

論文審査の結果の要旨

氏名 川船 かおる

本論文は 4 章からなり、第 1 章は、イントロダクションであり、第 2 章は緑藻細胞内バクテリアの分子同定とボルボックス (*Volvox carteri*) 各株における細胞内バクテリアの有無の調査、第 3 章は細胞内共生リケッチアからボルボックスへの遺伝子水平伝播の発見と解析、第 4 章は総合的な議論が述べられている。

真核生物の細胞のミトコンドリアは偏性細胞内寄生バクテリアであるリケッチア目に近縁な祖先が細胞内共生したものと考えられている。リケッチア科のリケッチア科は主に節足動物細胞を宿主とする。しかし近年、ヒドラや繊毛虫の細胞内からも本科バクテリアが発見されており、節足動物細胞を宿主とするものとは系統的に異なる「ヒドラグループ」に所属することが報告されていた。また、緑藻ボルボックス目の複数の株において、細胞内共生バクテリアが透過型電子顕微鏡観察により報告されていたものの未同定であった。論文提出者は修士課程の研究において、単細胞ボルボックス目 *Carteria cerasiformis*、群体性ボルボックス目 *Pleodorina japonica* から、細胞内共生バクテリア由来と考えられる 16S ribosomal (r)RNA 遺伝子配列を決定し、系統解析により配列がリケッチア科のヒドラグループに位置することを明らかにした。しかし、純粋培養されていないバクテリアの分子同定を実施するためには、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) 等により、系統樹上のヒドラグループに位置する 16S rRNA 配列をもつバクテリアが宿主緑藻細胞内に存在することを示す必要があった。また、モデル生物であり核ゲノム配列が解読されている、群体性ボルボックス目 *Volvox carteri* から報告されていた細胞内バクテリアは未同定であった。

したがって、博士課程の本研究では、*C. cerasiformis*、*P. japonica*に加え、新たに *V. carteri* から取得したバクテリア 16S rRNA 遺伝子配列を用いて、系統解析と FISH による細胞内共生バクテリアの分子同定を実施し、これら緑藻 3 種の細胞内バクテリアがリケッチア科のヒドラグループに位置することを示した。更に世界各地のカルチャーコレクションから入手した *V. carteri* 計 13 株を用いて、DAPI 染色とゲノム PCR を実施した結果、リケッチアが検出されたのは UTEX 2180 株のみであった。リケッチアを持たない 12 株の *V. carteri* のうち、EVE 株は核ゲノム配列が公開されている。予備的に EVE 核ゲノムに対する BLASTN 検索を実施した結果、緑藻細胞内リケッチア 16S rRNA 遺伝子配列に類似した配列が検出された。よって本研究では、新規に *C. cerasiformis* 細胞内リケッチアのドラフトゲノム配列 (約 1.3 Mbp) を構築し、これを用いて *V. carteri* EVE 株ゲノム配列に対するリケッチア遺伝子類似配列の網羅的探索を実施した。その結果、EVE 核ゲノム Scaffold 6 上の約 9 kbp の領域にリケッチア 4 遺伝子 (16S rRNA・*murB*・*ddlB*・*ftsQ*) に類似した配列を発見した。さらに、リケッチアを持たない *V. carteri* 12 株を調査した結果、9 株からヒドラグループに位置するリケッチア遺伝子類似配列を得た。よって、現在リケッチアを持たない *V. carteri* 9 株では、リケッチアから緑藻細胞に遺伝子水平伝播が生じたと考えられ、かつて細胞内にリケッチアが共生していた可能性が示唆された。また *murB*・*ddlB* 配列の系統解析の結果、過去のリケッチアは現在 *V. carteri* UTEX 2180 株の細胞内に存在するリケッチアよりも、*P. japonica* の細胞内リケッチアに近縁であった。よって、*V. carteri* には最低でも 2 系統のリケッチアが共生していたことが示唆された。

本研究は非捕食性の植物細胞内からリケッチア目のバクテリアを発見した最初の例である。さらに本研究では、植物細胞共生リケッチアのゲノム配列を新たに構築し、本新規ゲノムを用いた網羅的解

析から宿主緑藻細胞の核ゲノム中のリケッチアからの遺伝子水平伝達の全貌を明らかにし、極めてオリジナリティーの高い研究成果となった。

なお、本論文第 2 章と 3 章の一部は本郷裕一・浜地貴志・坂本智昭・倉田哲也・廣岡俊亮・宮城島進也・野崎久義との共同研究であるが、論文提出者が主体となって観察及び解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。