia* 門についてその分類体系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。