

論文内容要旨 (和文)

平成 20年度入学 大学院博士後期課程

地球共生圏科学専攻 生物学分野

氏名 櫛引 明日香

印

論文題目 単細胞性紅藻ディクソニエラ目藻類 (紅色植物門) の分類学的研究

紅藻類は単細胞性種から多細胞性種まで存在することから形態的にも、淡水、海水、温泉から土壌まで分布することから生態的にも多様な藻群である。他の真核生物と全く異なる特徴として、鞭毛とこれに付随する鞭毛装置をもたず、3世代交代を行う生活環をもつ種も知られるなど、様々な固有派生形質が見られることから、紅藻類は真核生物の中でも特殊な進化を辿った生物群と認識されている。紅藻類の中で原始的と考えられている単細胞性紅藻は、光学顕微鏡下では球形の細胞に核・葉緑体・ピレノイドなどのみが観察される単純な外形から、紅色植物門内で1つの目(チノリモ目)に分類されてきた。しかし近年、ゴルジ体の配置など形態的、同化産物の違いなど生理的、さらに分子系統解析から遺伝的な多様性が明らかとなり、紅色植物門を7綱に分類する中で単細胞性紅藻を4綱に所属させる分類体系が提案されている。そこで本研究では、系統的多様性が明らかになりつつある単細胞性紅藻に着目し、細胞レベルでの形態的多様性の評価を目的として分類研究を行った。研究対象としたロデラ綱ディクソニエラ目はYokoyama et al. (2009)によって設立された。単細胞性種のみから構成され、近年でも新属が報告されるなど分類学的にも興味深い藻群である。

本研究は沖縄県八重山諸島の西表島後良川河口のマングローブ林の表面土壌より単離した単細胞性紅藻の未記載種(Iriomote株)とその近縁藻類計25株を用いて、これらの細胞の形態、微細構造および細胞分裂・核分裂の過程(Iriomote株を中心にして)を光学顕微鏡、間接蛍光抗体法を駆使した蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡、透過型電子顕微鏡により観察した。併せて、SSU rDNAおよびpsbA遺伝子配列に基づく分子系統解析を行い、本未記載種と近縁な単細胞性紅藻の形態的進化過程を評価した。

それらの結果に基づいて、紅色植物門の真核光合成生物における系統進化上の位置づけと同植物門内における系統関係および分類体系の検討、単細胞性紅藻類の多様性解析および未記載種(*Bulboplastis apyrenoidosa* gen. et sp. ined.)の記載登録(投稿中)、さらに*B. apyrenoidosa*が所属することが判明したディクソニエラ目(Dixoniales)について、同目構成種を加えた形態分類学的な検討を加え、その系統性を検証した。

*Bulboplastis apyrenoidosa*の細胞分裂過程を追求するための必要条件である同調培養系確立には成功しなかったが、植え継ぎと明暗周期の調節による培養環境の制御により得られた分裂期細胞の観察により、以下のことを確認した。1) 紅色植物の細胞分裂・核分裂様式は緑色植物で見られるような、細胞分裂4タイプ、核分裂3タイプが見られ、緑色植物の各系統群がそれらの組み合わせで特徴づけられるような多様性はなく、核分裂、細胞質分裂様式はそれぞれ1タイプずつしか確認できなかった。しかし、核分裂前中期と後期の極の、核膜、微小管、そして中心子をもたない紅色植物に独特のNAO (nucleus-associated organelle)の形態の違いから、紅色植物は7

つにタイプ分けできる。単細胞性紅藻には、少なくともこのうち3つのタイプが認識され、*B. apyrenoidosa*より確認された核分裂様式のいくつかのステージは、所属するディクソニエラ目より報告されているタイプと一致する。2) 核分裂期におけるNAOについて精査し、終期の細胞の娘核の極領域に電子密度の高い物質に囲まれて位置することを明らかにした。また、NAOは一对のリング状構造からなり、その直径がおよそ75 nmであることを明らかにした。3) 紅色植物において、初めて γ -チューブリンの存在を間接蛍光抗体法で明らかにした。このことは顕花植物同様、紅色植物も過去に鞭毛を有した時代があったことを裏付ける。4) *B. apyrenoidosa*の紡錘糸の挙動追求において分裂終期後（間期）にオルガネラ再配置にはたらく微小管の出現を発見した。

