

論文審査の結果の要旨

申請者氏名

福永幸代

地球上の生物多様性の主要な構成体である微生物は、多様な遺伝子を持つことから、遺伝資源の宝庫である。しかし、培養可能となった微生物は自然界の微生物多様性の中の極く一部でしかない。本研究では、新規系統群の細菌を分離、培養し、その分類学的性質を解析することを目的とする。今まで知られていない、新たな分類群の菌株を分離することは、細菌の進化を知る手がかりとなり、塩基配列だけで知られていた系統群が実際に存在することを明らかにし、新たな遺伝子資源と出会うことである。既知の系統群と系統的に大きくはなれたグループは、今まで知られていなかった未知の機能、代謝経路を持っている可能性が高い。本研究では、より新規性の高い細菌を分離するため、これまでほとんど探索の対象とされていなかった海棲無脊椎動物と海藻の、体内および表面を分離源として細菌株の分離を行い、その系統分類を行ったものである。

第1章では研究の背景と目的について述べた。

第2章では海水中の細菌叢と海藻に共存する細菌叢の比較を行った。海棲生物の体表も分離源として用いるにあたり、海棲生物に共存する細菌叢とその周囲を満たしている海水に存在する細菌叢に違いがあるのかを調べた。海水中の細菌叢と海水中に棲息している生物に共存する細菌叢を比較した。海水および海藻を試料とし、培養された菌株を調べる培養法、および試料から抽出したDNAで作成した16S rRNA 遺伝子のクローンライブラリーを用いた培養によらない方法で、試料中に共存する細菌の分類学的構成を調べた。培養法でも、培養によらない環境DNAを用いた方法でも、海水中に含まれる細菌叢と、そこに生育していた海藻に共存する細菌叢は異なっており、培養法、非培養法それぞれに特有の系統群がみられた。

第3章では無脊椎動物および海藻からの微生物の分離と分類学的特徴を調べた結果について述べた。32の生物試料と1つの海水試料から、低栄養培地を用いた長期間・光照射下培養により、1,182株、8つの phylum にわたる多様な分類群の細菌を分離した。分離株の16S rRNA 遺伝子塩基配列を解析したところ、分離株のうち472株が新種など、新規な系統群の菌株であると考えられた。高次分類群である科 (family), 目 (order), 綱 (class) のレベルで新規な系統を形成する菌株を20グループ発見した。

第4章では新規性の高い分離株について分類学的検討を加えた。まず、ヒザラガイから分離された phylum 'Acidobacteria' に属するが既知種との16SrRNA 遺伝子配列の類似度は83.6%と非常に低い FYK2218^T 株について検討した。FYK2218^T は近縁種との表現形質の違いおよび系統樹から、新種新属 *Acanthopleuribacter pedis* gen. nov., sp. nov とすることを提案すると同時に、FYK2218^T が属する 'Acidobacteria' の subdivision 8 が他のメンバーとの16S rRNA 遺伝子塩基配列の similarity が非常に低い (82.7-83.6%) ことから、新科 *Acanthopleuribacteraceae* fam. nov., および新目 *Acanthopleuribacterales* ord. nov. とすることを提案した。

次に、phylum 'Planctomycetes' に属する新規性の高い分離株について分類学的研究を行った。

アマノリからの分離株 FYK2301M01, FYK2301M18, FYK2301M52 は、最も近縁と考えられた既知種は *Planctomyces brasiliensis* DSM 5305^T であり、similarity は 78.7% と極めて低かった。これら 3 株は細胞内部に内膜様の構造がみられ、細胞は 2 分裂によって増殖するものと考えられた。これらの分離株と環境クローンを含めた 16S rRNA 遺伝子塩基配列に基づく系統解析を加えた。phylum '*Planctomycetes*' には (1) 記載種が存在するグループ、class *Planctomycea*, (2) クローンの配列のみで形成されるグループ、WPS-1²⁾ (3) Anammox 活性をもつ細菌が含まれるが、純粋培養された株がない Anammox 細菌グループ、の少なくとも 3 つのグループに分かれ、それぞれが class レベルの系統群である可能性が指摘されている。NJ 法および ML 法で系統樹を作成したところ、分離株 FYK2301M01, FYK2301M18, FYK2301M52 は WPS-1 group に含まれることが示唆された。WPS-1 に属する環境クローンおよび分離株と、近接したクレード (1) class *Planctomycea* と (3) Anammox 細菌グループとの 16S rRNA 遺伝子塩基配列の similarity は 70.1- 79.8% であった。これらのことから、WPS-1 group は新しい綱 (class) として定義されるべきであると考えられ、*Phycisphaerae* classis nov. とすることを提案した。また、Phylum '*Planctomycetes*' の既知種との比較、および系統樹から、分離株 FYK2301M01, FYK2301M18, FYK2301M52 は phylum '*Planctomycetes*' に含まれる新属新種であると考えられ、*Phycisphaera mikurensis* gen. nov., sp. nov. とすることを提案した。

第 5 章は総合考察である。

以上、本論文は分離源および分離方法を工夫することにより、これまで分離例がなく、遺伝子の配列のみでしか知られていなかった大きなグループから細菌を分離することに成功し、その系統的位位置および分類学的性状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。