

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	劉 文
論文題目	BREAKDOWN OF HARD-DEGRADABLE POLYSACCHARIDES IN WETLANDS (湿地帯における難分解性多糖の分解に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>湿地帯は陸上由来の難分解性多糖（主にセルロース）が蓄積する。その分解者として微生物が考えられていたが、分解酵素を持つ多くの水生無脊椎動物の存在が示唆されている。しかし、これらの生物の湿地帯分解能への寄与については不明な点が多かった。本研究では代表的な湿地帯であるマングローブと干潟に生息する無脊椎動物の難分解性多糖の分解酵素活性を調べることによって、これらの生態系において無脊椎動物がそれらの分解に果たす役割を明らかにすることを目的としている。本論文は以下のように要約される。</p> <p>第1章では、河川水が懸濁し植物プランクトンの個体数が少ないマレーシアのマングローブに多く生息している小型甲殻類（動物プランクトン）が、陸上植物由来の有機物を利用する可能性について調べている。橈脚類では採取した4種類のすべてにセルラーゼ活性を認めているが、サンプリング地点によって活性の強さが異なることを見いだしている。さらに、ザイモグラフィ分析によりセルラーゼ活性シグナルのパターンが異なったことも認めている。これらの現象は、セルラーゼ活性を持つ共生微生物の存在、あるいは環境因子によって食性が変わったことが原因だと考察している。アミ類2種類にはセルラーゼ活性は認めていない。一方、十脚類10種類については、消化器官ごとのセルラーゼ活性を測定しており、ほとんどの種において肝膵臓が他の消化器官に比べて有意に活性が高く、また、ザイモグラフィ分析によって肝膵臓のセルラーゼパターンは他の消化器官と一致した結果を得ている。肝膵臓に共生微生物が生息することが考えられにくいため、十脚類は膵臓でセルラーゼを合成し、他の消化器官に分泌していると考察している。マングローブ地域の河川は植物プランクトンによる一次生産は低いにも関わらず、生物量が多いことが知られている。本研究の結果により、これらの小型甲殻の一部は、陸上植物を一次生産者として利用して上位捕食者を支えていることを提唱している。更に、この分解能は共生微生物のみではなく、少なくとも十脚類等では内因性のものであることを示している。</p> <p>第2章では湿地帯のもう一つの代表である干潟に注目し、そこの潮間帯に生息する無脊椎動物の難分解性多糖分解能について調べている。三重県津市田中川河口域に優先的に生息している4種類の絶滅危惧種である腹足類（フトヘナタリ、ヘナタリ、ウミニナ、ホソウミニナ）の安定同位体分析を行い、ヘナタリ、ウミニナ、ホソウミニナ3種は微細藻類を主に利用し、フトヘナタリのみが底泥有機物（主に陸上由来堆積物）を利用していることを示している。この4種類の腹足類の難分解性多糖分解能を調べた結果、微細藻類の主成分であるマンナンやラミナリンを分解するためのマンナンナーゼとラミナリナーゼについては4種の腹足類間に有意な差は認められなかったが、陸上植物に含まれるセルロース、キシランを分解するセルラーゼ、キシラナーゼ活性はフトヘナタリが他の種に比べ有意に高いことを明らかにしている。これらの結果から、すべての腹足類は微細藻類を利用しているが、フトヘナタリは、低い<math>\delta^{13}\text{C}</math>値、高いセルラーゼおよびキシラナーゼ活性を持ち陸上植物の多いヨシ場に優先的に生息していることから、陸上植物由来の堆積物が多く含まれる底泥有機物を利用していると結論している。</p>			

