

氏名(本籍)	矢吹彬憲(神奈川県)			
学位の種類	博士(理学)			
学位記番号	博甲第5709号			
学位授与年月日	平成23年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	Taxonomic Studies on Several New Non-Photosynthetic Protists (複数の新規非光合成性原生生物に関する分類学的研究)			
主査	筑波大学准教授	博士(理学)	石田健一郎	
副査	筑波大学教授	理学博士	井上勲	
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	稲垣祐司	
副査	筑波大学准教授	博士(農学)	鈴木石根	

論文の内容の要旨

現在、真核生物には6つの巨大生物群(スーパーグループ)の存在が認識され、細胞内共生などの興味深い進化現象に関する知見も集積されている。一方で、野外には多くの原生生物が未発見/未記載のまま取り残されている。中には高次分類群(綱や目)レベルで新規の原生生物も含まれると考えられ、それらの発見が生物進化解明のカギとなることもある。多様性の把握は生物学における主要な研究課題のひとつであり、またその十分な理解なくして信頼に足る系統進化の議論や分類体系の構築はできない。従って、多様性の解明を目的とした分類学的研究は非常に重要であり、継続的に行われなければならない。

本論文で矢吹氏は、非光合成性原生生物を広く野外より採集・培養株化し、そのうち10株について、詳細な形態・微細構造観察と分子系統解析の両面から分類学的な研究を行なった。それによりケルコゾア門に新たに4つの新属新種を発見するとともに、2つの所属不明生物が本門に含まれることを明らかにした。また、真核生物の高次分類群レベルで新規と考えられる4つの原生生物も発見し、分類学的な位置を明らかにした。これらの研究により、多様性の理解が最も遅れている生物群の一つである非光合成性真核生物の進化と多様性の理解へ向けて大きな貢献をした。以下は、具体的な研究内容である。

(1) ケルコゾア原生生物の多様性把握に向けた分類学的研究

ケルコゾア門は1998年にCavalier-Smithによって、分子系統解析の結果だけに基づいて設立された分類群である。現在、野外には多くの未発見ケルコゾア生物が残されていると考えられ、既知のケルコゾアの多様性は氷山の一角に過ぎないという認識が持たれている。ケルコゾア生物群における形態的特徴を正確に把握する上でも、またその群内で起こった進化を考察する上でも、その正しい多様性の把握は重要な研究課題である。本研究では、ケルコゾアに含まれると思われる6つの新規培養株(YPF501, YPF808, YPF502, YPF610, YPF804, YPF927)について分類学的な検討を行った。

a) *Ovulinata parva* の系統的位置の特定: *O. parva* は有機質の殻を持つアメーバという特徴からケルコゾアのTectofilosida目に属すると考えられていたが、分子系統解析の結果Eugilyphida目に属することが示された。

この Euglyphida への帰属は形態形質からは全く予想されなかったもので、Euglyphida の新たな多様性の解明に貢献した。

b) *Quadricilia rotunda* の系統的位置の特定：*Q. rotunda* は所属不明の原生生物として扱われてきたが、分子系統解析の結果、環境配列のみで構成されていた Novel Clade2 と呼ばれる系統群に属することが示された。これによりこれまで実体不明であったケルコゾア系統群の一つを実生物と対応させることに成功した。

c) YPF502 株の分類学的位置の決定：YPF502 株は網状の糸状仮足を持つアメーバ状生物で、分子系統解析の結果、共同研究者 David Bass 博士の複数の培養株とともに Endomyxa 亜門の中で独立した新規系統群を形成することが示された。この結果をもとに YPF502 は、新属 *Filoreta* のメンバーの一つとして新種記載するのが妥当であるとの結論を得た。

d) *Mataza hastifera* n. g., n. sp. の記載：YPF610 株はプランクトン性鞭毛虫で、環境配列のみの系統群の一つに含まれることが確認された。詳細な微細構造観察の結果、Cryomonadida 目に属する生物に類似の特徴をもつことが確認された。しかしながら分子系統解析からは YPF610 と cryomonads との明確な類縁性は示されなかった。そこで YPF610 は Cryomonadida 目の上位分類群 Thecofilosea 綱に含まれる新属新種 *Mataza hastifera* として扱うのが妥当であり、これまでに認識されていなかった Thecofilosea 綱の新たな多様性を示す生物群であるとの結論を得た。

