

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	川 市 智 史
論文題目	An ecological and physiological study on thermophiles in a coastal hydrothermal field (沿岸熱水環境に生息する好熱菌の生理・生態学的研究)		
(論文内容の要旨)			
近年深海熱水環境においては、122℃という高温においても増殖可能な微生物の存在が明らかになった。至適増殖温度が45℃を超える微生物は特に好熱菌と呼ばれ、それらの生息する陸性温泉や深海熱水孔といった熱水環境を対象として、その生理・生態学的研究が数多くなされている。一方で、沿岸熱水環境は場所が限られることもあって好熱菌群集に関する知見は極めて少ない。本論文では、鹿児島県山川町沿岸熱水環境という表面温度が104℃に達する高温の砂浜環境に着目し、分子生物学的手法と分離培養法を併用することでその微生物学的特徴の解明を試みた。本環境は、海水や大気暴露を頻繁に繰り返すという点において、深海熱水孔や陸性温泉といった熱水環境とは異なる環境特性およびそこに適応した独自の微生物菌群が存在することを示した。			
<u>1. 分子生物学的手法を用いた微生物菌群集構造解析</u>			
これまでに本沿岸熱水環境からは、複数の好熱細菌や超好熱古細菌の分離株が得られている。しかし、本環境の微生物菌群を包括的に解析した研究はなされていない。そこで、分子生物学的手法を用いて本環境の微生物菌群集構造を解析し、本環境の環境条件と併せた生態学的特徴を考察した。本沿岸熱水環境は、三価鉄を豊富に含む砂質(3-16 mmol/g sediment)からなり、熱水湧出点からは、水素や二酸化炭素、硫化水素が湧出していることが明らかになった。本環境内の温度・嫌気度等が異なる複数地点の堆積物や熱水試料において16S rRNA遺伝子配列に基づくクローン解析を行った結果、海洋性古細菌・細菌に近縁な配列が多く検出された。また、熱水湧出点付近の高温嫌気的な下層堆積物において、水素をエネルギー源とし、二酸化炭素を固定する独立栄養増殖が可能であるCrenarchaeota門超好熱古細菌が優占して検出された。近縁な分離株の性状から、これらの超好熱古細菌は三価鉄を最終電子受容体として用いることができると推察された。同試料からは、同様に水素を酸化して独立栄養増殖を行うAquificales目好熱細菌も検出された。また、従属栄養増殖が可能なCrenarchaeota門古細菌や、Thermales目細菌といった好熱菌も同じく高温下層堆積物を中心として検出された。本結果から、本環境は砂浜域でありながら、地下からの水素や硫化物をエネルギー源とし、二酸化炭素を固定する化学合成独立栄養生物に依存した深海熱水孔環境に類似した化学合成微生物菌群が生息する環境であることが明らかになった。また、これらの好熱菌の一部は豊富な三価鉄を増殖に利用している可能性も考えられた。 本環境中には上記の分子生物学的手法のみでは、検出できない微生物群が存在する。そこで、以降は分離培養法を用いて本環境に特徴的であると考えられる微生物の分離を試みた。その結果、新綱または新種の2株の好熱性従属栄養細菌を分離できたのでその詳細な性状解析を行った。			
<u>2. 新規偏性好気性好熱菌の分離およびその性状解析</u>			
分離された微生物株のうち1株は、至適増殖温度が70℃の偏性好気性好熱菌であり、<i>Thermaerobacter</i>属に属することが明らかになった。本株(KW1株)は、有機物の資化性やチオ硫酸が増殖に与える影響などの増殖生理が同属他種と異なり、その16S rRNA遺伝子配列解析やDNA-DNA再会合試験の結果からも新種であることが示唆され			

た。そこで、新種 *Thermaerobacter litoralis* sp. nov. を提唱した。多くの好熱菌が嫌気性であるのに対して、本種は偏性好気性を示し本環境に特徴的な微生物である可能性が考えられた。

3. 新規通性嫌気性鉄還元菌の分離及びその性状解析

同環境から分離されたもう一方の分離株（110S株）は、至適増殖温度が55－65℃の Chloroflexi 門に属する新規好熱菌であった。110S株は、これまで分離培養が報告された Chloroflexi 門細菌内で唯一、海洋沿岸域由来の分離株であり、嫌気条件下で異化的鉄還元あるいは硝酸還元による増殖が可能であった。また、本株は好気条件下で良好な増殖を示し、通性嫌気性菌であることが明らかになった。110S株はさらに同門他種と比較して、広い増殖可能温度域と増殖可能塩濃度域を有していた。これらの生理学的性状から、本株は鉄含量が豊富で、大気暴露があり、かつ潮汐の影響を受けて変化に富んだ山川町沿岸熱水環境に適応している可能性が強く示唆された。詳細な分子系統解析の結果、110S株は Chloroflexi 門に属する新綱新種である可能性が明らかになった。そこで、新属新種 *Ardenticatena maritima* gen. nov., sp. nov. および新綱 *Ardenticatena* classis nov. を提唱した。

以上の結果から、鹿児島県山川町沿岸熱水環境では地下からの水素や硫化物、二酸化炭素に依存した深海熱水孔に類似した化学合成微生物群集に加え、豊富な酸素や鉄といった環境特性に適応した特異な微生物群が混成し、独自の微生物生態系が存在していることが明らかになった。

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。

(論文審査の結果の要旨)

好熱菌は一般の生物にとって生存し難い高温の生息環境に生息することから、多くの生理・生態学的研究がなされている。また、それらが生産する酵素やその構成生体分子が耐熱性や特異性を有していることから、基礎研究や産業分野においても利用されている重要な微生物資源である。本論文では、深海に比べて試料採取が非常に容易であるにも関わらず未だに微生物学的知見が乏しい沿岸域の熱水環境に注目し、そこに生息する微生物群集の基礎的知見として、分子生物学的手法による群集構造解析および分離培養法による新規好熱菌株の獲得に成功した。主な成果は、以下の4点に大別できる。

(1) 山川町沿岸熱水環境において環境条件を測定した結果、地下から水素や硫化物、二酸化炭素が熱水とともに湧出していることを明らかにした。さらに16S rRNA 遺伝子配列に基づくクローン解析の結果、それらの化学物質に依存した化学合成微生物生態系が存在することを明らかにした。

(2) 同環境から新種細菌 *Thermaerobacter litoralis* sp. nov. KW1株の分離に成功した。本株は偏性好気性という性状を有しており、同環境に適応した微生物である可能性を示した。

(3) 同環境から新綱新種細菌 *Ardenticatena maritima* gen. nov., sp. nov. 110S株の分離に成功した。本株はChloroflexi門分離株において唯一、海洋性であり鉄還元能や硝酸還元能を持つという特徴を有しており、同環境に適応した特徴的な好熱菌である可能性が強く示唆された。さらに、本門細菌の生理・生態を考えるうえで新たな側面を提示した。また、通性嫌気性鉄還元菌であることから、微生物電池への応用に有望であると考えられる。

(4) 以上を総合し、山川町沿岸熱水環境には、深海熱水孔環境に類似した化学合成微生物生態系と、本環境の大気暴露や豊富な鉄量に適応した微生物群が混成した独自の微生物生態系が存在することを示した。

以上のように、本論文は沿岸熱水環境における環境特性と生息する微生物群集や有用新規好熱菌について重要で基礎的な知見を提供するものであり、微生物生態学、海洋微生物学、マリンバイオテクノロジー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25年2月12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： 年 月 日以降