

論文内容要旨 (和文)

氏名 横山 亜紀子 

論文題目 複数の分子マーカーと含有物質組成に基づくチノリモ目藻類の分類学的研究

チノリモ目藻類は Kylin (1937) が提唱した紅色植物門の分類体系に従えば、単細胞、パルメロイドあるいは偽糸状体の体制をとる藻群で、柔組織の多細胞体制をとる多くのいわゆる紅藻類とは明瞭に区別されている。以後の分類体系においては単細胞性紅藻のみをチノリモ目とする見解(Skuja 1939, Kylin 1956)もあるが、本研究において“チノリモ目藻類”とは Kylin (1937) の分類体系に基づく藻群を指す。本藻群はその体制の単純さ故に、光学顕微鏡レベルでは得られる分類形質に乏しく、属や種の原因記載が必ずしもそれぞれの十分な形質で定義されているとはいえず、そのため、研究者に解釈が異なり、分類が混乱した経緯がある。現在でも未記載種の発見があった場合、すぐには命名できないことが多い。また、この藻群では有性生殖過程が確認された例はなく、欠失している可能性も高い。加えてそれらの生育環境も多岐にわたっているので、十分な採集調査がなされてきたとは言い難く、分類・系統学的研究を進めるに当たって、種々の基盤情報が欠けているため、大変遅れていると指摘できる。

一方、1970年代から電子顕微鏡による藻類の細胞内構造に関する観察・解析が進み、この分類群においても多くの新知見が蓄積され、新たな分類形質導入の基盤が形成された。1980年代には分岐分類学的理論が完成し、系統進化の議論がより客観的にできるようになると、その理論背景をふまえ、藻類全般にゲノム情報に基づく系統樹構築法が導入された。従って、このような研究手法の発達により、遅れていたチノリモ目藻類の分類・系統研究の端緒に着くことができるようになった。そこで、本研究では、以前より進めていたチノリモ目藻類の分類研究に不可欠な培養株の確保をさらに強化し、環太平洋地域を中心に世界各地の海水、汽水、淡水域、マングローブ林内、温室、畑、湿原などの土壌(表面)域の土・砂・水のサンプルを採集し、予備培養の後、当該藻の分離・培養し、多くの培養株を確保した。その間、世界各所の藻類株保存施設・機関あるいは研究者個人の持つチノリモ目藻類の培養株を譲受し、コレクションを補強し、既知種および未記載種の株を可能な限り収集した。

この強固なチノリモ目藻類の培養株コレクションの利点を最大限に生かして、本論文の研究を以下のように展開した。まず、第1章では、これまでの研究の歴史的背景を整理することを主眼に置き、「チノリモ目藻類の培養と形態学的特徴」に纏めた。ここでは培養株確立の基本操作と採集地(生育分布)を明らかにし、光学顕微鏡レベルの形態的特徴と、電子顕微鏡レベルの細胞内微細構造の特徴を総括的に把握した。その付加的情報として、光合成補助色素であるフィコピリン色素タンパクの組成解析と生育環境を特徴づける、塩分濃度に対する増殖特性の解析を行った。この章ではチノリモ目藻類は葉緑体、ピレノイド、核、ゴルジ体などのオルガネラの基本構造とそれらの細胞内における配置で、属や種に関する phenetic な類縁関係が認識でき、フィコピリン色素タンパク組成や塩分濃度増殖特性の結果がそれを概ね支持する結果を得た。この研究により、属レベルまでの形態形質の理解ができるようになり、これまで未記載種であった株のほとんどにおいても、帰属すべき属、あるいは近縁する属の見通しを立てることが可能になった。

第2章では、分子系統学的解析を中心にした研究を展開し、「18SrDNA と *psbA* 遺伝子の塩基配列に基づくチノリモ目藻類の系統解析」を実施した。その結果、チノリモ目という高次分類群そのものが単系統ではなく、それぞれ出現時期の異なる多系統群であることが判明した。この多系統群は4つの系統群から成り立ち、系統群の1つでは単細胞性種と偽糸状体体制種が混在することも明らかとなった。さらに、チノリモ目以外の分類群との類縁関係を考慮すると、これらの4系統群は少なくとも目以上の分類階級に相当すると結論でき、紅色植物門全体の分類体系の大幅な再編の必要性が示唆された。

