

アミメノコギリガザミ幼生期に発生する壊死症状を伴う細菌性疾病の防除に関する研究

著者	翠川 優希
学位名	博士(海洋科学)
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2019
学位授与番号	12614博甲第544号
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00001871/

〔課程博士〕 (博士論文審査及び最終試験の結果要旨)

学生氏名： 翠川優希

博士論文題目：アミメノコギリガザミ幼生期に発生する壊死症状を伴う細菌性疾病の防除に関する研究

博士論文審査：

学生から提出された博士論文について、審査委員等の参加の下、公開発表会が2月10日に開催され、質疑応答が行われた。大変興味深い新規の知見が得られ、これらが論理立て整理・構成・記述されており、博士論文としての質を十分に確保しているとの結論に至った。各審査委員から内容・章立て等について異議はなく、高い評価を得た。

本研究は、石垣島の種苗生産施設でアミメノコギリガザミ *Scylla serrata* 幼生に発生する壊死症状を伴う細菌感染症について、原因細菌の同定、病原性、検出・診断法の開発、生物制御法について検討したものである。

まず、すでに分離されている原因菌 NY1 分離株について、性状解析、ゲノム解析を行った。本細菌は大きさ 5-10 μm のグラム陰性長桿菌で、20-33°Cの間で発育し、キチンやゼラチンなどを分解した。塩分濃度の低い培地では増殖が抑制された。本細菌の 16S rRNA を解析したところ、フラボバクテリア科の *Aquimarina hainanensis* に同定された。ゲノムシーケンスの結果、29 コンティグの全長 3.6 Mbp、G+C 含量 32.5%の配列を得た。この中に病原因子だと考えられるキチナーゼ関連 (T9SS) の 16 遺伝子を見出した。アミメノコギリガザミのほかにもアルテミア、ヤマトヌマエビ、ガザミの幼生を用いて感染実験を行った結果、これらに強い病原性を示したことから、本菌が広い宿主域を有していることが示された。ついで、病原細菌を検出する PCR 法の開発と抗血清の作製を行った。キチナーゼ遺伝子を標的とした *A. hainanensis* 特異 PCR 法を開発した。また、NY1 株のホルマリン不活化菌体をウサギに免疫して抗血清を作製し、*A. hainanensis* のみを特異的に検出できる間接蛍光抗体を開発した。さらに、本病の生物防除法として、溶菌性バクテリオファージと拮抗細菌を検討した。アミメノコギリガザミ飼育槽、沿岸海水、マングローブ、種苗生産施設排水などから2種類のバクテリオファージおよび拮抗細菌3株を分離した。1種類のバクテリオファージは、高い溶菌活性を示し、感染試験においても死亡を抑えることができ、実際の種苗生産への応用が期待された。拮抗細菌3種では感染試験で死亡をほとんど抑制できなかった。以上から、供給海水のUV等による殺菌、親ガニや孵化時のファージ処理、希釈海水による幼生飼育により壊死症発生の制御が可能と思われ、生産現場への応用が期待される。このように本研究は、学術的に極めて優れた成果であるとともに、今後、現場での本病制御に大きく貢献する優れた研究といえる。

以上の内容から、学生から提出された博士論文は、国内外の研究の水準に照らし、魚病学分野あるいは水産養殖分野における学術的意義、新規性、独創性及び応用的価値を有しており、博士の学位に値することを審査委員一同確認した

最終試験の結果要旨：

最終試験は2月10日に行われた。審査委員一同出席の下、学生に対して、博士論文の内容について最終確認のための質疑応答を行い、その内容は十分であった。一方、専門知識については公開発表会当日の質疑応答時や予備審査時でのディスカッションを含め十分であると審査委員一同確認した。学術論文は1編が第一著者として受理済み (Y. Midorikawa, T. Shimizu, T. Sanda, K. Hamasaki, S. Dan, M. T. B. M. Lal, G. Kato, M. Sano: J Fish Dis., accepted) であることを確認した。学術論文は英語で書かれており、かつ、国際会議においても英語で発表しており、外国語の学力については問題ないと判断した。また、講演発表は国際会議で4回していることを確認した。合同セミナーについて、規定の学習時間および出席回数を満たしていることを確認した。さらに、大学院海洋科学技術研究科が指定した研究者倫理教育を修了していることを確認した。

以上から、本学生について博士論文審査、最終試験とも合格と判定した。