

論文審査の結果の要旨

氏名 松崎 令

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 章はコスモポリタン種とされる氷雪性クロロモナス属 2 種の不動接合子の系統解析、第 3 章は比較光学・電子顕微鏡観察と分子情報を組み合わせた氷雪性クロロモナス属の培養株の解析、第 4 章は総合的な議論が述べられている。

残雪が緑や赤などに染まる“彩雪”は、雪や氷河中の雪解け水に生息する氷雪藻が高密度に繁殖することで引き起こされる。1960 年代までは、緑色の雪に一般的に優占する遊泳性の緑藻はクロロモナス属 (*Chloromonas*; 以降 *Chr.*) などの、赤い雪に優占する不動性の緑藻 (細胞内に赤色の色素を蓄積する) はスコティエラ属 (*Scotiella*) やコダテラ属 (*Chodatella*) などの種として分類されていた。Hoham ら (以降 Hoham グループ) は北米産の彩雪試料の継続的観察から氷雪性クロロモナス数種の遊泳栄養細胞と不動接合子の対応関係を明らかにした。その結果、従来スコティエラ属やコダテラ属などの不動性緑藻の種として分類されていた氷雪藻は氷雪性クロロモナス属の不動接合子であるとして、これらの種をクロロモナス属に分類し、不動接合子の形態が氷雪性クロロモナスの重要な種の識別形質とした。特に *Chr. nivalis* と *Chr. brevispina* の不動接合子と形態的に同定できる不動性の細胞が世界各地の彩雪から報告されていたため、Hoham グループはこれら 2 種をコスモポリタン種と認識した。また、その後の研究では Hoham グループの種概念に基づいてこれら 2 種は不動接合子の形態情報だけで種が同定されているが、北米産以外の試料では不動接合子と遊泳栄養細胞の対応関係は報告されていない。また、野外試料中の氷雪性クロロモナスの不動接合子から遊泳栄養

細胞を誘導した研究はこれまでに皆無である。

氷雪性クロロモナス属の遊泳栄養細胞の培養株が 1970 年代から確立されはじめ、世界各地の藻類株保存施設で培養株が保存・公開されている。しかし、接合子の形態情報を欠くためか、多くは正確な種が不明のままである。また、近年の微細緑藻の分類学的研究では、接合子の形態情報がなくても、複数の培養株を用いた微細構造観察や分子系統など、様々な手法を組み合わせた多面的な研究によって種が識別されている。しかし、氷雪性クロロモナス属ではそのような種レベルの分類学的研究は実施されていなかった。

近年、単細胞シーケンス法等によって “*Chr. nivalis*” 不動接合子から葉緑体 *rbcL* 遺伝子と 18S *rDNA* の配列情報を用いた 2 個の分子系統学的研究が実施されたが、解像度も低く、両研究では分子種が異なるため、使用された接合子試料の相互の系統関係は不明である。従って、野外試料中の不動接合子の正確な種同定には、不動接合子試料からの複数領域の配列情報の獲得と、培養株だけを用いた種分類法の両者が必要と考えられた。

論文提出者は博士課程の研究において、野外試料中の接合子および培養株から得られる形態情報と分子情報を組み合わせて、彩雪中のクロロモナス属の種多様性を解明することを目的とした。第 2 章では、野外試料中の不動接合子から DNA の複数領域の配列情報を決定する手法を確立し、複数遺伝子と高進化速度 DNA 領域の分子系統解析を実施し、Hoham グループの種概念において *Chr. nivalis* または *Chr. brevispina* と同定される不動接合子が複数の隠蔽種を含むことを明らかにした。第 3 章では氷雪性クロロモナス属の複数の培養株を用いて、光学・蛍光・透過型電子顕微鏡による比較形態解析と複数遺伝子分子系統を実施し、培養株だけで種を分類することに成功し、日本の緑雪を構成する 2 新種を発見した。

本研究は野外試料である彩雪中のクロロモナスの不動接合子から

複数 DNA 領域の塩基配列を得る方法を開発し、初めて氷雪性クロロモナスの不動接合子の系統的位置を高解像度で明らかにした。さらに本研究では、氷雪性クロロモナスの培養株を用いた比較光学・電子顕微鏡観察と複数 DNA 領域による系統解析で、本生物群で初めて培養株だけで種レベルの識別が可能であることを示した。これらの結果、野外の接合子と培養株との系統的な照合が可能となり、野外試料中の氷雪性クロロモナスの接合子が種レベルで正確に同定できたという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 章の一部は原慶明・豊岡博子・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。