

氏名	鈴木 重勝		
学位の種類	博 士 (理学)		
学位記番号	博 甲 第 7736 号		
学位授与年月日	平成 28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	Evolution of Nucleomorph and Plastid Genomes in the Chlorarachniophytes (クロララクニオン藻における色素体ゲノムとヌクレオモルフゲノムの進化に関する研究)		
主査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	石田 健一郎
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	桑山 秀一
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	鈴木 石根

## 論 文 の 要 旨

クロララクニオン藻は、緑藻（一次植物）を細胞内共生者とする“二次共生”により色素体を獲得した、いわゆる二次植物の一群である。一般に、二次共生の過程では共生者核遺伝子の大部分は消失、または宿主核へ水平伝播しており、宿主核へ移動した遺伝子の多くは宿主細胞により転写、翻訳され、色素体に輸送される。多くの二次植物においては、共生者核は完全に消失しているが、クロララクニオン藻は、例外的に共生藻の痕跡的な核（ヌクレオモルフ）を保持している二次植物の一つであり、二次共生成立過程の中間段階に相当するモデルとして注目されている。ヌクレオモルフは他の二次植物の様に今後さらに縮退し消失するのか、このまま維持されていくのかという観点からも興味深いオルガネラである。クロララクニオン藻の色素体には、原核型の色素体ゲノムに加えて真核型のヌクレオモルフゲノムという2種類のオルガネラゲノムが存在することになる。細胞内共生における色素体の進化を理解するために、これらのオルガネラゲノムの進化を理解することは非常に重要である。

クロララクニオン藻の色素体ゲノムとヌクレオモルフゲノムは、これまでに2種 (*Bigeloviella natans*, *Lotharella oceanica*) において解読されており、いずれのゲノムも共生者である緑藻のゲノムよりもサイズが大きく縮小していることが知られている。二次共生成立過程で、クロララクニオン藻の2つのオルガネラゲノムがどのように縮退進化してきたかということ推察するため、本研究では、クロララクニオン藻の多様性を網羅する更なる3種 (*Gymnochlora stellata*, *Lotharella vacuolata*, *Partenskyella glossopodia*) の色素体ゲノムと2種 (*Amorphochlora amoebiformis*, *L. vacuolata*) のヌクレオモルフゲノム配列を新たに解読し、比較解析を行った。

クロララクニオン藻5種の色素体ゲノムは、サイズが67.5 kbp ~ 72.6 kbpであり、94 ~ 98 遺伝子を含んでいた。遺伝子の種類やコード順などの構造は種間で高度に保存されている一方で、緑藻の色素体ゲノムと比べると大きく異なっていた。これは、クロララクニオン藻の共通祖先で、現在の色素体ゲノムの構造が確立し、種分化の過程でほとんど変化しなかったことを示唆した。クロララクニオン藻の色素体ゲノムは、遺伝子密度が非常に高い構造であり、頻繁なゲノム再編成は遺伝子破壊の可能性を高めることから、色素体ゲノム構造が保存されてきたと考えられる。また、クロララクニオン藻の色素体の起

源をより詳細に明らかにするために、新たに解読した色素体ゲノム遺伝子を用いて分子系統解析を行ったところ、クロララクニオン藻の色素体はアオサ藻綱ハネモ目に近縁な緑藻に由来することが示唆された。

ヌクレオモルフゲノムについては、4種のクロララクニオン藻で比較解析を行なった。機能既知遺伝子は、86%にあたる171遺伝子が種間で保存されており、そのうち17個の色素体関連遺伝子は4種間で完全に保存されていた。従って、クロララクニオン藻の二次共生成立の初期段階で、共生緑藻の核ゲノムは大きく縮小し、クロララクニオン藻の種分化以前にヌクレオモルフゲノムの基本的な構造が確立したと考えられる。更に、種間で独立に核ゲノムへ水平伝播した遺伝子が見つからないことから、ヌクレオモルフゲノムの縮退進化はこれ以上進まない状態にある可能性がある。一方でゲノムサイズは373 kbp ~ 612 kbpの違いがあり、その要因として遺伝子重複によってゲノムサイズが縮小ではなく増加した可能性がある。色素体ゲノムとは異なり、ヌクレオモルフゲノムでは現在でも遺伝子重複やゲノム再編成による遺伝子コード順の変化などの構造変化が進行していることが示唆された。

