

京都大学	博士（都市環境工学）	氏名	沈 尚
論文題目	Bacterial Dynamics in Lake Biwa: from the viewpoints of the interaction with dissolved organic matter and viruses		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>細菌は有機物の分解・無機化だけでなく、易分解性有機物を難分解性へと変換する役割を担っている。また、細菌の一部はウイルス感染によって死滅し、細胞破壊を伴って有機物が水中に回帰されることが近年明らかになってきた。しかし、難分解性有機物の蓄積が問題となっている琵琶湖では、これらの定性的・定量的な情報はほとんど無く、難分解性有機物に対する細菌の寄与は未解明のままである。そこで本研究では、有機物およびウイルスの観点から細菌の役割を解明することを目的として、調査および実験を実施した。その結果、「細菌のウイルス感染による難分解性有機物産生の加速」という仮説を提案するに至った。本論文は 5 章から成る。</p> <p>第 1 章</p> <p>本章は序論であり、琵琶湖の難分解性有機物および細菌を中心とした微生物食物網の研究に関する現状と課題点を示すとともに、本研究の目的を、（1）琵琶湖溶存有機物（DOM）に対する細菌の寄与を明らかにすること（第 2 章）。（2）炭素フラックスの推定の際に重要なパラメータである細菌細胞サイズを高確度で時空間的に追跡すること（第 3 章）。（3）細菌へのウイルス感染率を感染した細菌サイズの情報とともに時空間的に解明すること（第 4 章）に設定した。</p> <p>第 2 章</p> <p>琵琶湖細菌群集が産生する溶存有機物を対象として、その多様性および琵琶湖溶存有機物への寄与を、高分解能質量分析法を用いて明らかにした。琵琶湖の細菌群集に炭素源として単一の易分解性基質（グルタミン酸ナトリウム）を与えて培養した結果、わずか 5 日間で 1,000 種を超える溶存有機物（DOM）を産生していることが分かった。これらのうち、CHO、CHON、CHOS および CHOP はそれぞれ 42.8%、16.5%、12.4% および 15.2% であった。また、細菌が産生した DOM の 3 割程度が難分解性有機物と考えられている CRAM（Carboxyl-rich alicyclic molecules）成分に帰属された。CRAM 成分に着目すれば、細菌生産 CRAM 成分のおよそ半分が琵琶湖の CRAM 成分と一致することも明らかとなった。また、核磁気共鳴分光法による DOM 構造解析も行った。その結果、細菌生産 DOM および琵琶湖 DOM とともに、二重結合や芳香環が比較的少なく、脂環式の構造が比較的多く含まれるという結果が示された。</p> <p>第 3 章</p> <p>細菌を介する炭素フラックスの推定の際に重要なパラメータである細菌細胞サイズについて、その時空間変動（18 か月＋表水層・深水層）を高確度な手法である透過型電子顕微鏡を用いて明らかにした。その結果、琵琶湖の深水層では細胞サイズの大きな細菌が成層期後半にかけて増加することが明らかとなった。従来では細菌を介する炭素フラックス（例えば細菌生産）の時空間変動を推定する際、パラメータである細胞体積を一定とみなして代表値が用いられてきた。しかし、本章の結果では、細胞体積（中央値）は同月でも深水層の方が表水層よりも最大 7 倍、深水層でも成層期の方が循環期よりも最大 5.5 倍大きくなることが分かった。また、成層期後半では表水層の方が細菌の数が多いにもかかわらず、深水層の細菌バイオマスが表水層のそれに匹敵す</p>			

京都大学	博士 (都市環境工学)	氏名	沈 尚
<p>ることも明らかとなった。今後、細菌体積をパラメータとする炭素フラックスを推定する際は、時空間変動を考慮した細胞体積の値を使用する必要があることが明らかとなった。</p>			
<p>第4章</p> <p>琵琶湖における細菌へのウイルス感染率および感染細菌の細胞体積について、その時空間変動（18 か月＋表水層・深水層）を追跡した。表水層では、細菌の増殖性が増加する夏季に感染率も増加する一方、深水層では細菌の増殖性が低くほぼ定常状態にあるにもかかわらず、成層期後半に感染率が上昇することが明らかとなった。また深水層では、感染率が上昇する時期に大きな細菌が多く感染していることも分かった。さらに、細菌生産量のうち平均で 21%（表水層では最大 67% ($0.89 \mu\text{g C L}^{-1} \text{d}^{-1}$)、深水層では最大 43% ($0.057 \mu\text{g C L}^{-1} \text{d}^{-1}$)) がウイルス感染によって DOM プールへと回帰されていると推定された。溶菌に伴って放出される DOM にはリンや窒素が多く含まれており、易分解性である可能性が高い。したがって、溶菌由来 DOM はすぐに他の細菌に利用され、DOM の再循環が加速されることが示唆された。</p>			
<p>第5章</p> <p>本研究では以下の二つの成果が得られた。(1) 細菌によって易分解性有機物の一部が速やかに難分解性有機物に変換される。(2) ウイルス感染によって細菌生産量の一部が再び DOM プールに回帰している。これらの成果を踏まえると、「琵琶湖ではウイルス感染が細菌による難分解性有機物の産生を加速する」という新たな仮説が提案された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、物質循環の中核を担う細菌の役割について、溶存有機物およびウイルスの観点から解明することを目標に研究した成果をまとめたものである。得られた主な成果は次のとおりである。

1. 琵琶湖細菌群集が産生する溶存有機物を対象として、その多様性と琵琶湖溶存有機物への寄与を、高分解能質量分析法を用いて明らかにした。細菌は5日間で単一の易分解性基質から1,000種を超える種々の溶存有機物を産生していることが明らかとなった。難分解性有機物画分として注目されているCRAM (Carboxyl-rich alicyclic molecules) 成分に着目すれば、細菌生産有機物の半数程度が琵琶湖のCRAM成分と一致したことから、細菌は湖内に供給される易分解性有機物を短期間で難分解性有機物へと変換している可能性が示された。
2. 細菌を介する炭素フラックスの推定の際に重要なパラメータである細菌細胞サイズについて、その時空間変動(18か月+表水層・深水層)を高確度な手法である透過型電子顕微鏡を用いて明らかにした。琵琶湖深水層では成層期後半に細胞サイズの大きな細菌が増加していることが明らかとなった。その結果、細胞体積(中央値)では、同月でも表水層と深水層で約7倍差、同水深でも成層期と循環期で最大5.5倍の差が生じていた。従来、細菌体積は炭素フラックスの推定の際に単一の値として代表値が使用されてきたが、本研究の成果により、より高確度な推定が期待できるものである。
3. 琵琶湖における細菌へのウイルス感染率および感染細菌の細胞体積について、時空間変動(18か月間の表水層と深水層)を追跡した。ウイルス感染率は表水層では夏季に、深水層では成層期後半に上昇することを明らかにした。また、深水層では感染率上昇に伴い、感染細菌の細胞サイズも大きくなることが分かった。溶菌に伴う溶存有機物プールへの回帰量は、細菌生産量の最大67%であると推定された。ウイルス感染に伴って放出される細菌有機物が易分解性である可能性が高いことを考えれば、放出された有機物は他の細菌によって素早く難分解性有機物へと再変換されている可能性を示した。

以上より、申請者の研究成果は、琵琶湖の難分解性有機物の産生に細菌のウイルス感染死が深く関わっている可能性を示している。難分解性有機物の産生にウイルス感染が寄与しているという仮説の検証は今まではほぼ皆無であり、申請者の研究を契機にさらなる発展が期待される。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として価値のあるものと認める。また、令和2年2月21日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行い、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。