

論文内容要旨 (和文)

平成 15 年度入学 大学院博士後期課程 地球共生圏科学専攻 環境保全科学 講座

氏 名 谷藤 吾朗



Symbiotic gene re-organization of cryptomonads

論文題目 (クリプト藻類の細胞内共生における遺伝子構成)

細胞内共生を介したオルガネラの獲得は真核生物の多様化、進化の根幹となる出来事である。細胞内共生が成立する課程で宿主と共生体の間で起こった様々な遺伝的再編をsymbiotic gene re-organizationと捉えられる。Symbiotic gene re-organizationは細胞内共生に際し行なわれた1) 共生体ゲノムの減少、2) 共生体遺伝子の宿主核への移動、3) シグナルペプチド獲得などの発現するために必要な調整、の3つの出来事で認識される。Symbiotic gene re-organizationは進化上重要な出来事であり、また遺伝子の移動は過去にだけ起きたことではなく今まさに起こっていることであり、非常に重要な問題である。この課題を研究するに当たり、本研究では二次共生生物クリプト藻類を材料とした。本藻の注目すべき特徴として共生体、すなわち紅藻の核をヌクレオモルフとして痕跡的に残していることが挙げられる。他の二次共生生物のほとんどは共生体核を消失しており、本藻の前駆あるいは中間生物としての特徴から本課題を研究する上で格好のモデル生物である。

本研究ではsymbiotic gene re-organizationの解明を目指し、真核生物における遺伝子の移動を調査するため「クリプト藻類における宿主、共生体由来アクチン遺伝子の多様性と進化的意義に関する研究」、さらに共生体ゲノムの減少がクリプト藻類ではどのように行なわれたのか調べるため、「ヌクレオモルフゲノムサイズの多様性と系統関係」を行なった。

2001年にクリプト藻類の1種から共生体由来アクチン遺伝子が発見されたことに端緒を見出し、アクチン遺伝子は真核生物だけが持つ分子であることから、本課題を研究する上でのマーカー遺伝子として設定した。予備的実験として共生体由来アクチン遺伝子を全てのクリプト藻類が持つのかどうか、さらに存在するならば宿主核とヌクレオモルフのどちらにコードされているのかを分子遺伝学的手法により解析した。その結果、共生体由来アクチン遺伝子が存在する種と存在しない種があること、さらにはこれまで報告のない共生体由来アクチン遺伝子を持つ種などが見つかリアクチン遺伝子の存在様式は3つのタイプがあることを明らかにした。また、共生体由来アクチン遺伝子は宿主型よりも進化速度が速いこと、宿主型はもちろん共生体由来アクチン遺伝子も全て宿主核にコードされていることを明らかにし、この一連の研究により、この共生体由来アクチン遺伝子は共生体核から宿主核に移動し、その後偽遺伝子化、宿主のゲノムからも消失したのではないかと推察を得るにいたった。

次に、ヌクレオモルフゲノムサイズを広い範囲にわたって調査し、また、核SSUrDNA配列に基づく系統樹と比較し、ヌクレオモルフゲノムの減少がクリプト藻類においてどのように行なわれたのか調査した。その結果、ヌクレオモルフゲノムサイズが系統とは関係なく多様であること、遺伝的に近縁な種同士でもヌクレオモルフゲノムサイズに違いがあることから、共生体核のゲノムサイズの縮小は極めて高頻度で起こったことが示唆された。また、光合成機能を失っている種である

*Cryptomonas paramecium*において、ヌクレオモルフゲノムが他の種と遜色ないほど維持されており、一方で葉緑体ゲノムの著しい減少が起こっていることを観察し、このことからヌクレオモルフは光合成機能寄与がそれほど大きくないこと推測された。

これらの研究成果から、細胞内共生における共生体遺伝子の挙動、特に宿主核への移動と欠失についての新たな知見を得ることが出来た。過去の研究でも細胞内共生によってどのような機能を獲得したのか、獲得した機能を調整するための変化などが行なわれてきた。しかしながら、本研究では新機能が獲得、固定されるまでに起こった遺伝子の移動、また、必要でなくなった遺伝子が消失していく過程、さらに共生体ゲノムの減少など、いわば「消えゆく共生体遺伝子群」に注目し、特に共生体核と宿主核の間で起こったイベントはこのクリプト藻類とクロララクニオン藻類以外では全く見られず、本生物の特殊性を生かした研究が展開できた。

(10pt 2,000字程度 2頁以内)

論文内容要旨 (英文)

平成 15 年度入学 大学院博士後期課程 地球共生圏科学専攻 環境保全科学 講座

氏 名 谷藤 吾朗



論文題目 Symbiotic gene re-organization of cryptomonads

The studies on symbiotic gene re-organization were carried out using secondary symbiotic cryptomonads. In order to provide the better understanding for eukaryotic-eukaryotic gene transfer, 1)diversity of actin-coding genes in cryptomonads were examined. And to know the "how did the symbiont genome reductions occurred in cryptomonads", 2)the nucleomorph and plastid genome sizes and the phylogenetic positions of each specie were examined.

