

# 審査の結果の要旨

氏名 宋 在浩

本論文は、6 章からなり、第 1 章は緒言、第 2 章は北西太平洋の深海からの細菌の分離、培養とその系統に関する検討、第 3 章は北西太平洋において分子的手法を用いた細菌群集の鉛直分布に関する検討、第 4 章は、代表的な分離株について、生理学的性状の表層分離株との比較、第 5 章は、分離株 7 株についての全ゲノム解析とその遺伝的特徴の検討、第 6 章は総合考察である。

深海は一般に 1000m 以深の海洋を示し、一般に高圧、低温、低栄養、暗黒で特徴づけられ、生物にとって過酷な環境と考えられる。しかし、そこには多くの原核生物が生息しており、それらの群集構造、生理的特性、遺伝的特性、生態についてはまだその殆どが未知のまま残されている。本研究の目的は、新たな培地を考案して深海から多くの新規培養株を得、それらの生理、遺伝的特性を明らかにして深海の原核生物の特徴を明らかにすることである。

分離培養用に Marine agar を 1/5 に希釈した培地 (1/5 MA) を開発し、さらに、1/10 R2A 寒天平板培地および、Natural Seawater Liquid Media (NSLM) を適用し、淡青丸、みらい (いずれも JAMSTEC) の航海にて、北西太平洋海域の深海からの原核生物の分離、培養を試みた。その結果 681 の細菌株を分離し、それらの 16S rDNA 遺伝子の塩基配列から、系統的位置を求めた。その結果、*Verrucomicrobia* および *Lentisphaerae* 門、*Arenicellales*, *Thiotrichales*, *Cellvibrionales*, *Kiloniellales*, *Acidimicrobiales* 目から、初めての分離株を得ることに成功した。SAR11, および古細菌は分離されなかった。さらに、*Aurantivirga profunda*, *Rubrivirga marina*, *Rubrivirga profundus*, *Lentisphaera profundus* の 4 種については新種登録を行った。分離株の中から、その新規性、代表性を考慮して、9 株を選び、以後の検討を行った。

一般に培養法で得られる分離株は全体のごく一部であるため、今回得た株が深海細菌と称してよいかどうかは別の手法で確認する必要がある。そこで、北西太平洋の 2 点で、鉛直的に採水後、順次 3 $\mu$ m, 0.2 $\mu$ m のフィルターでろ過後、それぞれのフィルター上に保持された細菌群を、PA (Particle associate)、FL (Flee living) とし、それぞれから遺伝子を抽出後、454GS-FLX Titanium にて 16S rRNA 遺伝子の塩基配列から群集組成を求めた。その結果、今回の分離株は *Erythrobacter* を除けば一般に深海に分布し、代表性に問題がないこと、また、それらの殆どが PA であり、懸濁物上に付着する傾向を持つことが分かった。

深海細菌の特徴を調べるために、分離株の増殖に与える圧力、温度、NaCl 濃度の影響を調べ、系統的に近縁な表層株と比較を行った。その結果、好圧細菌は得られなかったが、*Rubritalea* sp が好冷細菌であることを明らかにした。*Verrucomicrobia* 門に属す細菌としては初めての知見である。また、脂質の分析を通じて、深海細菌にはリン脂質の分子種が多い傾向があったが、脂肪酸、加水分解酵素群には明瞭な傾向は見られなかった。このた

め、さらに遺伝子レベルでの解析を行うこととした。

*Rubritalea*, sp., *Oceanibulbus* sp., *Sulfitobater* sp., *Limnobacter* sp.(2 株) , *Roseobacter* sp., *Erythrobacter* sp.、計 7 株の全ゲノムを明らかにし、近縁の表層株と比較を行った。その結果、深海細菌に固有と考えられる 51 の遺伝子を抽出することができた。さらに、これらの遺伝子群とメタゲノムデータを比較することにより、その多くが一致することを確認した。それぞれの遺伝子の機能は不明確な物が多く残されているが、今後、深海細菌の特徴を明らかにしていく上で新規、かつ重要な情報が得られた。

なお、本論文第 2 章の一部は Sanghwa Park, Jung-Sook Lee, Keul Chul Lee, Hiroshi Xavier Chiura, Kazuhiro Kogure, Koji Hamasaki らとの共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上の結果から、本論文は深海から新たな細菌株を分離してその記載を行うとともに、それらの生理的、遺伝的特徴に関して新しい知見を得たことから博士（環境学）の学位に相応しいものと結論づけた。

(1999 字)