前章で述べたようにチノリモ目に所属していた分類群に対して、新しい分類体系を構築してい

くにあたり、形態的特徴による新たな共有派生形質の探索だけでなく、形質を広く検討することとした。そこで、単細胞紅藻類を有効活用するとの視点から、企業との共同研究で紫外線吸収物質であるマイコスポリン様アミノ酸群 (MAAs) の組成調査を実施した。以前から大型海藻の紅藻類には多様な MAAs が分布していることが報告されており、分類群の認識を補助する生理活性物質として注目していた。第3章ではその共同研究で得た産業的な成果については割愛し、基礎生物学的な成果についてのみ「チノリモ目藻類における紫外線吸収物質 MAAs の分布と組成」に纏め、MAAs の組成が各分類群の共有派生形質になりうるか、検討した。その結果、チノリモ目藻類においては、分子系統学的にまとめられた1系統群にのみ MAAs が存在することが明らかとなった。分類群内での MAAs 組成比については、属ごとにある特定の組成をとることもわかった。したがって、MAAs の有無、あるいはその組成が、分類群を特徴づける上での共有派生形質となりうる可能性が示唆された。

第4章では *Rhodella* 属藻類の分類学的研究について言及した。*Rhodella* 属は、定義すべき属の特徴が明白であったにも関わらず、原記載において属と種の定義が混在していたため、後続研究者の解釈の違いで、本来この属に含めるべきではない藻群まで移籍してきたなど、分類学的な混乱を引き起こした。しかし、第1章で指摘したように、この属に当てはめるべき未記載種の存在も多く確認できているため、早急に属の再定義と、分類体系の再編を行う必要があった。そこで第2章の研究で用いた 18SrDNA に加え、それらより進化速度の速い ITS 領域の塩基配列を分子マーカーとして導入し、系統解析を行った。その結果、未記載種の系統的位置やグルーピング、それらの類縁関係が明らかとなり、属の定義や種の記載に用いるべき、微細構造学的特徴や生理学的形質も明確になってきた。この章ではそれらの命名規約上の措置については提案するにとどめ、正式記載は後日改めて行うこととした。内容としては、*R. cyanea* には新たな属を準備して、属の組み換えを行うこと、本属の定義に当てはまる未記載種は少なくとも4新種が存在すること、さらに既知の *R. maculata* と *R. vioracea* は系統的には同種とみなされるため、両種を識別する形質とされていた、核とピレノイドの間にみられる形態変異は、あくまでも種内変異に含まれると解釈し、同一種とすべきであるとの見解を示した。

第5章では第4章の研究を進めている過程で発見した、*Rhodella* 属藻類の SSrRNA に存在するグループ I イントロンの局在に言及した。これまで紅色植物においてグループ I イントロンが確認された種類はいずれも多細胞体制の藻で、ウシケノリ目の *Bangia* 属と *Porphyra* 属、そして真正紅藻亜綱・ベニマダラ目の *Hildenbrandia* 属に所属し、単細胞性紅藻での発見は本研究が初めてである。そこで、このイントロンはチノリモ目内にどのように分布しているかを調査し、「*Rhodella* 属藻類の SSUrRNA に局在するグループ I イントロンの構造とその特徴」に纏めた。これまでに報告されているこのイントロンに関する知見を考慮して、この調査で得た結果から、紅色植物に分布するグループ I イントロンは菌類から水平伝播した可能性とその伝播が多細胞体制を獲得する以前に挿入された可能性が想定された。その後、このイントロンが継代的に垂直伝播されていく過程で、徐々に欠失が進み、現在のような分布に至ったと考えるのが妥当と結論した。また逆にこのことが、第2章で紹介したように *Rhodella* 属の含まれる系統群が他のチノリモ目の系統群に比べ、ウシケノリ目や真正紅藻類に近縁であるとの推測を支持する証左ともなった。

