

氏名	久米 慶太郎		
学位の種類	博 士 (理学)		
学位記番号	博 甲 第 9044 号		
学位授与年月日	平成 31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 Mitochondrion-related Organelles in Metamonada (メタモナス生物群におけるミトコンドリア関連オルガネラの進化)		
主査	筑波大学教授	博士 (理学)	稲垣 祐司
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	石田健一郎
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授 (連携大学院)	博士 (医学)	永宗喜三郎

## 論 文 の 要 旨

メタモナス生物群は真核生物の主要系統群の1つであるエクスカバータに属する生物群である。この生物群に属するこれまで観察されたもののほとんどすべての種は、典型的なミトコンドリア (Mt) ではなく、Mt関連オルガネラ (Mitochondrion-related organelles; MROs) と呼ばれるオルガネラ (縮退型のMt) を保持している。メタモナス生物群はMt/MROの進化過程については、先行研究において主としてオルガネラ膜タンパク質とエネルギー代謝系に関するタンパク質の研究が進められてきたが、これらはMt/MROが担う機能の一部に過ぎず、Mt/MRO進化過程を議論するうえでは不十分である。加えて、先行研究で用いられた従属栄養性メタモナス生物のトランスクリプトームデータには、培地中の餌バクテリアに由来すると考えられるデータが多量に混在しており、品質にも問題がある。一方、先行研究では転写物の塩基配列情報をもとにMt/MROタンパク質の推定を行ってきたが、MROがMtを起源にもつことからMtタンパク質予測ソフトウェアを用いることでバイオインフォマティクスのMROタンパク質を予測している。しかし、そのような予測ソフトウェアはモデル生物のデータを基に作製されているため、メタモナス生物群がもつMROタンパク質を対象として予測を行う場合はその予測精度に問題がある。

まず著者は、本論文の第1章でメタモナス生物群の一員である*Dysnectes brevis*のDNA及びRNAについて、Illumina NextSeqを用いた次世代シーケンシングを行った。この際、著者は*D. brevis*培養液を密度勾配遠心に供し、餌バクテリアをできる限り排除した*D. brevis*細胞からDNA抽出及びRNA抽出を行うことにより、バクテリア配列の混入の少ない高品質のゲノムデータとトランスクリプトームデータを取得することに成功したことを報告した。

続いて著者は、第2章において非モデル生物のMt/MROタンパク質を高精度に予測する新たなソフトウェアを開発し、その性能を評価した。まずGenBankデータベース等よりMt/MROに局在することが実験的に検証されたタンパク質配列392配列と、非Mt/MROタンパク質配列3,739配列を取得した。これをデータセットとして機械学習を行うことにより、非モデル生物がもつMtおよびMROタンパク質予測ソフトウェアNomPred (non-model organismal mitochondrial/MRO protein predictor) を開発した。現在実際の解析に用いられているMt局在タンパク質予測ソフトウェアのうち、最も高精度の予測を行うと考えられるプログラムはMitofatesである。著者はMitofatesとNomPredのパフォーマンスを比較したところ、NomPredは非モデル生物が保持するMtタンパク質及びMROタンパク質の細胞内局在予測について、Mitofatesよりも高精度な予測を行うことが可能であることを示した。

第3章において著者は、新たに取得した高品質な*D. brevis*ゲノムおよびトランスクリプトームデータをもとにMRO機能の再検討を行った。本研究以前では、*D. brevis*のMROには、トリコモナス原虫*Trichomonas vaginalis*のMROに存在する基質レベルのリン酸化の経路が存在せず、関連する遺伝子の大部分がゲノムから失われていることが示されていた。それに加え、著者の解析により*D. brevis*において抗酸化系に関するタンパク質も大部分がMROから失われていることが示された。一方、鉄-硫黄クラスター生合成系およびアミノ酸代謝系に関するタンパク質は一部失われているものの、多くのタンパク質はMROに維持されていることがわかった。

## 審 査 の 要 旨

真核生物が多様化した過程で、MtおよびMROがどのように進化してきたかを解明するには、各生物種がもつMt/MROの機能を高精度で推測する必要がある。そのためには、①高品質の配列データの取得と②配列データをもとにした細胞内局在の高精度の予測が極めて重要である。本論文の著者は、Mt/MROの機能と進化を解明する上で重要なカギを握るメタモナス生物群に着目し研究を進めた。著者が本論文で報告した*D. brevis*の高品質ゲノム・トランスクリプトームデータの再取得とそれに基づくMRO機能の推測は、*D. brevis*をふくむメタモナス生物群のMRO進化を考察する上で価値が高い成果といえる。それに加え、タンパク質がMt/MROに局在するか否かを配列データに基づき高精度に予測する新たなソフトウェアを開発したことは、当該研究分野への重要な貢献として高く評価できる。

平成31年1月29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。