第3章は、干潟潮下帯に生息する一種の二枚貝（ヤマトシジミ）のセルラーゼ分解メカニズム調べており、その過程で新たな体外分泌分解系を見出している。

第1節では、ベントスをふるいで除き、さらに抗生物質で微生物を殺菌した無生物底泥にもセルラーゼ活性が残存していることを発見している。本論文ではこの生物と独立したセルラーゼ活性を「環境セルラーゼ活性」と定義している。第2節ではヤマトシジミが持つセルラーゼ（Cjcel9A）の抗体を作製し、干潟底泥中に吸着したCjcel9Aの存在を確認している。底泥の組成は主に鉱物と有機物（植物残渣など）から構成されるが、「環境セルラーゼ」は植物残渣に優先的に固定されていることを見出している。さらに、ヤマトシジミが分泌したセルラーゼが植物残渣、およびその中に含まれるセルロースに固定されることを再構成実験によって証明している。セルラーゼが環境中のセルロースに固定されるためには、セルラーゼの糖質結合ドメイン（CBM）が寄与していることを明らかにした。ヤマトシジミのセルラーゼが持つ糖質結合ドメインは、低いKm値（1.7 μM）を示し、高い塩濃度でも優れた固定能を果たすことを明らかにしている。更に、固定された「環境セルラーゼ」は、セルロースをオリゴ糖、グルコースまで分解できることを明らかにし、生成したグルコースは、ヤマトシジミのセルラーゼ分泌を促進できることも明らかにしている。以上の結果から、①ヤマトシジミはセルラーゼを分泌し、②分泌されたセルラーゼは環境中にあるセルロース（植物残渣）に固定され独立的にセルロースの分解を行い、③その産物がヤマトシジミのセルラーゼ分泌を促進することで体外分解系を形成させることを明らかにした。「環境セルラーゼ」の提供者となるヤマトシジミは、「環境セルラーゼ活性」への寄与は15～75%となると推定している。ヤマトシジミの個体数によって寄与率の変化は大きいですが、ヤマトシジミのような無脊椎動物は体外分解系に通って湿地帯分解能への寄与は無視できないものであると提唱している。

注)論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

代表的な湿地帯であるマングローブと干潟に生息する無脊椎動物のセルロース分解能について検討し、その結果に基づき、少なくとも一部の無脊椎動物は陸上植物由来のセルロースを利用していることを明らかにした。これらの無脊椎動物は陸上植物の残渣を利用し、その結果上位捕食者を支え、さらに湿地帯の浄化に寄与していることを提案している。成果として評価すべき点は次の通りである。

1. 植物プランクトンの生産量の低い懸濁したマングローブ域の河川において、無脊椎動物の一部がセルラーゼ活性を持つことを見出し、さらに消化器官別のザイモグラフィ分析により小型甲殻類は、内因性セルラーゼを持つことを示した。これらの結果からマングローブ地域において小型無脊椎動物が陸上由来有機物を利用することでマングローブ地域の生態系を支えることを明らかにした。
2. 干潟に生息する腹足類は微細藻類を利用する以外に、同位体分析およびセルラーゼ活性の存在から、一部の種では陸上由来有機物を利用していることを明らかにした。さらに、干潟の中でアシが繁茂する場所にはセルラーゼ活性を持つ種が優先し、セルラーゼ活性の有無は干潟での棲息環境とも相関することを見出した。
3. シジミのセルラーゼに対する抗体を用いて、シジミはセルラーゼを体外に分泌し、分泌されたセルラーゼは陸上植物由来のセルロースに結合し、セルロースを環境中で分解し、その結果生じた分解物をシジミが利用していることを見いだしている。さらにセルロース分解物がシジミセルラーゼを誘導していることも見出している。この体外分解系により、無脊椎動物を含めて多くの生物は「共有財産（酵素）」を湿地帯の底泥に提供することで湿地帯全体を「分解工場」にする可能性を提唱している。

以上のように、本論文は、湿地帯における陸上植物由来のセルロースの分解に微生物以外に無脊椎動物の一部が関与していることを示し、さらに一部の無脊椎動物は環境中にセルラーゼを分泌し、体外分解系の存在を初めて明らかにしたものであり、海洋生物機能学、海洋生物生態学、海洋生物環境学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成28年2月5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、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）