また、ヌクレオモルフゲノムの遺伝子は、核ゲノムの相同遺伝子に対して配列の進化速度（非同義置換率）が約3倍速いことも示唆された。大腸菌において、分子シャペロンの過剰発現がタンパク質配列の変異蓄積を許容することが示されている。クロララクニオン藻におけるヌクレオモルフ遺伝子の進化速度上昇の原因のヒントを得るために、*A. amoebiformis*と*B. natans*のヌクレオモルフゲノムについて、RNA-seqに基づく発現量解析を行った。その結果、分子シャペロン遺伝子である*hsp70*と*hsp90*の転写量が著しく高く、全発現量の約11%を占めていた。分子シャペロンの高発現とヌクレオモルフ遺伝子の高い進化速度との間の関係を示唆する結果といえる。

さらに、ヌクレオモルフ遺伝子の発現制御機構を明らかにするため、明暗周期により同調培養したクロララクニオン藻*B. natans*を用いて、細胞周期全体を通じた全核遺伝子と全ヌクレオモルフ遺伝子の発現プロファイル解析を行った。その結果、全核遺伝子の35.7%に当たる7,751遺伝子が細胞周期のいずれかの段階で有意に発現変動していたのに対して、ヌクレオモルフ遺伝子はその99.5%に発現変動が見られなかった。これは、ヌクレオモルフゲノムの縮退進化の過程で、ほとんどの遺伝子が細胞周期に伴う発現制御を担う調節領域を失ったためであると考えられる。一方、本研究によって予測された、二次共生の過程で宿主核へ水平伝播した遺伝子である、核コード色素体タンパク質遺伝子や核コードヌクレオモルフタンパク質遺伝子を見てみると、それぞれ74.4%、35.4%の遺伝子の発現が有意に変動していた。このことから、細胞周期を通じたヌクレオモルフや色素体の機能の制御の大部分は、核コード遺伝子の転写制御によって行われていると考えられた。これは、転写調節によるオルガネラの機能制御の大部分が共生者によるものから宿主によるものへと変化していることを示唆する。

本研究により、クロララクニオン藻における二次共生の過程で、オルガネラの機能制御の主導権が共生者から宿主へと変化する過程の一端が明らかにされた。

## 審 査 の 要 旨

本論文は、クロララクニオン藻の色素体ゲノムとヌクレオモルフゲノムという2つの共生藻由来オルガネラゲノムについて、クロララクニオン藻の多様性をカバーする代表数種（色素体ゲノム3種、ヌクレオモルフゲノム2種）の全配列解読を行ない、比較ゲノム解析により共生者由来オルガネラゲノムの進化を解析した、独創性の高い研究である。特に、本研究の比較ゲノム解析により、クロララクニオン藻における色素体ゲノム構造の著しく高い保存性が明らかになったこと、ヌクレオモルフゲノムがこれ以上縮小しない可能性が示唆されたことは、大きな成果である。また、単なる比較ゲノム解析にとどまらず、ヌクレオモルフゲノム全遺伝子のRNA-seqに基づく発現量解析、及び細胞周期に伴う遺伝子発現プロファイル変動の解析を行ない、ヌクレオモルフの機能発現制御のほとんどが核ゲノムによってなされていることを初めて示した。これは二次共生による色素体獲得に伴う細胞進化の研究に新しい展開をもたらす画期的な研究成果であり、高く評価できる。

平成28年1月28日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。