

氏名(本籍)	いま せ まさと 今瀬将人(茨城県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第4702号		
学位授与年月日	平成20年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	クロレラを中心とした微生物共生系における共生メカニズムの解析とその利用		
主査	筑波大学教授	農学博士	内山裕夫
副査	筑波大学教授	農学博士	松本宏
副査	筑波大学教授	農学博士	杉浦則夫
副査	筑波大学准教授	農学博士	青柳秀紀

### 論文の内容の要旨

現在、微生物関連産業において微生物資源を有効に利用する方法として、微生物共生系の利用が注目されている。しかし、微生物共生系は系内の相互作用が複雑であるため解析が難しく、人為的に利用することは困難であった。そこで本研究では、菌株保存機関で長期間安定に維持されてきた *Chlorella sorokiniana* IAM C-212 株から見出されたクロレラと4種類の微生物との微生物共生系における共生メカニズムの解析を行った。さらにそのメカニズムを模倣することで、新規な人工微生物共生系を構築することを試みた。

共生微生物には、接着物質を介してクロレラに直接接着する微生物と、クロレラが生産する細胞外多糖(sheath)を介して間接的に接着する微生物が存在し、クロレラと接着することで長期間安定な共生系を維持している。はじめに、直接接着に関わる接着物質について検討を行なった結果、クロレラと直接接着するカビ CSSF-1 が、糖類に特異的に接着するレクチン様の物質を細胞表層に生産していることが明らかとなった。このレクチン様の物質をコードする遺伝子の塩基配列からその機能の推定を試みたが、その詳細は未だに不明であり、現在検討中である。次に、もう一つの接着形態である sheath を介した間接接着のメカニズムを明らかにするために、Sheath の成分分析を行なった結果、sheath は主に複数の糖と金属から構成されていることが明らかとなった。また、sheath の形成には、クロレラが細胞外に排出する光合成産物由来の有機炭素化合物(EOC: extracellular released organic carbon)と培地中の2価の金属とが深く関わっていることが推察された。以上の結果をもとに種々検討を行なった結果、クロレラの培地中に2価の金属を適切に添加することでクロレラの sheath を人工的に作製する手法を確立した。また、クロレラの培養液に微生物を混合した後に金属を添加することで、sheath 内にクロレラと微生物とを共に包括した共凝集体を形成することが可能であった。本手法を用いることにより、微生物共生系に見られた間接接着を模倣した人工の微生物共生系を構築することが可能となった。

実際に本手法を用い、クロレラを中心とした人工微生物共生系(クロレラ-微生物共凝集体)を構築し、廃水処理への応用を試みた。クロレラは、リンやアンモニア等の廃水中に含まれる成分に対して高い処理能力を持っているものの、有機性廃水等に含まれるプロピオン酸を分解することができない。そこで、プロピ

オン酸を分解可能で、かつクロレラと共生可能な、EOCを栄養源として利用できる微生物を自然界からスクリーニングし、得られた微生物とクロレラとの共凝集体を構築した。構築した共凝集体は、クロレラ単独では分解できなかったプロピオン酸を分解可能であり、迅速な廃水処理が可能であった。

本研究により、自然界の微生物共生系を模倣した人工微生物共生系の構築に関する基礎的知見を得ると共に、その応用利用の可能性が示された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、微生物資源の有効利用を目指し、従来の微生物の純粋培養法を基本とした微生物利用法に代わり、微生物共生系の利用が盛んに研究されている。しかしながら、微生物共生系は微生物間の相互作用が複雑であり、そのメカニズムを解析し利用することが困難であるため、未だに微生物共生系の十分な利用がなされていない。そのため、微生物共生系の利用を可能にする新たなアプローチが切望されている。本研究では、自然界の微生物共生系のモデルとして比較的単純で、安定な、クロレラを中心とした共生系に着目し、その共生形態を解析し、クロレラと微生物との接着型の共生形態に関与する種々の物質の解析を行なった。また、細胞間の接着に関わるクロレラの細胞外多糖（sheath）の形成メカニズムの解析を行い、クロレラが細胞外に排出する光合成産物由来の有機炭素化合物（EOC：extracellular released organic carbon）と培地中の2価の金属とが関わっている事を明らかにした。さらに、そのメカニズムを模倣することで、sheathを介した接着型の微生物共生系を人工的に構築する手法を開発し、接着型の共生形態が微生物間の相互作用を密接にすることを示した。最後に、開発した手法を用いてクロレラとプロピオン酸分解菌を組み合わせた人工の微生物共生系を構築して廃水処理へ応用し、クロレラ単独では分解できないプロピオン酸を含むモデル廃水の迅速な処理に成功した。

本研究は、微生物共生系を十分に活用する事を目指し、自然界の微生物共生系を模倣することで人工の微生物共生系を構築し、利用するという全く新しい視点で研究が行われている。人工の微生物共生系は様々な有用物質生産や環境浄化への利用が期待され、その実用性および応用性は広く、高く評価できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。