

審査の結果の要旨

氏名 平岡 聡史

本論文では、以下に述べるように大きく分けて 3 種類の異なる微生物群衆のゲノム解析を行っている。一つ目の解析では東北地方太平洋沖地震に伴う津波の影響が土壌中の微生物群衆やそのゲノム進化にどのような影響を及ぼしたかを記述し解析した。二つ目の解析では、大気中に含まれる微生物の組成変化と大気の移動経路との関連を解析した。三つ目の解析では琵琶湖水中に含まれる微生物のゲノム配列を一分子シーケンサーにより決定し、ゲノム中の DNA メチル化状態および対応するメチル化酵素の候補を調査した。

一つ目の解析では、2011 年に発生した東北地方太平洋沖地震に伴う津波の影響を受けた土壌と津波の影響を受けなかった近接地における土壌を採取し、それぞれにおいて観察される微生物群衆の構造をメタゲノムショットガン解析により記述した。また、同時に土壌化学分析を行い、両者の土壌に含まれる成分を記述した。また、津波の被害を受けた土壌では従来から知られていたとおり土壌中の鉄含有量が大きく増えていることを確認した。津波土壌に適応した可能性が高い微生物として計 4 株の *Arthrobacter* 属細菌を単離培養し、ゲノム配列の決定を行った。近縁種との遺伝子比較を行ったところ鉄吸収関連化合物であるシデロフォアの合成酵素遺伝子群が欠失していることを見いだした。そこで、鉄の含有量が異なる培地で当該微生物を培養したところ、シデロフォアの合成酵素遺伝子群が欠失している株ではそうでない株と比べて、鉄に乏しい環境では増殖がより遅くなっている株を複数見いだした。以上の解析から、津波に伴い土壌中微生物が適応的に進化した可能性を示した。

二つ目の解析では、東京大学の柏キャンパスおよび本郷キャンパスの 2 カ所において雨水を約 1 年半の間継続的に採取し、雨水中に含まれていた微生物の 16S rRNA 遺伝子のシーケンシングおよび経時変化を調べる解析を行った。雨水中に含まれる微量のゲノム DNA を検出するために、コントロール実験も適切に行い誤検出を防いでいる。雨水中の細菌叢では Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes 等が多く検出され、量は比較的少ないものの病原菌も検出された。これらの微生物を、過去のメタゲノム解析に関するデータベースである MetaMetaDB を用いて照合し、どのような由来がもっともらしいかを調べた。また、気温・風速・雨量などの気象データや HYSPLIT モデルを用いた降雨直前 10 日間の大気移動軌跡シミュレーションデータを用いて、大気の移動軌跡と微生物群衆の構成比の関連を見いだした。

三つ目の解析では、琵琶湖で表層および深層の湖水を採取し、湖水中に含まれる微生物のメタゲノム全ゲノム配列決定を行った。配列決定には 1 分子シーケンサーである PacBio Sequel を用いることで、培養やノーマライゼーションを行わないメタゲノムサンプルであるのにも関わらず高連続度のゲノム配列決定を行った。また、PacBio シーケンサーによるシーケンシング生データから、パルス間時間 (IPD) の計測値変動箇所を調べて DNA のメチル化状態の推定を行った。また、それぞれの推定メチル化部位に作用する可能性のあるメチルトランスフェラーゼを比較ゲノム解析により同定した。

津波土壌中のメタゲノム解析についてはより適切な実験設定を容易に思いつくものの、地震という計画できないイベントに関連する研究である以上、厳密かつ緻密に計画された実験設定を常に求めることは合理的で無いと考えられる。また、大規模な津波は低頻度でしか発生しないため本論文の解析には記述的な価値も非常に大きいと考えられ、メタゲノム解析の研究分野に十分大きな貢献をしていると考えられる。

雨水中の細菌叢解析についても一部実験設定や解析手法に厳密さを欠く部分も見られるものの、多くの種類のメタゲノム解析においては実験手法が確立していないため探索的な研究に大きな価値があり、気象シミュレーションとメタゲノム解析を結びつけた本解析は非常に興味深く大きな貢献であると考えられる。

琵琶湖水中のメタゲノム配列決定は、微生物種数が少なく全ゲノム配列決定に適した環境サンプルを選び全ゲノム配列決定および DNA メチル化解析を行っており、十分に計画された先進的な取り組みであると言える。取得した配列量の制限から論文中に示された新規メチル化部位及びメチル化酵素が全て正しい可能性は低いものの、DNA メチル化解析がメタゲノムサンプルでも十分に可能であることを示したことは興味深い。

なお、本論文は、町山 麻子、伊地知 稔、井上 健太郎、大島 健志郎、服部 正平、吉澤 晋、木暮 一啓、岩崎 渉、楊 静佳、宮原 雅也、藤井 和志 (順不同) との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験・実装・分析・検証を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断した。

よって、博士 (科学) の学位を授与できると認める。

以上 2,019 字