

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 井上 雄介

海洋生態系における微生物による有機物代謝プロセスの理解は、海洋のみならず地球表層圏における炭素循環の基本的枠組みを明らかにする上で必須である。これまでの知見から、海洋の微生物群集がおおよそどの程度の量の有機態炭素を代謝しているかについては信頼できる値が得られてきている。しかし、海洋の有機物の化学的組成や分子量、有機物の会合状態などは極めて多様であり、それらをどのような微生物群がどのような様式によって利用しているのか、という基本的課題については驚くほど知見が少ない。これまでのところ、有機物は溶存態と懸濁態に分けられ、前者を自由遊泳型の細菌が、後者を付着性の細菌が主に利用する、というのが一般的スキームである。しかし、溶存態のフラクシオンと称してもそこには数 nm から数百 nm におよぶ様々な粒子状の有機物が含まれており、細菌群集がこれらをどのように利用しているのかについては具体的な概念がない。このため現時点の理解は、“自由遊泳型の細菌が菌体酵素を出して分解している”というだけに留まっている。有機物、とりわけその大部分を占める溶存態有機物の分解様式を明らかにしていくには、微視的なスケールに着目し、そこでの細菌と有機物粒子との相互作用プロセスを解明していくアプローチが必須と考えられる。

こうした背景のもとに、申請者の井上雄介は、細菌をある密度と大きさを持った粒子として捉え、それが有機物粒子とどのような相互作用を行い、それがどのように分解に結びつくかについて考察を試みた。また、一般に有機物濃度が低い海洋においては、細菌と粒子のぶつかり合いが分解の最初のプロセスと仮定した。ぶつかり合いの頻度は粒子のブラウン運動に主に依存するが、各粒子は特定の密度を持ち、それに応じて鉛直的にも移動するはずである。すなわち鉛直的な移動とブラウン運動の両方を考慮した解析が必要になる。そこで申請者は細菌の密度に注目した。海水中の細菌群集の密度を測定した例はまだない。そこで申請者は、(1) 密度勾配分画 (Density-dependent cell sorting, DDCS) 法の方法論的検討、(2) 海洋細菌の菌体密度の時空間的変動の解析、(3) 菌体密度が菌体の上下移動、微小粒子やウイルスとの衝突頻度、増殖あるいは死滅、細菌群集の多様性維持に与える影響についてのモデル計算を試みた。

申請者はまず天然細菌群集の濃縮法を検討し、限外ろ過を用い、回収率 90 % 以上で菌体

を 200 倍程度に濃縮する方法を確立した。また、DDGS 法の検討を行い、最終的に NaCl 400 mM、Percoll 濃度 62-63% もしくは 45% と 70% との併用、4 °C にて 50000×g、20 分の遠心条件下で海洋細菌群集を 3 もしくは 6 画分に分画し、その菌体密度を測定することを可能にした。

海洋細菌の菌体密度の時空間的変動と、系統群と菌体密度との関係を明らかにするため、油壺湾にて 2004 年 10 月から 2006 年 1 月まで毎月採水を行い、これらの方法を適用後、各画分に含まれる群集構造を FISH (fluorescence in situ hybridization) 法を用いて解析した。その結果、一年を通じて Archaea は菌体密度が大きく、逆に Bacteroidetes は菌体密度が小さい傾向にあることを明らかにした。また、淡青丸 KT-05-16 次航海において鉛直的に得た海水試料を解析し、深度に応じてより密度の大きな細菌の割合が増加することを明らかにした。

最後に、本研究で得られた海洋細菌の菌体密度を用いて、細菌の沈降速度、ウイルスを含む有機物粒子との衝突頻度とそれによる増殖、死滅、さらに細菌の多様性の維持機構についてのモデル解析を試みた。その結果、細菌は深度に応じて 1 時間に数十 nm 程度沈降すること、表層と比較すると、深層では、沈降速度の増加が増殖速度の増大を招くこと、粒子およびウイルスとの共存状態が細菌の多様性維持に貢献していること、などを明らかにした。

本研究の意義は以下の三つにまとめられる。

第一に、天然海水中の細菌群集の菌体密度を測定し、その意味について考察を試みた。第二に、系統群や深度に応じて菌体密度が異なることを明らかにした。第三に、モデル計算により、菌体の沈降速度とウイルスを含む有機物粒子との衝突頻度、その衝突が細菌群集の増殖、死滅、多様性維持にもたらす影響を明らかにした。いずれも海洋微生物学の中では最初の試みであり、海洋微生物の有機物利用様式概念に新たな方向性を導入した意義は極めて高いと考えられる。

よって審査委員一同は、申請者井上雄介による本論文が博士（農学）の学位に相応しいものであると結論づけた。