本論文は紅色植物の1群でチノリモ目という比較的なじみの薄い藻類を取り上げた系統・分類に関する研究を、おおよそ研究の進行順序に従い *Rhodella* 属の含まれる系統群を軸として5つの内容に分けて纏めてものである。本来分類学的な見地からはいわゆるチノリモ目藻類のモノグラフとして位置づけるつもりで着手した研究である。そのスタンスは崩さず、広く研究対象生物を収集し、それらの形態、微細構造、生育分布、それを反映する塩分濃度に対する増殖特性、光合成色素や MAAs などの生理関連物質の組成比較、ゲノム情報に基づく系統解析など多面的な実験結果を得た上で、総合的に考察した。現在の国際植物命名規約には、生物の命名に関する内容が含まれている論文は審査のある、一般に公開されている雑誌等に公表すべきであるという勧告がしかれている。したがって、本論文に含まれてしかるべき、種・属の命名規約に関する内容はすべて割愛し、勧告に従い後日しかるべき雑誌に投稿する予定である。

論文題目 Taxonomic studies of Porphyridiales (Rhodophyta), based on multiple molecular markers and composition of some metabolite.

The Porphyridiales established by Kylin(1937) included all species of unicellular, pseudofilamentous and palmeroidal red algae. After Kylin, some other taxonomic systems were proposed, however, the Porphyridiales Kylin(1937) was cited in this thesis. Although genera and species in this order were defined by their simple thallus organization, less taxonomic confusions occurred since Kylin's system has been accepted worldwide. The ultrastructural features and molecular phylogenetic information are available for the classification of this taxa. Therefore, it is necessary to establish their culture strains for their examinations. At first, the culture collection of porphyridialean algal strains was constructed, based on the samples mainly collected from Japan and its adjacent regions. Using these strains before identification, their morphological and cytological features were investigated by OM and TEM. In addition, physiological properties, such as growth potential under environmental conditions and composition of phycobiliproteins were examined. Through these studies, many undescribed strains of *Rhodella* could be disclosed.

To clarify the taxonomic relationship of porphyridialean algae, molecular phylogenetic analysis were carried out based on the sequences of SSUrRNA (18SrDNA) and *psbA* genes. From the results, the Porphyridiales was recognized to be constructed by four lineages, and taxonomic positions of both undescribed species and problematic species were confirmed. In a certain lineage, pseudofilamentous algae were monophyletic with some unicellular ones. This result was supported by a chemotaxonomic study, using the compositions of MAAs (Mycosporine-like Amino Acids). A kind of MAAs was specifically detected in this lineage.

Subsequently, the definition of *Rhodella* was performed by re-evaluating the ultrastructural features and introducing the phylogenetic information. Following my new generic definition, intraspecific relationship and specific delimitation of *Rhodella* including undescribed species were clarified. In order to verify them phylogenetically, sequences of ITS (inter transcribe spacer) regions were analyzed. As a result, it was clear that undescribed species assumed to be assigned to *Rhodella* were certainly recognized as new species of *Rhodella*. On the other hands, it was also recognized that *Rhodella maculata* and *R. violacea* are conspecific.

Finally, group I introns discovered from two species of *Rhodella* were examined. Group I intron have been found from *Porphyra*, *Bangia* and *Hildenbrandia* in the Rhodophyta and other algal groups. However, this was the first report to be detected from unicellular reds. Group I intron from *Rhodella* was classified as ICI and no ORF in their structures. Therefore, it could not walk around in the genome. Moreover, sequential similarity of these introns indicated that they were vertically inherited in the Rhodophyta. Discovery of the group I intron from *Rhodella* might be demonstrated that the lineage which including *Rhodella* and its related genera are more closely related to the Bangiales or the Florideophyceae than the other porphyridialean algae.

