

論文の内容の要旨

論文題目 ゲノム解読に基づく藻類進化の研究

氏名 田島 直幸

現在、地球上にはさまざまな種類の藻類が存在している。真核光合成生物が持つ葉緑体の起源は、その祖先の細胞内に共生したシアノバクテリアであるという細胞内共生説が広く受け入れられている。真核光合成生物は、シアノバクテリア由来の葉緑体を持つアーケプラスチダと、アーケプラスチダがさらに他の真核生物の細胞内に共生したことに由来する葉緑体を持つ二次共生藻類に分けられる。近年、次世代シーケンサーの発展に伴い、さまざまな生物のゲノムが解読されてきているが、ゲノムの解読された種が存在しない系統もまだ数多く存在する。広範囲な系統の生物のゲノムを解読することで、生物全体の進化を考察する新たな知見が得られると期待される。

アーケプラスチダは、紅色植物門、灰色植物門、緑色植物亜界に分けられ、二次共生藻類は紅色植物門の葉緑体を起源とするものと緑色植物亜界の葉緑体を起源とするものに分けられる。紅色植物門および紅色植物門由来の二次共生藻類は、緑色植物亜界にも劣らない多様性があり、地球環境に与える影響も大きい。ゲノムに関する知見はまだ少ない。本博士論文では、紅色植物門および紅色植物門由来の二次共生藻類のゲノム解読に重点を置き、紅色植物門のチノリモ綱チノリモ *Porphyridium purpureum* の葉緑体ゲノム、紅色植物門由来の二

次共生藻類であるパルマ藻 *Triparma laevis* の葉緑体ゲノムとミトコンドリアゲノム、シアノバクテリア *Limnothrix* のゲノムをそれぞれ解読し、コードされた遺伝子の種類やゲノムの構成を関連生物と比較した。最後に、これら 3 種の生物のゲノムと、今まで解読された藻類のゲノムを元に系統解析を行った。

紅色植物門は 2 種類の亜門、7 種類の綱に分類される。しかし、これまでに葉緑体ゲノムが解読されている紅色植物門の種類は限られており、紅色植物門の系統関係も完全に解明されてはいない。さらに、紅色植物門由来の二次共生藻類の起源も、どの系統であるか詳しく分かっていない。そこで、葉緑体ゲノムが未解読であるチノリモ綱に属し、純粋培養系が確立されているチノリモ (*P. purpureum* NIES 2140) の葉緑体ゲノムを解読した。チノリモの葉緑体ゲノムは全長 217,694 bp の環状 DNA であった。224 個のタンパク質遺伝子、29 個の tRNA 遺伝子、6 個の rRNA 遺伝子、1 個の ncRNA 遺伝子をコードすることが推定された。チノリモの rRNA オペロンは、rRNA 遺伝子はそれぞれ 2 コピーずつあり、逆向き反復配列の構造をとっていたが、16S rRNA 遺伝子と 23S rRNA 遺伝子の間に異なる tRNA 遺伝子が存在することが分かった。多くの種の葉緑体ゲノムは、2 コピーの rRNA オペロンを互いに逆向きで持っているが、rRNA オペロン内の tRNA 遺伝子も含めて同じ構造をしており、チノリモ葉緑体の rRNA オペロン構造は独自のものであることが分かった。また、リボソームタンパク質遺伝子クラスターは、他の紅色植物門や紅色植物門由来の二次共生藻類と異なり、途中で途切れて離れた場所に存在するという構造をしており、チノリモの葉緑体ゲノムは、他の種と分岐した後で大規模なゲノムの再編成が起きたのではないかと考えられた。

