

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

ヴ ティ ホアン

申請者氏名

Vu Thi Hoan

環境中の微生物は、様々な共同体を築いて生活しており、その機能や生態を解明するためには、微生物の相互作用を知ることが重要である。しかし、これまでの多くの取り組みにもかかわらず、微生物相互作用に関する知見の蓄積は十分でない。本研究は、以下の 3 点を目的としている。すなわち、(1) 微細藻類と細菌の共培養系から細菌を分離、同定し、必要に応じてその分類学的性状を明らかにすること、(2) 得られた細菌培養株と微細緑藻の純粋培養株を様々な組み合わせで共培養し、共存する細菌が藻類の生育に与える影響を明らかにすること、(3) コバラミン (ビタミン B₁₂) 生産細菌とコバラミン要求性藻類とを共培養したときに、培地中のコバラミンの有無がこの細菌のコバラミン生産に与える影響を明らかにすること。

第 1 章では、微生物相互作用に関するこれまでの知見を概説したのち、研究材料として微細藻類を用いる利点を挙げつつ、本研究の目的を述べている。

第 2 章と第 3 章では、明暗条件下、無機塩類培地中で、代表的な土壌藻類の一つである *Chlorella* 属緑藻と共存して培養されている土壌由来の細菌を分離し、種または属レベルの同定と分類を行っている。4 門 10 属にまたがる計 23 株の細菌を得て、関連研究との比較考察から、特定の分類群の細菌が藻類と共同体を形成しやすい可能性を指摘した。また、分離株に含まれていた 4 つの新種候補の形態学的性状、生化学的性状、生理学的性状、および分子遺伝学的性状を解析し、そのうち *Caulobacter* 属および *Variovorax* 属の細菌について、新種記載するために必要なデータを得て *Caulobacter aquatilis* および *Variovorax aquatilis* と命名した。

第 4 章では、共培養される細菌が緑藻の生育に与える影響を試験している。緑藻としては、コバラミン非要求性緑藻 *Chlorella vulgaris* NIES-227 株およびコバラミン要求性緑藻 *Monomastix minuta* NIES-255 株を、また細菌としては上述の分離細菌から 1 属につき 1 株ずつ選んで用いた。明暗条件下、C 培地中 (コバラミンを含む) での共培養試験の結果、*C. vulgaris* NIES-227 の生育速度は共培養される細菌の影響を受けなかったが、その生存期間は一部の細菌の影響を受けた。*M. minuta* NIES-255 は共培養される細菌によって死滅速度に差を生じた。また、コバラミンを除いた C 培地中で細菌と緑藻 *M. minuta* NIES-255 を共培養することにより、3 株の細菌がこの緑藻の生育を可能とすることを見だし、これらの細菌がコバラミンを生産し緑藻に供給していると推測した。これらの細菌の 1 つ *Ensifer* 属細菌 CSBa 株は、コバラミンを十分に含む通常の C 培地中では *C. vulgaris* NIES-227 の生育速度を増大しないが、コバラミンを除いた C 培地中ではその生育速度を統計的に有意に増大した。よって、一部の藻類で知られているように *C. vulgaris* NIES-227

はコバラミン依存性および非依存性の両方の代謝経路を有しており、コバラミン非要求性であっても細菌からのコバラミン供給を受けて生育が促進されると推論した。

第 5 章では、まず *Ensifer* 属細菌 CSBa が保有すると考えられたコバラミン合成系遺伝子の同定を行っている。この細菌のゲノムのドラフト解析を行い、解読された塩基配列から遺伝子解析を行って、この細菌が好氣的コバラミン合成に関わる 22 の遺伝子 (*cob* 遺伝子群) を保有していることを明らかにした。つづいて、C 培地およびコバラミンを除いた C 培地で、明暗条件下、この *Ensifer* 属細菌 CSBa と *M. minuta* NIES-255 を共培養したときの、細菌の *cob* 遺伝子群の一つ *cobT* の転写活性をリアルタイム PCR により解析し比較している。共培養において、*Ensifer* 属細菌 CSBa は *M. minuta* NIES-255 の分泌物を生育基質として利用し、*M. minuta* NIES-255 は特にコバラミンを除いた C 培地においては *Ensifer* 属細菌 CSBa が分泌するコバラミンを利用していると考えられる。解析の結果、共培養されている状態でも、*Ensifer* 属細菌 CSBa の *cobT* は、培地中のコバラミンの有無にかかわらず同程度の転写活性をもつことが示された。

以上、本研究は、微生物の分類、生態、および応用にとって重要で新規性の高い知見を提供しており、また今後の微生物相互作用研究の足がかりとなる有用な材料を提供しており、学術的、応用的に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。