

論文審査の結果の要旨

氏名 吉澤晋

発光細菌は青白色の発光をおこなう細菌群で、その大部分が海に生息しており、現在までに4属 (*Vibrio*, *Photobacterium*, *Aliivibrio*, *Shewanella*) 19種が知られる。これらの細菌は海水中に自由遊泳型として広く分布するとともに、一部は魚類などに共生している。しかしこれらの共生発光の例を除けば発光細菌がなぜ発光するのかは不明である。また、その解明のための糸口もはっきりしない。

発光細菌の発光はいわゆるルシフェリン-ルシフェラーゼ系の生化学的反応によるもので、そこに還元型のリボフラビン (riboflavin-5'-phosphate: FMNH₂)、長鎖のアルデヒド、さらに分子状の酸素が関与している。発光細菌の世界色は全て480nm付近の青白い色に見えるが、その反応中心に関わる分子群によってその波長が決定されるとすれば、それらの分子のアミノ酸配列は多少なりとも発光波長に影響を及ぼすかもしれない。一方、大きな波長の変化を引き起こす場合には、それを変化させる別の物質の存在が予想される。しかし、このような考察のもとに、発光細菌の波長を詳細に調べる研究はこれまで全く行われてこなかった。これは見た目には発光波長が共通していること、また多少の違いが何らかの生態的意義を持つとは考えられなかったことによる。

吉澤君は第一章では、日本沿岸の近海および外洋域、ならびに地中海から発光細菌77株を分離し、その発光スペクトラムを詳細に測定した。その結果少なくとも5種類の異なる波長スペクトラムがあることを初めて明らかにした。そのうち2タイプはそれぞれ別のタイプの発光波長が短波長側にずれたようなパターン (Blue-shift type) を示していた。またその発光のピークと発光細菌の生息場所に関連があることも見出した。例えば相模湾では冬季と夏季では発光細菌の発光ピークがシフトする。また沿岸ではより長波長、外洋や深海ではより短波長側にシフトする傾向を示した。同時に、これらの細菌の同定を行い、それらの発光波長と系統群との間に関係があること、発光細菌の従来の同定法に問題があることを示した。第二章では、分離株の中から4株、保存株の中から1株を対象に、詳細な分子系統学的手法、生化学的手法を用いてそれらの同定を行い、それらが新種であることを解明し、それを *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* に投稿した。既に2株は受理されており、これは吉澤君が命名した新種が公式に認められたことを示す。残りの3株についても投稿済みであり、新種となることがほぼ確実である。第三章では、こうして新たに記載された新種と50株の海洋性発光細菌を選びその系統について詳細な解析を行った。ルシフェラーゼ遺伝子 (*luxA*) を用いて最新の分子系統技術で整理することにより、これまでの発光細菌の系統的研究には手法上の誤りが多く、混乱があることを確認した。さらに、Blue-shiftを示すタイプ、それ以外のタイプが系統上でクレードを作っていることがわかった。第四章では、発光波長の Blue-shift は、特定のタンパクが関与しているとの仮定のもとに、そ

のタンパクの精製と発光特性の解析を行った。その結果、*Vibrio azureus* strain LC2-005 株から Blue-shift に関わるタンパクを精製し、その蛍光特性がこの株の *in vivo* の発光波長にぴったりと重なること、発光系を抽出して *in vitro* で発光波長を測定すると、長波長側にずれていることを明らかにした。この結果から、この蛍光タンパクは発光波長を短波長側にシフトさせる機能を持っていることを明らかにした。第五章では、発光細菌の系統解析および近縁の非発光性の細菌群との系統的關係を総合的に解析し、発光遺伝子が進化の過程でどこで生じ、その後どのような系統群に伝播して行ったのか、あるいは喪失したのか、さらに、波長を変化させる蛍光タンパクがやはり進化の過程でどのような変遷を遂げたのかについて考察した。また、最終的にこれらの結果を総合し、発光波長が視覚を持つ海洋生物との相互作用を通じて進化してきたこと、発光色というのが個々の水域の中で最も透過性のよい光として選択されてきたことを考察した。

これらの結果はほぼその全てが吉澤君のアイデアに基づき、本人の作業によって行われてきた。2009年2月2日、東京大学海洋研究所にて行われた審査においても、入念かつ詳細な発表と適切な質疑への対応が見られた。従って博士（環境学）の学位を授与できると認める。