



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Microbial ecology in deep-sea hydrothermal vents : the population genetics of metabolically unique chemolithoautotrophic bacteria [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	美野, さやか
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第11783号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58643
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Sayaka_Mino_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：美野 さやか

審査委員	主査	教授	尾島	孝男
	副査	教授	澤辺	智雄
	副査	准教授	工藤	秀明
	副査	准教授	中川	聡（京都大学）

学 位 論 文 題 目

Microbial ecology in deep-sea hydrothermal vents:

the population genetics of metabolically unique chemolithoautotrophic bacteria

（深海底熱水活動域の微生物生態：新規化学合成独立栄養細菌の集団遺伝）

深海底熱水活動域は熱水中に含まれる還元的無機化合物をエネルギー源とした化学合成独立栄養細菌に立脚する独自の生態系が育まれている。これらの細菌は物質循環におけるキープレイヤーであるものの、多くは難培養性であるため、その詳細な遺伝学的および生理・生化学的特徴の解明が立ち遅れていた。しかし、分離培養技術が進み、分離可能な菌群が増加したことで、それら細菌群の遺伝学的および生理学的多様性や分布様式、進化プロセスの解明などへ集団遺伝的方法論を適用した研究が展開できるようになった。本研究では、深海底熱水活動域から分離される化学合成独立栄養細菌の中でも、分離頻度の高い *Aquificales* 目 *Persephonella* 属および *Epsilonproteobacteria* 綱 *Sulfurimonas* 属の細菌集団における分布様式や遺伝学的・生化学的特徴、生理学的特徴を明らかにすることを目的に、multilocus sequence analysis (MLSA) に基づく先進的な集団遺伝学的解析を行い、これらの化学合成独立栄養細菌の集団に地理的隔離が生じていることを見だした。特に評価される成果は以下の通りである。

1. 3ヶ所の熱水活動域（沖縄トラフ（OT）、南部マリアナトラフ（SMT）、インド洋中央海嶺（CIR））から採取した合計 239 の熱水性試料を分離源とし、計 4,000 本以上の培養を行い、*Epsilonproteobacteria* および *Persephonella* を含む計 141 株の分離株の取得に成功し、これらを集団遺伝学的解析に用いた。

2. CIR の「かいいい熱水活動フィールド」から新規な *Epsilonproteobacteria* (Monchim33 株) を分離培養し、その性状を決定した。すなわち、生化学的および生理学的な形質、分子系統解析、DNA 類似性に基づく遺伝形質および脂肪酸組成などに基づく化学分類を行い、本分離株は、中温性細菌、水素酸化・チオ硫酸還元条件下で菌体と粒状物から成る黒色集合体を形成する、既知の報告例に見あたらない性質を有する新種の *Sulfurovum* 属であることを明らかにし、*Sulfurovum aggregans* sp. nov. として提唱した。
3. 好熱性のコスモポリタン種の代表として *Persephonella* の集団遺伝構造および生理学的な多様性を検討した。計 36 株を対象に、6 つのタンパク質コード遺伝子の塩基配列を決定した。この配列に基づき MLSA を行い、*Persephonella* 集団は 35 のシーケンスタイプ (ST) に分けられ、かつ各株の分離源となる海域に対応する 2 つの異なるクラスターを形成した。OT 由来株の集団と SMT 由来株の集団の間で得られた、集団の遺伝的分化の指標となる F_{ST} 値は有意に高く ($F_{ST}=0.8711, p<0.05$)、海域間で集団に遺伝的分化が生じていることを強く示唆した。さらに本集団の分化は、細菌細胞のタンパク質プロファイリングの結果とよく対応した。海域間で観察された集団の分化は、熱水の化学組成の違いよりも海域間の距離と相関することを示した。
4. *Persephonella* とエネルギー代謝が極めて類似するが系統が異なる中温菌 *Epsilonproteobacteria* に焦点を当て、その集団遺伝学的特徴や進化プロセス、生理学的特徴の解明を行った。世界の主要な 4 つの深海熱水活動域から分離された計 109 株を選び MLSA を行った。11 遺伝子座に基づく解析により、109 株で 102 の ST を認め、本菌群も遺伝的に多様な集団であった。海域内で共有される ST やアレルタイプを認め海域内における集団の交流を示唆したが、海域間でのそれらの共有はなく、かつ分離源の海域を反映した 4 つのクラスターが分子系統解析で形成されたことから、海域間の集団では交流が制限されており、*Epsilonproteobacteria* も地理的隔離を受けていた。
5. OT 集団内に 2 つのクレードを見いだし、両クレードに属する集団間で、水素酸化能に有意な差を認めた。ベイズ法に基づく集団構造解析から、現在の集団は 3 つの祖先集団から構成されており、水素酸化能が高い集団は、現在の SMT や MAR を構成する祖先集団の遺伝学的特徴を持ち合わせていることが示唆され、これらの集団は過去に遺伝的交流があったことを推測した。

以上、本研究は、拡散能や環境への適応力に長ける微生物には地理的隔離が存在しないとされる常識を覆し、世界で初めて熱水活動域の化学合成独立栄養細菌集団の遺伝学的・生化学的な生物地理的隔離を示唆した。さらに、新規な生理特性を有する海洋微生物の分離培養も進め、海洋生物資源の利活用の可能性を拡充した。よって審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。