

## 学位請求論文の審査結果の要旨

氏名

青柳 智

題目

化学合成硫黄酸化細菌を起点とする津波打上げ堆積物の嫌気分解機構

本審査会は、10月15日（木曜日）午後3時10分から、5303教室において、理工学研究科生命環境科学専攻担当教員16名、外部副査1名出席のもと公開で行われた。40分間の口頭発表と、それに引き続く約1時間の質疑応答がなされた。その後、青柳氏退席の後選考担当による約30分間の審議が行われた。

審査会の口頭発表タイトルは、題目を「化学合成硫黄酸化細菌を起点とする津波打上げ堆積物の嫌気分解機構」として行われた。東日本大震災の大津波により宮城県東松島市水田跡に打ち上がった海底堆積物を試料に、嫌気分解ポテンシャルの評価と、その分解に鍵となる微生物の同定を目的として行なわれたものである。主な内容は以下の通りである。

- ① 堆積物の嫌気分解は、海底中に豊富に存在する鉄や硫酸といった電子受容体より、エネルギー順位のより高い電子受容体「硝酸塩」を添加した時にのみ引き起こされることを発見した。硝酸塩を添加したことにより、堆積物中では脱窒と硫黄酸化反応が誘発された。さらに、堆積物中の微生物群集構造や代謝活性種が大きく変化し、実験開始時には数%の存在量であった Epsilonproteobacteria 綱および Gammaproteobacteria 綱細菌が堆積物中で優占化・代謝活性化したことを次世代シーケンス解析により明らかにした。
- ② 硝酸塩添加に優占化した微生物群を、硫黄化合物と硝酸塩のみをエネルギー源とした限界希釈培養法により分離培養に成功し、それらは既知菌との 16S rRNA 遺伝子の塩基配列相同性が 95.2%–96.7%を示す系統的に新規な *Sulfurimonas* sp. HDS01 株 (Epsilonproteobacteria) と *Thioalkalispira* sp. HDS22 株 (Gammaproteobacteria) であった。この分離菌株は硫黄酸化と脱窒により生育する化学合成硫黄酸化細菌であることが生理学試験により明らかとなり、硝酸塩添加により堆積物において引き起こされた脱窒と硫黄酸化反応はこれらの微生物が直接的に関与していたことを示した。堆積物中からの系統的に異なる複数の硫黄酸化細菌の分離株の獲得は新規性のある内容である。
- ③ 硝酸塩を添加した堆積物系内では嫌気有機物分解の最終段階を担う「メタン生成菌」の代謝活性化もみられた。分離菌（硫黄酸化細菌）は炭酸または CO<sub>2</sub> を固定して有機物を生産し独立栄養的な生育が可能であることから、系内に他の微生物の利用しやすい有機物が供給されることが示唆された。

- ④ 硝酸塩を添加した堆積物中の微生物間の炭素伝達を明らかにするために「Stable Isotope Probing (SIP)法」と次世代シーケンサーとを組み合わせた新規分析手法の導入/開発を行った。この手法により堆積物中で硫黄酸化細菌から他の嫌気微生物への<sup>13</sup>C炭素の伝達過程を高感度で検出することに成功し、堆積物中の微生物群間での物質伝達の繋がりを明らかにすることが可能となった。その結果、硫黄酸化細菌が起点となり堆積物中で休眠状態にある微生物生態系活性化が始まり、一連の嫌気分解過程の進行に繋がるという、新規で重要な知見が得られた。

本研究の成果は大きく二つで、一つは嫌気条件下において分解されることのなかった津波打上げ海底堆積物が硝酸塩の添加により硫黄酸化細菌群が活性化することによって嫌気分解を起こすキッカケとなるという新規な発見である。二つ目は研究過程で開発された新規な高感度分析法で、これまで検出出来なかった嫌気性微生物生態系の炭素伝達過程の新規な発見を可能にした独創性の高い分析手法の開発と検証からなっている。これらの鍵微生物の代謝機能や生理特性の解析および新規な分析手法を駆使することにより、硝酸塩添加後の堆積物中の微生物生態系における一連の嫌気分解過程の詳細な解明が可能となった。本研究の成果は堆積物嫌気分解の全容解明に向けて重要な知見を与えるものである。

本年9月に実施された予備審査会において幾つかの質問やコメントがあったが、本審査会での青柳氏はそれらに対して十分な説明準備を行い、それらを反映した適正な訂正と追加記載で修正した学位論文に従う発表を行った。

本審査会で行われた質疑応答の内容を踏まえ、学外副査：片山葉子教授、副査：柴田清孝教授、同：玉置仁准教授の意見を総合的に判断し、青柳智氏の博士学位請求論文は新規性、独創性などにおいて優れた内容であり、博士（理学）に適切であると考えられる。以上のような理由で、本審査会において学位授与に相応しいと判断された。