氏名(本籍) UNGKULPASVICH UMBHORN

学位の種類 博士(生物資源工学)

学位記番号 博 甲 第 9846 号

学位授与年月日 令和 3 年 3 月 25 日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

審查研究科 生命環境科学研究科

学位論文題目 Study on the Characterization of a Novel Chitinolytic

Thermophilic Anaerobic Bacterium and Its Syntrophic Relationship in Chitinolytic Bacterial Community (新規キチン分解性好熱性嫌気性細菌の

特性とキチン分解細菌叢におけるその共栄養関係に関する研究)

副査 筑波大学准教授 博士(農学) 野口 良造

副查 筑波大学准教授 博士(農学) 中川 明子

論 文 の 要 旨

キチンはエビ、カニをはじめ、昆虫や貝、キノコ等、多くの生物に含まれている多糖類の一種で、地球上でセルロースに次ぐ賦存量を持つ豊富な天然生物資源である。その構造はセルロースに類似しているが、N-アセチル-D-グルコサミンが鎖状に長くつながったアミノ多糖である。キチンは、繊維素材や土壌改良材等、バイオマテリアルとして多くの用途が期待されるが、難溶性であるため、産業利用は限られている。水産加工工場からはエビ殻やカニ殻等、キチンを含むバイオマスが大量に廃棄されている。審査対象論文は、キチン系バイオマスの有効利用を目的として、効率的にキチン分解する好熱性嫌気性細菌を探索し、キチン分解に関わる嫌気性微生物叢の単離と、その構成微生物の特徴について検討、考察を行い、キチン分解に関わる微生物を好熱性嫌気性細菌として、はじめて明らかにしている。

第一章で著者は、キチンおよびキチン分解酵素に関する論文レビューを行い、その構造、特徴及び産業利用、 さらにキチナーゼを代表とするキチン分解酵素やキチンの資化に必要な代謝系酵素に関して、これまでの知見 を整理し、キチン分解好熱性嫌気性細菌単離の研究意義や目的を述べている。

第二章で著者は、微生物多様性の高い堆肥を分離源として、結晶性キチンを含む合成培地に対して、高い分解能を有する好熱嫌気性微生物叢をスクリーニングしている。本論文では効率的キチン分解能を持つ微生物を単離するために、集積培養法を採用し、その結果、安定な微生物叢の分離に成功している。さらに純粋分離を繰り返し、より安定なキチン分解微生物叢の抽出に成功している。この微生物叢の中には少なくとも2種類以上の細菌種が存在し、かつ2種類の細菌種が優勢であることをメタゲノム解析により明らかにしている。さらに著者は、炭素源を変化させるなどロールチューブ法を繰り返し、その2種類の細菌種UUS1-1株とGT38株の純粋分離に成功している。著者は、これらの微生物種の特徴を明らかにするため、16S rRNAシーケンス解析やドラフトゲノムシーケンス解析、その系統樹解析から、UUS1-1株はHydrogenispora ethanolica とGT38株はTepidanaerobacter acetatoxydansに最も近縁で新規な細菌でないかと推察している。また著者は、これらの細菌種の共生関係にも検討を加え、主にUUS1-1株がキチン分解を担っており、GT38株は、UUS1-1株からのキチン分解物であるキトオリゴ糖や代謝産物の乳酸を利用し、キチン分解酵素が活動しやすい培地中のpH維持に寄与する共栄養関係を保っていることを明らかにした。

第三章で著者は、そのUUS1-1株におけるゲノムシーケンスデータからのゲノムの様相を述べている。著者は、次世代ゲノムシーケンサーを用いてUUS1-1株のゲノム解析を行い、ゲノム情報の登録公開を行っている。また著者は、ゲノム相同性に着目し、UUS1-1株のゲノム配列とその近縁種との関係において、フィルミクテス門の難培養細菌OPB54クラスターに位置づけられることを明らかにすると共に、新属新種として提案できることを示した。OPB54クラスターにおいて培養可能な細菌類としては、これまで知られているその近縁種Hydrogenispora ethanolica に継ぐ発見となっている。

第四章で著者は、UUS1-1株の新属新種を確立するために、本菌の生化学的・形態的特徴化を行っている。 UUS1-1株は、 $100\,\mu$ m近く伸張した菌体の特徴を持ち、ペリプラズミック構造を有するグラム陰性型の細胞壁を持つことを明らかにしている。そこで著者は、ラテン語で「長い髪の毛様な細菌」という意味を持つ「Capillibacterium」属名と「高温でキチンを分解する桿菌」という意味を有する「thermochitinicola」の種名を提案し命名した。

最後に著者は、分離したキチン分解能を有する好熱性嫌気性細菌UUS1-1株の特徴から考察される学術的意義と共に、産業利用への展望や有用性について総括している。

審査の要旨

本論文は、微生物の分離同定から、生化学や遺伝学的実験手法、さらには最新のデータベースサイエンス解析を駆使し、新規な微生物の発見に取組んだ研究成果である。特に、著者によって初めて単離されたキチン分解能を有する好熱性嫌気性細菌が、基準株として理化学研究所バイオリソースセンターとドイツ微生物保存機関へ寄託され公財として入手・アクセス可能であることは、学術的発見である。バイオマスの環境低負荷な前処理法や微生物による糖化技術は、効率的にバイオガスや有機酸製造する上で核となる技術と言える。本学位論文で得た知見は、学術的発見の価値だけでなく、キチンを含む食品廃棄物や食品加工産業からの効率的な分解・エネルギー生産プロセスの構築へ向けて有益な価値を持つ研究成果であると評価できる。

令和3年1月19日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。よって、著者は博士(生物資源工学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。