

論文提出者氏名
田島直幸

田島直幸氏提出の博士論文「ゲノム解読に基づく藻類進化の研究」について、以下の通り審査を行ったので、その結果を報告する。

本博士論文はいくつかの生物のゲノム解読を行い、その情報をもとにした系統解析に基づいて、シアノバクテリアから一次藻類さらに二次藻類への進化について考察したものである。論文は以下の6章からなり、第1章では藻類進化に関するこれまでの研究をまとめた序論を述べ、第2章では海洋性単細胞紅藻チノリモの葉緑体ゲノム解読について、詳細なデータを記載している。第3章ではパルマ藻の葉緑体とミトコンドリアのゲノム解読について述べ、第4章ではシアノバクテリアの一種 *Limnothrix* sp. ABRG5-3 のゲノム解読について記載している。これらのデータをもとに、第5章では、シアノバクテリアから藻類の葉緑体にまたがる系統解析を行い、第6章では、全体を総括している。

近年、次世代シーケンサと呼ばれる分析装置を用いたゲノム解読が普及してきている。本研究は、こうした新しい技術をいち早くわがものとし、シーケンサによって得られる膨大なデータを最初にアセンブルして得られるコンティグと呼ばれる分断された配列から、PCR (ポリメラーゼ連鎖反応) を用いたギャップ部分の増幅と配列決定の繰り返しを経て、一続きの完全なゲノム配列を完成するという、注意深い実験操作と根気強い作業の積み上げを経て、藻類のオルガネラゲノムとシアノバクテリアゲノムを完全解読した研究である。本博士論文では、この膨大なギャップを埋める作業の困難さなどについては、ほとんど触れられていないが、現実には、こうした作業は実験とコンピュータのスキルの両面を必要とするもので、なかなか誰にでもできる仕事ではない。こうして得られたデータをもとに、論文提出者は、それぞれのゲノムの特徴をまとめ、さらに系統関係を論じている。

藻類の進化については、二通りの細胞内共生を考えるものが主流である。一次共生は、紅色植物門、灰色植物門、緑色植物門からなるアーケプラスチダを生み出し、二次共生では、紅藻からは不等毛植物など、緑藻からはユーグレナ植物などが生まれたとされる。本研究では、特に紅藻による二次共生に重点をおいて、珪藻との近縁関係が示唆されているパルマ藻のオルガネラゲノムの解析が行われた。こうしてシアノバクテリア1種と紅藻1種の葉緑体ゲノムも加えて、シアノバクテリアから紅藻、紅藻の二次共生藻とつなぐ解析が行われた。このような2つの共生をまたいだ系統解析が、本研究の特色である。

以下、第2章以降の内容について、詳しく述べる。

第2章ではチノリモの葉緑体ゲノム解読が記されているが、その目的は次の通りとされる。紅色植物門は2種類の門、7種類の綱に分類されるが、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かった。紅色植物門由来の二次共生藻類の起源も、詳しく分かっていなかった。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することを目的とした。全長 217,694 bp の環状 DNA という葉緑体ゲノムには、224 個のタンパク質遺伝子のほか、29 個の tRNA 遺伝子、6 個の rRNA 遺伝子などがコードされていたが、最大の特徴は、2 コピーずつある rRNA オペロンを含む逆向き反復配列の構造において、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であった。このような逆向き反復配列の例は知られていない。また、リボソームタンパク質遺伝子クラスターの構造が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しており、この点から、チノリモ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。

第3章では、パルマ藻の葉緑体とミトコンドリアゲノムの解析が述べられている。パルマ藻は数枚の珪酸の殻で覆われた、小型の単細胞藻類であるが、最近、単種培養する方法が確立されたため、それを用いて、世界で初めてのパルマ藻のゲノム解読をおこなった。パルマ藻 *Triparma 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に基づいて、系統関係の推定が行われた。ミト

コンドリアゲノムと葉緑体ゲノムにコードされたタンパク質遺伝子の種類に基づいて、進化に伴う遺伝子の欠失・獲得の道筋が推定された。パルマ藻と珪藻の葉緑体ゲノムを比較した結果、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、大筋で遺伝子の並びが保存されていることから、両者の近縁性が確認された。

第4章では *Pseudanabaena* に近縁の糸状性シアノバクテリアである *Limnothrix* ABRG5-3 株のゲノムを解読した結果が述べられている。メインゲノムは全長約 4.8 Mbp の環状 DNA で、4,318 個のタンパク質遺伝子と 52 個の tRNA 遺伝子などをコードしていた。これに加えて、7 種のプラスミドを持つことも分かり、そのうちには窒素固定に関わる遺伝子を多く持つプラスミドがあったが、このシアノバクテリアが窒素固定能を持つのかは今後の課題とされる。次に、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られている。

第5章では、以上の結果および既に解読されている藻類のゲノム配列を元に、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結果が述べられている。重要な結果は以下の点である。パルマ藻が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こと、チノリモ綱が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支持されたこと、紅色植物門由来の二次共生藻類の葉緑体が、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亜門の共通祖先に由来すると示唆されたこと、*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支持されたこと。

第6章ではこれらの結果を基にして、一次共生のもととなったシアノバクテリアが、A と呼ばれるグループに属していたことが推論されている。

以上の研究結果は、独自の配列解析結果に基づいて行われた系統解析の集大成として、藻類の進化の研究に、大きな貢献をなすものと考えられた。また、この種の研究の常として、数多くの共同研究者との共同研究であるものの、本博士論文に記載された内容に関しては、申請者自身の貢献によるものであることが認められた。

したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するのにふさわしいものと認定する。