

論文審査の結果の要旨

氏名 黄 淑郡

本論文は、6章からなり、第1章は緒言、第2章は海表面マイクロレイヤー（Surface Microlayer、以下 SML）用のサンプラーの検討と、それをを用いた沿岸域での SML およびその下部海水中（Underlying water, 以下 UW）の真正細菌の群集構造の解析、第3章は培養法を用いた SML および UW の真正細菌の分離株の検討、第4章は SML およびその UW の古細菌の群集構造の解析、第5章は SML における遺伝子構造の特性解析、第6章は総合考察である。

SML は海表面 1 mm に形成される薄層状の構造を示し、その下部の水界とは異なる物理化学的、生物的特徴を有する。様々な化学物質が集積し、微生物活動を活発化する一方で、環境要因の変動が大きく、紫外線による生物への損傷効果のため、生物の生息条件としては厳しい場となっている。SML については既に多くの化学的知見が得られてきたものの、微生物群集に関する報告は限られている。そこで本論文では最新の遺伝子解析技術を用いて SML の真正細菌および古細菌の群集構造およびその機能を解析する一方、培養法を用いてそこに生息する未知の細菌の記載を行うことを通じて、SML の理解を高めることを目的としている。主な成果は以下の通りである。

まず、神奈川県のお油壺湾においてポリカーボネートろ紙、ガラス板、ドラム型サンプラーによる三つのサンプリング法を検討した。それぞれから得られた試水中のクロロフィル量、TEP（Transparent Exopolymer Particles）を定量し、UW のそれと比較して濃縮の程度を見ることにより、SML の形成を判断した。その結果、約 5m/sec 以下の風の場合これらの物質が SML に濃縮されること、真正細菌の群集構造もその濃縮の程度に応じて UW 中のそれと違いを見せることを確認した。得られる試水の量、操作性、SML の選択的なサンプリングの可能性を考慮し、本研究ではドラム型サンプラーを使うことにした。

SML および UW 中の真正細菌および古細菌の群集構造を 454 Pyrosequencing によって解析した。一般にクロロフィルおよび TEP の濃縮程度が高くなるにつれて、SML に固有の群集が形成され、真正細菌では特に、*Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Chloroflexi* に属するグループがより集積される一方、SAR11、SAR324、SAR406 などは UW により多く分布していた。また *Burkholderiales*, *Planctomycetes* など、通常底泥に分布するような菌群が SML に存在していた。古細菌については、とりわけ、粒子に付着性を示す Marine group II が SML により濃縮されていた一方、定量 PCR を組み合わせた解析により、Marine group I とアンモニア酸化遺伝子 (*amoA*) は UW により濃縮されていた。しかし、SML 中の *amoA* の多様性は逆に UW のそれより高かった。

これらの遺伝子レベルでの解析に加え、細菌を分離、培養して SML に固有の株を得て、その基本的生理性状を調べ、新規の株については新たに新種として登録作業を行った。それにより、127 株を分離したうち、54 株は新規の株と判断された。その多くは *Flavobacteriales* および *Alteromonadales* に属していた。このうち、*Fabibacter misakiensis* については生理性状および遺伝子解析を加えて新種登録を行った。

SML に生息する細菌群集がどのような機能を果たしているかについては、それらの群集の遺伝子構造を調べる必要がある。このため、油壺湾と亜熱帯海域 (25°N 160°E) にて得られた SML の海水試料から遺伝子を抽出し、GeopChip にて解析した。その結果、SML には炭素固定、硝化、アナモックス、DMSP の脱メチル化に関わる遺伝子、UW にはイオウあるいはメタンサイクルに関する遺伝子がより集積していることを明らかにした。

以上の結果から、本論文は SML および UW における細菌の群集構造、およびその遺伝子構造を最新の遺伝子解析技術を用いて明らかにした実質的に最初の報告であり、SML の理解と今後の研究に大きく貢献しうるものと判断されることから、博士論文に相応しいものと結論づけた。

なお、本論文第3章の一部は Sanghwa Park, Jung-Sook Lee, Keul Chul Lee, Hiroshi Xavier Chiura, Kazuhiro Kogure, Koji Hamasaki 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2000字