パルマ藻は、数枚の珪酸の殻で覆われた、直径約 2-5 μm の単細胞藻類である。最近、珪酸の細胞壁を染色する技術により、パルマ藻を分離・単種培養する方法が確立された。リボソーム小サブユニット rDNA および *rbcL* の分子系統解析の結果から、パルマ藻は珪藻の姉妹群に位置することが示唆された。パルマ藻のゲノムを解読し、珪藻と比較することで、パルマ藻に加え、珪藻の進化についても知見が得られることが期待された。パルマ藻 *T. laevis* の葉緑体およびミトコンドリアゲノムを解読した結果、それぞれ全長 117,514 bp、39,580 bp の環状 DNA であった。葉緑体ゲノムは 141 個のタンパク質遺伝子、29 個の tRNA 遺伝子、6 個の rRNA 遺伝子、2 個の ncRNA 遺伝子をコードし、ミトコンドリアゲノムは 37 個のタンパク質遺伝子、25 個の tRNA 遺伝子、2 個の rRNA 遺伝子を

コードすることが推定された。ミトコンドリアゲノムにコードされたタンパク質遺伝子の種類は、珪藻綱や褐藻綱等が属する不等毛植物門の間で、ほぼ共通していることが分かった。一方、葉緑体ゲノムにコードされたタンパク質遺伝子の種類は、いくつか異なっていた。不等毛植物門の系統関係から考えると、珪藻とパルマ藻の共通祖先種が、褐藻等の祖先種と分岐した頃と、珪藻の祖先種とパルマ藻の祖先種が分岐した頃に、それぞれいくつかの遺伝子が失われたと推定された。また、パルマ藻と珪藻の葉緑体ゲノムは、リボソームタンパク質遺伝子クラスターの位置が異なるものの、他の不等毛植物門の藻類と比べると遺伝子の並びが保存されており、パルマ藻と珪藻では、分岐した後も大規模な葉緑体ゲノムの再編成は起きていないと考えられた。

Limnothrix は *Pseudanabaena* に近縁の糸状性シアノバクテリアである。この種は、窒素欠乏時に窒素固定能に特化した細胞、ヘテロシストを形成しないことが知られている。今回解析に用いた ABRG5-3 株のゲノムを解読した結果、メインゲノムは全長約 4.8 Mbp の環状 DNA であった。4,318 個のタンパク質遺伝子、52 個の tRNA 遺伝子、9 個の rRNA 遺伝子、4 個の ncRNA 遺伝子をコードすることが推定された。また、7 種のプラスミドを持つことが分かった。そのうち、窒素固定に関わる遺伝子を多く持つプラスミドがあることが分かった。

現在、ゲノムが解読されたシアノバクテリアの種はさらに増えてきている。本博士論文では、既に解読されているシアノバクテリアゲノムと *Limnothrix* のゲノムにコードされる遺伝子やゲノム構造を比較し、シアノバクテリアの進化と合わせて *Limnothrix* のゲノムについてまとめた。

これまでの結果および既に解読されている藻類のゲノムを元に、葉緑体ゲノムに共通して保存されているタンパク質遺伝子のアミノ酸配列と 16S rRNA 遺伝子の塩基配列、ミトコンドリアゲノムに共通して保存されているタンパク質遺伝子のアミノ酸配列を用いて系統解析を行った。パルマ藻は、珪藻の姉妹群であることが全ての系統解析結果から支持された。チノリモ綱は、真正紅藻綱およびウシケノリ綱と、イデユコゴメ綱の間に位置することが葉緑体ゲノムに保存されているタンパク質遺伝子アミノ酸配列の系統解析結果から支持された。紅色植物門由来の二次共生藻類の葉緑体は、真正紅藻綱とウシケノリ綱の共通祖先よりさらに外側の、イデユコゴメ綱以外の紅色植物門が属する紅藻植物門の共通祖先に由来することが示唆された。*Limnothrix* の系統はシアノバクテリアの進化の根元に位置することが、タンパク質遺伝子アミノ酸配列の系統解析

結果から支持された。この系統解析結果をもとにシアノバクテリアゲノムの構造を比較した結果、細胞内共生の元になったと考えられるシアノバクテリアの系統とそれ以外の系統で、リボソームタンパク質遺伝子クラスターの構造が異なることが分かった。