

|         |                                                                                                                                    |          |        |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|--------|
| 氏名      | 松尾 恵梨子                                                                                                                             |          |        |
| 学位の種類   | 博士( 理学 )                                                                                                                           |          |        |
| 学位記番号   | 博甲 第 8855 号                                                                                                                        |          |        |
| 学位授与年月日 | 平成 30年 10月 31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 Nuclear and Plastid Genomes in Dinoflagellates Experiencing Plastid Replacements (葉緑体を置換した渦鞭毛藻における宿主核ゲノムおよび葉緑体ゲノムの進化) |          |        |
| 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( 農学 ) | 三浦 謙治  |
| 副査      | 筑波大学准教授<br>(連携大学院)                                                                                                                 | 博士( 医学 ) | 永宗 喜三郎 |
| 副査      | 筑波大学教授                                                                                                                             | 博士( 理学 ) | 稲垣 祐司  |

## 論 文 の 要 旨

葉緑体の起源は真核細胞内に共生した単一のシアノバクテリアにまで遡ることができる。この共生（一次共生）により葉緑体を保持するに至った祖先光合成生物から緑藻、紅藻、灰色藻として知られる系統が生じた。その後、緑藻もしくは紅藻を細胞内共生させて葉緑体化する二次共生が真核生物の系統内で複数回起こることにより、多様な光合成生物の系統が生じた。本論文において著者が注目した渦鞭毛藻は、その共通祖先において紅藻の二次共生によりペリディニン葉緑体とよばれる葉緑体を獲得した系統群である。その後渦鞭毛藻の一部の系統において、紅藻とは異なる真核単細胞藻類を共生させて葉緑体化し、もともと保持していたペリディニン葉緑体を置換するという進化的イベントが起こった。例えば、ハプト藻を共生させてペリディニン葉緑体を置換した渦鞭毛藻として、*Karenia brevis*、*Karlodinium veneficum* が、緑藻を共生させて置換した緑色渦鞭毛藻として *Lepidodinium chlorophorum* が知られている。葉緑体を置換した渦鞭毛藻は、複雑なゲノム情報をもつ真核細胞同士の細胞内共生を理解する上で重要な研究対象であると考えられるが、そのゲノム進化史については未解明な点が多い。そこで本論文の著者は、葉緑体置換を起こした渦鞭毛藻の系統において、共生藻ゲノムの縮退や宿主による共生藻ゲノムの獲得に焦点を当て、葉緑体ゲノム進化と宿主核ゲノム進化の双方の観点から葉緑体進化史を解明することを目指して研究を行い、一連の成果を本論文としてまとめた。

本論文の著者は、まず、ペディノ藻（緑藻）を共生させてペリディニン葉緑体を置換した系統である *L. chlorophorum*、およびそれとは独立なペディノ藻の共生に由来する葉緑体を保持する未記載緑色渦鞭毛藻種（TRD-132株およびMRD-151株）を対象に、それらの葉緑体ゲノム配列を比較することにより、渦鞭毛藻細胞内の環境が共生ペディノ藻の葉緑体ゲノムにもたらした影響について検討した。著者は、TRD-132株のゲノムDNAを対象に、次世代シーケンサーによって約2億リード分のデータを獲得しゲノムDNAの塩基配列を決定した。そのデータに対する相同性検索を行うとともに、PCRとサンガーシーケンシングにより未接続部分の配列を決定し、71,325bpからなる葉緑体ゲノム配列を復元した。それを *L. chlorophorum* および MRD-151株の既知の葉緑体ゲノム配列および自由生活性ペディノ藻の葉緑体ゲノ

ム配列と比較解析した。その結果、1)渦鞭毛藻3種の葉緑体はゲノムサイズ、遺伝子数ともにペディノ藻葉緑体よりも縮退していること、2)機能既知遺伝子数が3種でほぼ同数であること、3)機能既知遺伝子レパートリーは3種のいずれにおいてもペディノ藻葉緑体ゲノムのレパートリーの部分集合となっていること、4)ペディノ藻葉緑体ゲノムに存在する Inverted Repeats が3種いずれの葉緑体ゲノムにも存在しないこと、などを明らかにした。これらを踏まえて著者は、異なる渦鞭毛藻の系統に独立に共生したペディノ藻の葉緑体ゲノムが並行的に縮退進化を遂げた、との結論に至った。

次に著者は、核にコードされ葉緑体の代謝を司るタンパク質が葉緑体の置換に伴いどのように再編されたのかを明らかにするために、*Ke. brevis*、*Kl. veneficum*、および *L. chlorophorum* の3生物種を対象に、3つの代謝経路、クロロフィル $a$  合成系、イソプレレン合成系、およびヘム合成系に関して、それぞれの経路を構成する各タンパク質の進化的起源を分子系統解析に基づいて詳細に検討した。著者は、系統樹に基づき3生物種の各タンパク質を、共生藻からの Endosymbiotic Gene Transfer (EGT) により獲得された endosymbiotically acquired (EA) タイプ、葉緑体を置換する前の祖先渦鞭毛藻のペリディニン葉緑体で機能しており垂直的に受け継がれた vertically inherited (VI) タイプ、および共生藻とも祖先渦鞭毛藻とも関係のない系統の生物から水平的に獲得された laterally-acquired (LA) タイプに分類した。その結果、1) *Ke. brevis* および *Kl. veneficum* のクロロフィル $a$  合成系ではEAタイプが大部分を占め、*L. chlorophorum* のクロロフィル $a$  合成系ではLAタイプが優占しており、いずれにおいてもVIタイプが検出されないこと、2)イソプレレン合成系およびヘム合成系では、3種ともにVIタイプが数多く見出されること、などの点が明らかとなった。これらの結果に基づき著者は、それぞれの祖先種が葉緑体を置換した時点のペリディニン葉緑体がクロロフィル $a$  合成系を失った非光合成葉緑体であった可能性、光合成を失った段階でも葉緑体でイソプレレンおよびヘム合成系が機能していた可能性について議論した。

## 審 査 の 要 旨

本論文の著者は、自らが配列決定したものを含む緑色渦鞭毛藻の葉緑体ゲノムの比較解析、渦鞭毛藻の葉緑体で機能する 3 つの代謝経路に關与する全ての核コード葉緑体タンパク質の比較解析を通して、葉緑体ゲノム進化と宿主核ゲノム進化の双方の観点から、葉緑体を置換した渦鞭毛藻の系統における複雑な葉緑体進化史の一端を明らかにした。入念で洗練されたデータ解析に基づいて得られた多くの新知見は、未解明な部分の多い渦鞭毛藻の細胞進化学の分野の進展を支える基盤となりうるものであり、高く評価できる。とくに、クロロフィル  $a$  代謝系再編の全貌を明らかにし、祖先種における非光合成葉緑体の存在を示唆した点は非常に興味深く、今後の展開が大いに期待される。また、本論文の成果は、渦鞭毛藻のみならずさまざまな真核細胞同士の細胞内共生に伴うゲノム再編・細胞機能改変の進化史とそのメカニズムの解明を目指す研究の端緒を開いたものであり、基礎生物学的に重要な成果であると考えられる。

平成 30 年 9 月 13 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。