

論文審査の結果の要旨

報告番号	博(生)甲第297号	氏名	張 筱 塚
学位審査委員		主査 工 藤 俊 章 副査 金 井 欣 也 副査 荒 川 修 副査 井 上 徹 志	
<p>・論文審査の結果の要旨</p> <p>張 筱塚氏は、2006年7月に中国大連水産学院を卒業し、同年9月に同学院大学院修士課程に入学後、2010年1月に同課程を修了して農学修士を取得した。さらに同年4月に長崎大学大学院生産科学研究科博士後期課程に入学し、現在に至っている。同氏は、生産科学研究科において海洋生産科学を専攻して所定の単位を修得するとともに、各種ナマコの腸内微生物に関する研究に従事し、その成果を2012年12月に主論文「Diversity and Function of Aerobic Culturable Bacteria in the Intestine of Sea Cucumbers (ナマコ腸内の好気性培養可能細菌の多様性と機能に関する研究)」として完成させ、参考論文として、学位論文の印刷公表論文3編(うち審査付き論文3編)、学位論文の基礎となる論文2編(うち審査付き論文0編)を付して、博士(水産学)の学位を申請した。長崎大学大学院生産科学研究科教授会は、2012年12月19日の定例教授会において論文内容等を検討し、本論文を受理して差し支えないものと認め、上記の審査委員を選定した。委員は主査を中心に論文内容について慎重に審議し、公開論文発表会を実施するとともに、最終試験を行い、論文審査および最終試験の結果を2013年2月20日の生産科学研究科教授会に報告した。</p> <p>本研究ではニセクロナマコ、マナマコ、深海ナマコを対象とした。腸内細菌は、炭素源(デンプン、セルロース、アルギン酸、キシラン)や塩濃度、pHを変えた各種寒天培地を用いて好気培養を行い分離した。各分離株について塩濃度、pH、温度、酸素等の影響および各種糖質の分解能を調べた。更に、16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列を用いた系統解析を行った。</p> <p>まず、ニセクロナマコ腸内から141株の分離株を得た。それらは16S rRNA 遺伝子解析の結果55種の細菌に分類され、Firmicutes 門、Proteobacteria 門、Actinobacteria 門に属するものであった。特に、<i>Bacillus</i> 属(19種)や <i>Vibrio</i> 属(15種)に高い多様性が認められた。これらの分離株は、各種糖質分解能を有していた。また、通性嫌気性細菌や耐嫌気性細菌が好気性細菌より多く検出された。以上の結果より、これらの糖質分解能を持つ細菌が無酸素或は微酸素の腸内環境でデトリタスの分解や利用に重要な役割を果たし得ることが示され、宿主と腸内細菌の間には緩やかな共生関係が存在していることが示唆された。</p>			

次に、大きさと体色の異なるナマコ及び環境試料(堆積物、海水)から 1133 株の分離株を得た。16S rRNA 遺伝子の解析により、分離株 231 株は Firmicutes 門、Proteobacteria 門、Actinobacteria 門に属するものであった。*Bacillus* 属細菌(20 種)において高い多様性が確認された。しかし、*Vibrio* 属細菌が検出されなかった。デンプン、セルロース、キシランなどの糖質分解能を有する細菌が検出され、それらは主に *Bacillus* 属であった。耐塩性細菌、耐嫌気性細菌、好アルカリ性細菌には Firmicutes 門 Bacillaceae 科に属する細菌が多かった。環境堆積物由来の分離株の細菌相とナマコ腸内から分離された細菌相に大きな違いはなかった。これらの腸内細菌は環境由来の可能性があり、ナマコ腸内のデトリタスの分解促進作用も担うと考えられた。一方、*Vibrio* 属細菌は海産生物病原菌として知られており、一般的に海水の高温期にその存在が多く認められている。本研究で *Vibrio* 属細菌が検出されなかった原因として、大村湾は内湾であり陸の気温の影響を受けやすく、また、サンプリング時期が冬(1 月下旬)で特に水温は低かったことが考えられる。

また、深海ナマコ腸内の異なる部位から、92 株 45 種の細菌を単離した。16S rRNA 遺伝子の解析により、これらの細菌は Firmicutes 門、Proteobacteria 門に属し、主に *Bacillus* 属、*Vibrio* 属の細菌であった。腸前部由来 19 種、腸中部由来 20 種、腸後部由来 23 種が単離された。14 種の細菌が複数の部位に存在し、腸後部にやや差異が認められた。耐塩性細菌、耐嫌気性細菌、好アルカリ性細菌は主に Firmicutes 門 Bacillaceae 科細菌であった。デンプン、セルロース、キシランなどの糖質分解能を有する細菌が認められ、主に *Bacillus* 属細菌であった。複数の部位から検出された各種の糖質分解細菌の中でデンプン分解能を有する細菌(12 種)が多かった。

以上、ナマコの消化管から多くの Firmicutes 門(主に *Bacillus* 属)、Proteobacteria 門(主に *Vibrio* 属)などの細菌を単離、解析し、腸内細菌相が高い多様性を持つことや各種糖質分解能を持つことが明らかになった。これらの結果から、ナマコは宿主として、腸内微生物に餌と棲息場所を与えており、上記の細菌群が腸内において糖質等の有機物を分解し、その代謝産物や微量成分を宿主へ供給するという重要な役割を果たしていると考えられた。即ち、宿主ナマコと腸内細菌の間には緩やかな共生関係が存在していることが示唆された。また、生育環境の菌相に及ぼす影響についても考察した。

以上のように本論文は、ナマコ類腸内における微生物の多様性や機能、ナマコとその腸内微生物の相互作用による海底物質循環及び難分解物質を分解する微生物の遺伝子資源の利用等に関わる新たな発見と有意義な知見を含んでおり、関連分野に大きく寄与するものと考えられ、高く評価できる。

学位審査委員会は、海洋生産科学、水産学、微生物学等の進歩発展に貢献するところが大きく、博士(水産学)の学位に値するものとして合格と判定した。