

氏名	よしながいくお 吉永郁生
学位の種類	農学博士
学位記番号	農博第 683 号
学位授与の日付	平成 3 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科水産学専攻
学位論文題目	海洋性低栄養細菌の低栄養環境への適応機構

論文調査委員 (主査) 教授 石田祐三郎 教授 岩井 保 教授 吉田陽一

論文内容の要旨

本論文は外洋低栄養海域で優勢である低栄養細菌（偏性低栄養細菌および通性低栄養細菌）について、高分子合成や基質利用などの面から生理的な特性を調べ、富栄養海域の細菌群集や高濃度有機物培地で増殖している細菌のそれと比較することによって、海洋性低栄養細菌の低栄養環境への適応機構を解析し、外洋環境における低栄養細菌の生態を明らかにしようとしたもので、主な成果は以下の通りである。

1. 溶存態有機物 (DOC) 量の低い外洋低栄養海域では、DOC 量の高い富栄養サンゴ礁海域に比べて、従属栄養細菌群集に占める偏性低栄養細菌の割合がきわめて高く (90%以上)、低濃度のアミノ酸 (ロイシン) を効率よく取り込むことができた。また DOC 量とチミジン法によって見積られた細菌生産活性との間には正の相関が認められたにもかかわらず、外洋海域の細菌群集では DNA 合成活性が低い場合でも比較的高いタンパク質合成活性を保っている傾向があり、両高分子化合物の合成活性の間に明瞭な同調性がみられなかった。これらの結果から、外洋低栄養環境に適応して「獲得したエネルギーを、分裂よりも細胞活性の維持に優先的に利用する」ものと推定した。

2. 高濃度および低濃度有機物培地で増殖可能な通性低栄養細菌として海洋から分離した細菌株 KE 10 株 (*Vibrio* sp.) から、低濃度有機物培地で継代培養して低栄養環境に適応させた O-CELL、高濃度有機物培地で増殖させた E-CELL および E-CELL を人工海水中で飢餓状態にした S-CELL をそれぞれ調製し、DNA およびタンパク質合成活性を比較した。その結果、O-CELL は E-CELL に比べて DNA 合成活性はかなり低いものの、タンパク質合成活性は E-CELL と同等かそれ以上の活性を示すことが明らかになった。S-CELL ではいずれの合成活性も低いことや O-CELL は S-CELL に比べて利用基質の特異性が高いことなどから、O-CELL の特徴が外洋低栄養海域の細菌群集のそれときわめて似ていることを示した。

3. E-CELL は低親和性 (K_m 値: $1.1 \times 10^{-6} M$) と高親和性 (K_m 値: $2.7 \times 10^{-8} M$) の 2 つのロイシン取り込み系を持っているが、O-CELL と S-CELL では低親和性の取り込み系が消失し、高親和性の取

り込み系が保持されていた。O-CELL の高親和性の取り込み系は E-CELL や S-CELL のそれと比べて V_{max} 値が高く、 $1 \mu\text{m}$ 以下の低濃度のロイシン存在下では O-CELL が最も効率的な取り込み活性を示した。このことから、KE 10 株は低栄養環境下では、不必要な低親和性の取り込み系を消失させ、高親和性の取り込み系の効率を高くして低濃度の基質を有効に利用できるように適応し、またそのような適応機構にペリプラズム空間タンパク質（おそらく結合タンパク質）が関与している可能性が推定された。以上の結果から外洋においては低栄養細菌が飢餓状態ではなく、活発に低栄養増殖を行っている状態であることが示唆された。

4. 若狭湾から、低濃度有機物培地では増殖するものの ZoBell 2216 E 培地と同等の有機物濃度（2,000 mgC/l）の高濃度有機物培地では増殖することができない偏性低栄養細菌 11 菌株の単離に成功した。そのうちの KI 89 C 株の DNA とタンパク質の合成活性を調べ、その結果が外洋海域の細菌群集のそれと類似していることを明らかにし、外洋低栄養海域では偏性低栄養細菌が優占しているというこれまでの知見を確認した。

