



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Investigation of bacteria that degrade bacterial cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	SAMIA, QUAIYUM
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14208号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/79563
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Samia_Quaiyum_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（農学）	氏 名	Samia Quaiyum
審査担当者	主査	客員准教授	加藤 創一郎
	副査	教授	横田 篤
	副査	教授	曾根 輝雄（国際食資源学院）
	副査	客員准教授	北川 航

学位論文題名

Investigation of bacteria that degrade bacterial cells

（微生物細胞を分解する微生物に関する研究）

本論文は英文 77 頁、図 9、表 3、4 章からなり、参考論文 1 編が付されている。

地球上の炭素循環において、微生物は有機化合物の最終的な分解者として機能することがよく知られている。しかし微生物の増殖により生じる菌体成分もまた最終的に分解を受ける有機化合物であることはあまり着目されていない。近年の環境科学分野の研究により、微生物菌体に由来する有機物は環境中のバイオマスの 10-20%をも占めることが明らかにされた。しかしどのような微生物が、どうやって他種の微生物細胞成分を分解しているのか、その知見はあまりにも少ない。本研究は、微生物細胞の中でも特に分解が困難で環境残存性も高いことが知られている細胞壁成分（特にその主要構成成分であるペプチドグリカン）を対象とし、その分解に関与する好気性および嫌気性微生物の特定を試みた結果をまとめたものである。

1) ペプチドグリカン分解する好気性細菌の単離

微生物細胞壁の主要構成成分であるペプチドグリカンは、糖鎖が短鎖のペプチドにより架橋された構造を持ち、微生物細胞に強度を与える機能を持つ。ペプチドグリカンは微生物分解性が低く、水環境などでの環境残存性が高いことが知られている。一方でペプチドグリカンを分解し生育基質として利用する好気性微生物の研究例はこれまで 2 例しかなく、いずれも海洋由来の *Proteobacteria* に限られていた。本研究では池や河川の水や底泥、土壌を微生物源とし、大腸菌もしくは放線菌から純化したペプチドグリカン粉末を添加した寒天培地で培養し、ペプチドグリカン粉末を溶解しコロニー周辺にハローを形成する微生物のスクリーニングを実施した。その結果、計 32 株の微生物の単離に成功した。16S rRNA 遺伝子配列解析の結果、*Proteobacteria* に加え、*Actinobacteria*、*Bacteroidetes*、*Firmicutes* の 3 門に属する微生物種が単離されており、これまで考えられていたよりも多様な微生物種がペプチドグリカン分解能を有していることが明らかとなった。ハロー形成が顕著な 5 株を選択し、培養上清中のペプチドグリカン分解活性を測定した結果、*Bacillus* 属の 2 株に顕著な活性が確認された。ペプチドグリカン粉末を添加したゲルを使用し SDS-PAGE/Zymogram アッセイを行った結果、両微生物とも 70-100 kb 付近にペプ

チドグリカン分解活性を示す明確なバンドを確認することができた。期間内にタンパクの同定にまでは至らなかったが、これはペプチドグリカン分解活性を示す菌体外酵素を検出した初めての事例である。

2) ペプチドグリカン、細胞壁成分を分解する嫌気性微生物の集積培養

これまでペプチドグリカンや細胞壁成分を分解する嫌気性微生物の報告例はほとんどなかった。本研究では、水田土壌や排水処理メタン発酵汚泥を微生物源とし、大腸菌もしくは放線菌から調整した細胞壁画分、もしくは純化したペプチドグリカン粉末を唯一の基質とし、メタン生成条件で集積培養を行った。その結果、いずれの条件でも添加基質の分解に伴うメタン生成が観察され、微生物群集の集積に成功した。興味深いことに、放線菌由来のペプチドグリカンは大腸菌由来のものに比べ高い分解性を示した。集積した微生物群集について、16S rRNA 遺伝子アンプリコンの次世代シーケンス解析による菌叢解析を実施した。大腸菌もしくは放線菌由来のペプチドグリカンを添加した集積培養は、たがいによく似ていたが、それでも明確な違いが認められるものであった。Bacteroidetes、Chlorobi、Firmicutes、Thermotogae、Verrucomicrobia、WWE1 などの系統群に属する新規性の高い微生物が集積培養で特異的に優占しており、そのような未培養微生物が嫌気条件下でのペプチドグリカン・細胞壁成分の分解に寄与していることが示唆された。

以上、本研究では好気ならびに嫌気環境下で微生物のペプチドグリカン・細胞壁成分の分解に関与する微生物を特定し、これまでに考えられていた以上に多様な、もしくは未知の微生物がそのプロセスに関与していることを示すことができた。以上の結果は地球規模での炭素循環においてこれまで見過ごされていた微生物細胞の分解というプロセスの理解に寄与するとともに、余剰活性汚泥など微生物細胞をその主成分とする廃棄物の処理を効率化する将来的なバイオテクノロジーのシードとなりうるものと言える。

よって審査員一同は、Samia Quaiyum が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。