In 2000, not only known cryptomonad actin genes but also red algal ones were found from *Pyrenomonas helgolandii* (Stibitz et al.2000). Since no actin gene was found in prokaryotes, the symbiont actin genes were recognized as a good marker for analyzing the gene transfer of the secondary endosymbiosis. The Southern hybridizations were performed to examined whether the symbiont actin genes were commonly conserved in cryptomonads. As a result, they were divided into three groups; 1) both host and symbiont actin gene signals were detected, 2) only the host actin gene signal was detected and 3) host and unknown actin signals were detected. The phylogenetic analysis indicated that the evolutionary rates of the symbiont actin genes were accelerated than those of the hosts. The unknown actin signals were recognized as the highly diverged symbiont actin genes. One of the diverged symbiont actin sequences from *Guillardia theta* is presumed to be as a pseudogene or to be its precursor. All actin genes were encoded by the host nuclei. These results suggests that the symbiont actin gene was transferred to the host nucleus, subsequently became a pseudogene and then finally disappeared from the host nucleus.

The size divergence of nucleomorph genomes among 19 species of cryptomonads and their phylogenetic positions were examined. All cryptomonads contained three nucleomorph chromosomes and their total genome sizes varied. Non-photosynthetic *Cryptomonas paramecium* maintained similar size to other photosynthetic species. The plastid genome size of *C. paramecium* was approximately 70kb, exceptionally smaller than those of other species. The phylogenetic analyses showed the reduction of nucleomorph genome occurred independently in each lineage.

(12pt シングルスペース 300語程度)

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

平成18年2月17日

理工学研究科長 殿

課程博士論文審査委員会

主 査 原 慶明
副 査 澤井 毅
副 査 玉手 英利
副 査 辻村 東國
副 査

学位論文の審査及び最終試験の結果を下記のとおり報告します。

記

1. 論文申請者

専攻名 地球共生圏科学専攻
氏 名 谷藤 吾朗

2. 論文題目 (英文の場合は, その和訳を併記すること。)

Symbiotic gene re-organization of cryptomonads
クリプト藻類の共生成立後における遺伝的再編

3. 学位論文公聴会

開催日 平成18年 2月17日
場 所 理学部2号館27番教室

4. 審査年月日

論文審査 平成18年 2月 3日 ~ 平成18年 2月17日
最終試験 平成18年 2月17日 ~ 平成 年 月 日

5. 学位論文の審査及び最終試験の結果 (「合格」・「不合格」で記入すること。)

(1) 学位論文審査 合格
(2) 最終試験 合格

6. 学位論文の審査結果の要旨 (1,200字程度)

別紙のとおり

7. 最終試験の結果の要旨

別紙のとおり

別紙

専攻名	地球共生圏科学専攻	氏名	谷藤 吾朗
学位論文の審査結果の要旨			
<p>生物進化はゲノム上に生じる自然突然変異の蓄積がその主要な原動力であることは広く理解されている。しかし古くは真核細胞が原核細胞を起源として成立したとする「共生説」に関与する細胞内共生（1次）とともに、最近では真核生物同士の間でも生じる2次的な細胞内共生がもう一つの進化の原動力になっていることが指摘されている。前者が漸進的な原動力であるのに対し、後者は系統の異なる生物のゲノムセットが統合するというdrasticな原動力として働くと考えられ、このような認識に基づいて真核生物の系統進化の研究が急速に進展している。細胞内共生は1次、2次のいずれの場合も宿主と共生体の間で、形態的、生理的、遺伝的な再編・統合が追従し、新たな系統の生物の誕生を誘導するが、申請者は特に2次細胞内共生における真核生物である宿主と共生体の核ゲノム間で起こる遺伝的再編(symbiotic gene re-organization)のメカニズムの解明に取り組んだ。研究対象としたクリプト藻類は2次共生生物で、多くは共生体由来の核が形態的に完全に消失しているのに対し、ヌクレオモルフという痕跡的な核を残すという特異な存在に着目し、この生物でしかできない、宿主と共生体核間の遺伝的再編について、アクチンをコードする遺伝子を用いて研究した。それはクリプト藻の1種が宿主と共生体由来の両アクチン遺伝子を宿主の核に同時に有するという論文情報を端緒としている。第1章は作業仮説として、1) この知見は全てのクリプト藻に通用するのか、2) 共生体由来のアクチンは発現しているのか、3) 発現しているとしたらどこなのか、を20種に及ぶ培養株を用い、独自に開発したprobeとパルスフィールド電気泳動法で、基盤情報を獲得、その成果に基づいて、クリプト藻類における遺伝的再編を遺伝子の消失、転移、修正という3カテゴリーに分けて考察した。この内容は日本植物学会の英文誌に投稿受理された。第2章は、その後非光合成種の培養株を得て、ヌクレオモルフゲノムの多様性と遺伝子の消失過程を分析し、このオルガネラの機能が従来言われていた光合成に関与するという定説を覆す有益な結果を得た。この2つの成果に基づく学位論文は合格と判定した。</p>			
最終試験の結果の要旨			
<p>論文審査結果と公聴会における学位論文の内容を要約した口頭発表を併せて最終試験とし、研究方法の妥当性、結果解析の正当性、考察の論理性、研究成果の重要・発展性に関して、発表および質疑応答を通して客観的に評価した。論文審査結果に関しては審査終了から公聴会までの期間に主査、副査の査読結果に基づいてreviseした論文原稿を公聴会時に回覧し、学位論文としてのまとまりと体裁が整備されたことを確認した。論文の内容を公聴会の発表で忠実に要約できたこと、及び論文には記載できない付加的な研究背景や今後の研究展開の説明は評価に値するという見解に達した。以上の論文審査と公聴会における発表と質疑応答の最終試験は博士の学位に相当すると判断でき、審査員全員で最終試験を合格と判定した。なお、成果論文公表に関しては投稿雑誌の編集長からの受理証明書面の提示で確認した。</p>			