学位論文の審査及び学力確認の結果の要旨

平成18年2月17日

理工学研究科長 殿

論文博士論文審査委員会

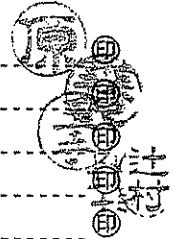
主査 原 慶明

副査 森沢 正昭

副査 玉手 英利

副査 辻村 東國

副査



学位論文審査及び学力確認の結果を下記のとおり報告します。

記

1. 論文申請者

氏 名 横山 亜紀子

2. 論文題目 (英文の場合は、その和訳を併記すること。)

..... 複数の分子マーカーと含有物質組成に基づくチノリモ目藻類の
..... 分類学的研究

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 1日 ~ 平成18年 2月17日

学力確認 平成18年 2月17日 ~ 平成 年 月 日

5. 学位論文の審査及び学力確認の結果 (「合格」「不合格」で記入すること。)

(1) 学位論文審査 合格

(2) 学 力 確 認 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. 学力確認の結果の要旨

別紙のとおり

氏名	横山 亜紀子
学位論文の審査結果の要旨	
<p>学位論文の主旨は紅色植物門原始紅藻亜綱チノリモ目藻類の系統解析とその結果に基づく同目藻類の分類体系再編についてであり、これまでの分類体系ではそれら藻類の形態や微細構造の特徴に依拠した分類形質により構築されてきたが、その情報だけでは系統を反映した分類はできず、新たに認識できた系統群ごとの共有派生形質を探索し、生体含有成分に有効な形質のあることを発見し、目レベルから種レベルに至る分類の再編を行った。論文の構成は、5章より成り、通章緒言で学位論文の内容に関する研究の歴史的背景の紹介を中心に5章を通した研究の目的と意義を纏めている。1章は研究対象としたチノリモ目藻類の培養と形態的特徴を総説している。2章ではチノリモ目藻類の系統解析を分子マーカーとして核コードの18SrDNAと葉緑体ゲノムにコードされた<i>psbA</i>の遺伝子配列を選択し、実施した結果、4系統群に認識できることを明らかにした。3章では紫外線に対して生体防御に機能するマイコスポリンアミノ酸類(MAAs)の成分分析とその結果に基づくいわゆる化学分類学的考察により、チノリモ目藻類内の1系統群の共有派生形質としてMAAsの分布様式が採用できることを纏めている。同時に低分子糖アルコール、および細胞外被多糖の構成担当の種類が分子系統解析で確認した系統群を特定できる成分が共有派生形質になりうることを発見した内容を記述している。4章ではチノリモ目藻類の分類の属及び種のレベルで最も混乱している<i>Rhodella</i>属とそれに関連した藻類の分類学的(命名規約上)措置について、細部に渡り検討した結果を紹介している。5章は分子系統解析の過程で申請者が発見したりボソーム小サブユニットに極在するグループ1-イントロンの同目藻類での分布から新たに見えてくるより高次の分類群間での系統関係を紹介している。これら5章の結論と今後の本研究の見直しを通章考察で纏めている。長年に渡る辛抱強い調査研究に裏付けられた労作の論文であること、特に世界中から収集したチノリモ目藻類の培養株のコレクションは論文の内容以上に今後多方面に有効活用するべきであるとの要望を付し、合格と判定した。</p>	
学力確認の結果の要旨	
<p>公聴会における発表・質疑応答と論文審査後の論文訂正後の評価を学力確認とした。公聴会の発表は学位論文の骨子のうち、1, 2, 3および4章の内容を1)チノリモ目藻類の分類と形態に関する研究内容とその歴史的背景をイントロとして纏め、2)同目藻類の系統解析とその結果認識できた系統群にもとづき、属以上の高次分類群の分類体系を紹介し、3)本研究の内容と基本的な考え方が表現できる<i>Rhodella</i>属藻類の属以下の分類に分けて発表した。学位論文には長大なデータに基づく分類学的な考察が記述されており、その読解は専門家でも容易でないことを前提に、かなりかみ砕いて発表した。これは審査関係者だけでなく公聴してくれた学生、院生、教員からも良く理解できたとして好評を得た。公表論文と業績目録を回覧し、論文博士としての条件を満たしていることを確認したのち、論文、発表とも博士の学位に相当すると判断し、審査員全員一致で合格の合意に達した。</p>	