

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 矢部 修平

好熱菌は55℃以上で生育可能な細菌と定義付けられる。好熱菌は高温条件下で生育することから保持する酵素は耐熱性であり、耐熱性酵素の開発をめざして新規好熱菌の分離が盛んに試みられている。本研究ではコンポスト及び地熱地帯から新規の好熱菌を分離し、系統分類学的解析を行ったものである。

研究の背景と意義について述べた緒論に続き、第1章ではコンポストからの新規好熱菌の分離について述べている。コンポストから好熱菌を分離する際に、生育が早くプレート上を覆ってしまう *Bacillaceae* 科の細菌を避けて分離するために、分離培地にカナマイシン、トリメトプリム、ナリジクス酸を添加して分離を行った結果、好熱菌株27株を得た。このうち20株(7種)は既知種との16S rRNA 遺伝子の相同性が95%以下の新規な好熱菌であった。これら7種はそれぞれ *Firmicutes* 門, *Actinobacteria* 門, *Proteobacteria* 門, *Bacteroidetes* 門及び *Chloroflexi* 門に属する株であった。

第2章では、これらの分離株のうち、*Thermaerobacter* 属に属する高度好熱菌 Ni80^T 株について調べた結果を述べた。Ni80^T 株はグラム陽性、孢子形成性、絶対好気性で、周毛を形成する桿菌であった。生育温度範囲は52-79℃で最適生育温度は70℃であった。G+C 含量は72 mol%と高いものであった。分子系統解析の結果、Ni80^T 株は *Thermaerobacter* 属に属し、*Thermaerobacter* 属菌種の基準株とのDNA-DNA 相同性試験の結果から、本属の新種 *Thermaerobacter composti* sp. nov. とすることを提案した。

第3章では分離株のうち、高温性放線菌 I3^T 株について述べた。I3^T 株はグラム陽性で栄養菌糸を形成し、生育温度範囲は35-62℃で最適温度が50-55℃であり、既報の放線菌の中では最も生育限界温度が高かった。DNA のG+C 含量は70.2 mol%であり、主要菌体脂肪酸は iso-C_{17:0}, anteiso-C_{17:0}, であり、主要メナキノン MK-9(H₄)であった。細胞壁ジアミノ酸は LL-Diaminopimelic acid であった。分子系統解析の結果、本菌株は *Nocardioidaceae* 科に属し、化学分類学的、培養生理学的特徴が近縁の属とは異なることより、*Thermasporomyces composti* gen. nov., sp. nov. とすることを提案した。

第4章では *Ktedonobacteria* 綱に属する SK20-1^T 株について調べた結果を述べた。本菌株は放線菌とは系統的に大きく離れているにも拘わらず分岐した気菌糸に孢子を着生する典型的な放線菌様の形態を示した。グラム陽性、好気性であり、生育温度範囲は31-58℃で最適温度は50℃であった。DNA のG+C 含量は54.0 mol%であり、主要メナキノン MK-9(H₂)、細胞壁ジアミノ酸は Ornithine であった。分子系統解析の結果、*Ktedonobacteria* 綱の中の *Thermosporotrichaceae* fam. nov., に属する *Thermosporothrix hazakensis* gen. nov., sp. nov. とすることを提案した。さらに、こ

れまで門のレベルの帰属が不明であった *Ktedonobacteria* 綱を *Chloroflexi* 門に帰属させる事も提案した。

第5章では宮城県鬼首温泉の地熱地帯から分離した *Ktedonobacteria* 綱に属する好熱菌 ONI-1^T 株、ONI-5^T 株について述べた。分離された株は分岐した気菌糸に胞子を着生する SK20-1^T 株と同様に放線菌様の形態を示した。これらの株は 74°C まで生育でき、最適温度は 60-65°C であった。DNA の G+C 含量は、ONI-1^T 株は 60.2 mol%, ONI-5^T 株は 58.1 mol% であり、主要脂肪酸は iso-C_{17:0} で主要メナキノン は MK-9(H₂) であり、細胞壁ジアミノ酸は Ornithine であった。分子系統解析及び化学分類、培養生理学的試験の結果、ONI-1^T 株と ONI-5^T 株は *Ktedonobacteria* 綱に属する新目、新科、新属、新種であり、ONI-1^T 株と ONI-5^T 株は別種である事が明らかとなったので ONI-1^T 株を *Thermogemmatissporales* ord. nov., *Thermogemmatissporaceae* fam. nov. に属する *Thermogemmatisspora onikobensis* gen. nov., sp. nov., ONI-5^T 株は *Thermogemmatisspora foliorum* sp. nov. とすることを提案した。

第6章では放線菌様細菌 *Ktedonobacteria* 綱のライフサイクルを解析するために、SK20-1^T 株をモデルとして電子顕微鏡を用いて経時観察をした。その結果、胞子から栄養菌糸を伸長させ、その後、気菌糸を発展させ、胞子を着生させ、胞子が熟成し、遊離する事が示唆された。これらのサイクルは典型的な放線菌と同様であった。胞子の形成様式は気菌糸内の1細胞から複数の胞子を出芽によって形成する Blastospore である事が明らかとなった。このような胞子形成様式は原核生物では初めての報告である。

第7章では、*Ktedonobacteria* 綱の *Thermosporothrix hazakensis* SK20-1^T 株のドラフトゲノムを解読した結果について述べた。本菌株のゲノムサイズは 7.3 Mb, ORF 数は 6391 個であった。またその ORF は未知機能遺伝子の割合が 5 割近くあり、2 次代謝産物関連遺伝子の割合が 4.74% と高かった。糖質加水分解酵素ファミリー (GHs) を検索した結果、SK20-1^T 株の GHs は 26 種類、59 個存在した。ゲノム中に多種、多数の GHs が検出された事は多様な高分子糖類を分解できる能力がある事を示唆している。

以上、本研究は新規の好熱菌について系統分類学的解析とゲノム解析を行ったもので、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。