5. 偏性低栄養細菌や O-CELL の増殖が、高濃度のアミノ酸で阻害される現象を基質の取り込みの面から解析し、特定のアミノ酸が他のアミノ酸の取り込み及び同化を拮抗的に阻害することを室内及び室外実験によって明らかにした。

論文審査の結果の要旨

近年、海洋微生物学研究の発展にともない、海洋環境、とりわけ外洋低栄養海域では浮遊性従属栄養細菌から従属栄養活性の主体となり、物質循環に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。さらにその大部分が既知の細菌とは異なる低栄養細菌、とりわけ通常微生物学研究に使用される高濃度有機物培地では増殖し得ない偏性低栄養細菌であることが判明するにおよび、研究は新たな段階を迎えた。しかしこの細菌群が沿岸富栄養海域の富栄養細菌群とは生存戦略上明らかに異なる特徴を持っていると推定されるにもかかわらず、低栄養細菌の低栄養環境への適応機構およびその生理的な特性についての知見はほとんどない。本研究では、外洋低栄養海域の細菌群集およびそれらの海域から単離した偏性低栄養細菌および通性低栄養細菌の、高分子合成能や基質取り込みなどの生理的特性を調べ、富栄養海域の細菌群集や高濃度有機物培地で増殖している細菌のそれと比較することによって、低栄養細菌の生態を明らかにしようとしたものである。評価できる主な点は以下の通りである。

1. 溶存態有機物（DOC）量の異なるいくつかの海域を調査し、偏性低栄養細菌が優占している外洋低栄養海域の細菌群集は、富栄養サンゴ礁海域の細菌群集とは異なり、DNA 合成活性が低いにもかかわらず高いタンパク質合成活性を保ち、DNA とタンパク質の合成活性の間に明瞭な同調性がみられないこと、および低濃度のアミノ酸（ロイシン）を効果的に取り込むことを明らかにし、富栄養海域の細菌群集との違いを明確にした。

2. 通性低栄養細菌 KE 10 株を適応させて調製した低栄養細菌細胞 O-CELL、高栄養細菌細胞 E-CELL および飢餓細菌細胞 S-CELL についてそれぞれの特性を比較、種々の問題点を解明した。すなわち、(1) O-CELL は E-CELL よりも DNA 合成活性が低かったが、タンパク質合成活性は同等かそれ

以上であった。(2)O-CELLはS-CELLよりも基質利用特異性が高い。(3)E-CELLは低親和性(K_m 値: $1.1 \times 10^{-6}M$)と高親和性(K_m 値: $2.7 \times 10^{-8}M$)の2つのロイシン取り込み系を持っているが、O-CELLとS-CELLは低親和性取り込み系を消失し、高親和性の取り込み系($2.7 \times 10^{-8}M$ と $1.7 \times 10^{-8}M$)のみを保持していた。(4)特に $0.01 \mu M$ の低濃度のロイシン存在下ではO-CELLのロイシン取り込み速度が $4.2 \text{ pmol/min}/10^7 \text{ cells}$ であったのに対し、E-CELLおよびS-CELLのそれは3.2および $2.1 \text{ pmol/min}/10^7 \text{ cells}$ であった。(5)この取り込み系にペリプラズム空間タンパク質が関与していることを定性的に明らかにした。これらの結果からO-CELLが外洋細菌群集の特徴を代表していること、外洋では細菌群集が従来から言われている飢餓状態にあるのではなく低栄養増殖していることを明らかにしたことは特記に値する。

3. 偏性低栄養細菌の単離、培養に初めて成功し、その増殖特性、DNA合成活性とタンパク質合成活性を測定し、本細菌が外洋低栄養海域の細菌群集の特徴を再現することを見出し、外洋の海洋細菌の研究に新たな道を開いた。

以上のように本論文は、低栄養細菌、とりわけ偏性低栄養細菌が優勢である外洋低栄養海域の従属栄養細菌群集についてまったく新しい観点から研究し、考察したものであり、水産微生物学、海洋微生物生態学、並びに微生物生理学の進展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成3年4月23日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、農学博士の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。