

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	井口 博之
論文題目	Functional analysis of interaction mechanism in C1-microbial consortia stimulating methane oxidation （メタン酸化を促進するC1微生物複合系相互作用の解析）		
（論文内容の要旨） メタン資化性細菌は、温室効果ガスであるメタンを単一の炭素源・エネルギー源として生育する微生物であり、生物学的メタンサイクルの中心的役割を担い、大気中メタン削減の鍵となる微生物である。近年、植物からのメタン放出が報告されたが、植物表層でのメタン資化性細菌の生態は不明であった。また、生態環境中でメタン資化性細菌の生育やメタン酸化に正や負の影響を与える因子や環境条件については、ほとんど知られていない。本論文では、植物圏に棲息するメタン資化性細菌の生態ならびに生理的特徴を明らかにすると共に、メタン資化性細菌の生育とメタン酸化を促進する微生物間相互作用ならびにそれに関わる化学的因子を明らかにした。その主な内容は以下の通りである。 1. 様々な自然環境中から採取した植物試料（葉、花、根）について、メタンを単一炭素源とした集積培養を行うことにより、植物表層にメタン資化性細菌が広く棲息していることを明らかにした。 2. 取得した集積培養液中に含まれる微生物の遺伝子解析により、植物上には<i>Methylobacter</i>、<i>Methylosinus</i>、<i>Methylocystis</i>に属するメタン資化性細菌がメタノール資化性細菌と共存して広く棲息することを明らかにした。 3. 森林土壌より単離したメタン資化性細菌HT12株について、16S rRNA遺伝子配列およびユニークなリン脂質脂肪酸組成などの新奇な性質を明らかにし、新属・新種のメタン資化性細菌<i>Methylovulum miyakonense</i>を提唱した。 4. <i>M. miyakonense</i> HT12株が有する2種類のメタン酸化酵素、膜結合型（pMMO）と細胞質可溶型（sMMO）をコードする遺伝子の一次構造を明らかにした。さらに転写物の解析から、pMMO遺伝子群はσ^{70}依存プロモーター支配下で<i>pmoCAB</i>オペロンを形成すること、sMMO遺伝子群はσ^{54}依存プロモーター支配下で<i>mmoXYZDC-orf1-mmoGR</i>オペロンを形成することを示した。 5. メタン集積培養液より単離したメタン資化性細菌とメタノール資化性細菌の共培養について解析を行うことにより、メタノール資化性細菌はメタン資化性細菌のメタン代謝物を炭素源として利用して生育できること、メタノール資化性細菌がメタノールやホルムアルデヒドといったメタン酸化の阻害物質を消費することによってメタン資化性細菌のメタンでの生育を可能にしていること、と			

いう両者の相利共生関係を明らかにした。

6. 森林土壌を分離源として、メタンを単一の炭素源とする微生物コンソーシアムを構築し、その中から、*M. miyakonense* HT12株と共存して生育する8種の従属栄養細菌を単離、それぞれの菌株と*M. miyakonense* HT12との共培養を解析することにより、*M. miyakonense* HT12株の生育とメタン酸化を促進する5種の細菌を同定した。
7. 生育促進作用が顕著であった根粒菌*Rhizobium* sp. Rb122株による*M. miyakonense* HT12株への生育促進機構の解析を行い、*Rhizobium* sp. Rb122株が培地中に生産するコバラミンを生育促進物質として同定した。さらにコバラミンが、 γ -Proteobacteriaに属する数種のメタン資化性細菌に対しても生育促進作用を持つことを示した。

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)

メタン資化性細菌は、温室効果ガスであるメタンを単一の炭素源・エネルギー源として生育する微生物であり、生物的メタンサイクルの中心的役割を担っている。本論文では、植物圏に棲息するメタン資化性細菌の生態や生理的特徴を明らかにすると共に、メタン資化性細菌の生育やメタン酸化を促進する微生物間相互作用ならびにそれに関わる化学的因子を明らかにした。評価すべき点は以下の5点である。

1. 植物表層には、*Methylobacter*、*Methylosinus*、*Methylocystis*などに属するメタン資化性細菌が、メタノール資化性細菌と共存して、広く棲息していることを明らかにした。
2. 森林土壌より単離したメタン資化性細菌HT12株について、系統学的特徴ならびにリン脂質脂肪酸組成に関する新奇な特徴を明らかにし、新属・新種のメタン資化性細菌*Methylovulum miyakonense*を提唱した。
3. *M. miyakonense* HT12株が有する2種類のメタン酸化酵素、膜結合型 (pMMO) と細胞質可溶型 (sMMO)、それぞれの遺伝子群、*pmoCAB*と*mmoXYBZDC-orf1-mmoGR*、を同定し、それぞれが、オペロン構造を構成することを明らかにした。
4. メタン資化性細菌とメタノール資化性細菌の共培養において、メタノール資化性細菌がメタノールやホルムアルデヒドといったメタン酸化の阻害物質を除去するという、メタン資化性細菌に対する正の作用を明らかにした。
5. 根粒菌との共培養により*M. miyakonense* HT12株の生育が大きく促進されることを見出し、根粒菌が生産するコバラミンをメタン資化性細菌の生育促進物質として初めて同定した。さらにコバラミンが γ -Proteobacteriaに属する数種のメタン資化性細菌の生育とメタン酸化を促進することを示した。

以上のとおり、本論文は、植物圏にメタン資化性細菌が広く棲息することを初めて明らかにするとともに、新奇なメタン資化性細菌を見出し新属*Methylovulum*属を提唱した。さらに、メタン資化性細菌の生育とメタン酸化を促進する2つの微生物間相互作用を初めて明らかにした。これらの成果は、自然環境中でのメタンサイクルの理解に重要な知見を提供するもので、制御発酵学、応用微生物学、環境微生物学の分野に大きく寄与するものである。

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24年1月19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) Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日：平成24年 7月 1日以降