e) YPF804 株の分類学的位置の決定：YPF804 株は分子系統解析の結果から、Filosa 亜門に含まれる全く新たな独立した系統であることが示された。また、生活環の一部に見られる壁を持たない球状細胞には、表面に接着した不動性の鞭毛があることが確認された。これらの特徴を有するケルコゾア生物の報告は無く、YPF804 は全く新たなケルコゾア生物であることが確認され、分類学的には新属新種以上の新規メンバーとして扱うのが妥当であると認識された。

f) *Flexomonas parva* n. g., n. sp. の記載：YPF927 株は、Glissomonadida 目に含まれることが分子系統解析によって示された。本目には環境配列のみで構成される複数の系統群が知られており、YPF927 株はそのうち Clade Z と呼ばれる環境配列系統群に含まれることが判明した。形態観察の結果、既知の glissomonads と共有する特徴を有する一方で、運動様式や栄養細胞の形態が既知種と異なっており、YPF927 株は本目の新属新種 *Flexomonas parva* として扱うのが妥当という結論を得た。

(2) 新規高次分類群と考えられる原生生物 4 培養株の分類学的研究

真核生物における新規高次分類群の発見は稀であるが、それらの発見・研究に伴い得られる知見のインパクトは膨大であると期待される。またこのような原生生物は、真核生物全体の多様性や進化をより深く議論する上で最重要の研究対象である。本研究では高次分類群レベルで所属不明な原生生物の 4 つの新規培養株 (YPF602, TKB-055, “microheliozoan TCS-2002”, YPF923) について複数遺伝子に基づく分子系統解析と電子顕微鏡観察等に基づき分類学的な検討を行った。

a) *Palpitomonas bilix* n. g., n. sp. の記載：YPF602 株は一次植物と近年ハクロビアとして認識されるようになったクリプト藻類やテロネマ類を含む生物群との中間的性質を併せ持つ新規原生生物であり新属新種 *Palpitomonas bilix* として扱うのが妥当であるという結論を得た。

b) *Tsukubamonas globosa* n. g., n. sp. の記載：TKB-055 株は近年認識されるようになった Excavata の巨大サブグループ Discoba の独立した新規系統であり新属新種 *Tsukubamonas globosa* として扱うのが妥当であるという結論を得た。

c) *Microheliella maris* n. g., n. sp. の記載：“microheliozoan TCS-220” 株は太陽虫として認識されている生物と形態的には類似しているものの全く新たな真核生物内の系統であり新属新種 *Microheliella maris* として扱うのが妥当である

d) *Rigifila ramosa* n. g., n. sp. の記載：YPF923 株は Micronucleria として知られる高次新規原生生物に近縁な生物で新属新種 *Rigifila ramosa* として扱うのが妥当であることが結論として得られた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

原生生物の多様性研究は、光合成を行ない比較的容易に培養できる藻類や病気などの原因となる病原性寄生虫などに偏って行なわれてきた経緯があり、自由生活性で非光合成性の原生生物については、繊毛虫など一部のグループを除き非常に遅れている現状がある。これは、生物全体の多様性や系統・進化の理解において大きな障壁となっている。矢吹氏は、ケルコゾアを中心に所属不明なものも含めて非光合成性原生生物の新規培養株を多数作成し、そのうち 10 株について詳細な形態・微細構造の観察と最新の分子系統解析法による系統解析を行なった。その結果、ケルコゾア原生生物に 3 新属 4 新種を発見・記載するとともに、所属不明の 4 株についてそれらの系統的位置を確定し 4 新属 4 新種として記載を行なった。また、環境配列のみで知られていたケルコゾア原生生物の系統の一つについて、その実態を明らかにすることにも成功した。本研究で発見・記載された生物のいくつかは、真核生物の大進化やケルコゾアなどの真核生物の主要グループの進化を理解する上でカギとなりうる生物であり、真核生物全体の多様性や進化の理解に大きく貢献するものである。また、培養株の作成と維持が一般に困難で、研究が遅れていた非光合成性原生生物において、詳細な分類学的研究の結果 8 種もの新規生物を発見するとともに 2 種について新たに系統的位置を確定したことは、高く評価できる。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。