B. apyrenoidosa 9株および近縁16株 (*Dixoniella grisea* 10株, *Neorhodella cyanea* 6株) の形態・微細構造と分子系統解析によって得られた分類学的・系統学的知見は以下のとおりである。1) ディクソニエラ目には既知の*Dixoniella*属, *Glaucosphaera*属, *Neorhodella*属の藻類が所属し、*B. apyrenoidosa*とは細胞サイズ、一般的な細胞内構造とそれらの配置、葉緑体の諸形質が異なることから本藻を新属新種として記載した（投稿中論文に詳しい）。2) *B. apyrenoidosa*はディクソニエラ目内では*Neorhodella cyanea*に最も近縁であった。また、*B. apyrenoidosa*には細胞サイズが明らかに大きい1株が存在し、その株はSSU rDNA配列における分子系統解析によって遺伝的にも分化していることが明らかとなった。3) *Dixoniella grisea*は通常チラコイドが陥入するピレノイドを1つ細胞中央にもつが、ピレノイドを2個含む株や、チラコイドの陥入様式が異なる株が存在するなど形態的にも、SSU rDNAおよび*psbA*遺伝子配列の両分子種において他属に比べ属内の遺伝的距離が大きいなど遺伝的にも、同日内で最も多様であることが示された。4) 核の位置、葉緑体の形態と微細構造、ピレノイドの有無はディクソニエラ目のそれぞれの属を区別する形質として安定しており、属レベルで分類するための形態形質として有用であることが明らかとなった。

*B. apyrenoidosa*の形態的特徴と同種を加えた系統解析の結果から、ディクソニエラ目の新たな共有形質として、1) ゴルジ体は核膜に近接する、2) NAOは1対のpolar ring（直径70–80 nm）からなる、を追加した。

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

平成24年2月13日

理工学研究科長 殿

課程博士論文審査委員会

主査 岩 滝 光 儀 ①

副査 横 山 潤 ①

副査 丹 野 憲 昭 ①

副査 原 慶 明 ①

副査 ①

副査 ①

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 櫛引 明日香

2. 論文題目 (外国語の場合は、その和訳を併記する。)

..... 単細胞性紅藻ディクソニエラ目藻類 (紅色植物門) の分類学的研究
.....
.....

3. 審査年月日

論文審査 平成24年 1月25日 ~ 平成24年 2月10日
論文公聴会 平成24年 2月10日
場所 理学部1号館 1.4番教室
最終試験 平成24年 2月10日

4. 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。)

(1) 学位論文審査 合 格
(2) 最終試験 合 格

5. 学位論文の審査結果の要旨 (1,200字程度)

別紙のとおり

6. 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	櫛引 明日香
学位論文の審査結果の要旨			
<p>紅色植物は光合成生物の中でも最初に葉緑体を獲得した生物群の1つで、これに含まれる単細胞性紅藻は紅色植物の中でも形態的識別形質が少なく、系統的にも祖先群であることが知られている。本研究は、紅色植物門ロデラ綱ディクソニエラ目藻類について、細胞小器官の配置と細胞内微細構造を中心とした形態形質の状態を評価するとともに、SSU rDNA および <i>psbA</i> 遺伝子塩基配列に基づく分子系統解析を行い、形態的・系統的解析結果を比較することで同目の形態的進化過程と分類をまとめたものである。</p> <p>第一章では、単細胞性種を含む紅色植物の分類に関する歴史的経緯をまとめ、現在の分類学上の問題点を明らかにした上で、本研究の目的と意義が述べられている。</p> <p>第二章では、世界各地より採集したディクソニエラ目藻類の25培養株を用いて光学顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡、電子顕微鏡により形態形質を観察、比較している。西表島産の1未記載種については同目に所属させるべきであることを形態形質より示し、ディクソニエラ目の新属新種 <i>Bulboplastis apyrenoidosa</i> の設立を提案している。新属 <i>Bulboplastis</i> 属に加え、同目に所属する <i>Dixoniella</i> 属、<i>Glaucosphaera</i> 属、<i>Neorhodella</i> 属に共有の形態形質に基づいてディクソニエラ目の共有派生形質を示し、それぞれの属に特有の形態形質を識別することで属レベルの分類で扱うべき形質を整理した。</p> <p>第三章では、形態形質を明らかにしたディクソニエラ目藻類の培養株を用いて、SSU rDNA および <i>psbA</i> 遺伝子配列に基づく分子系統解析を行い、培養株間の系統関係を示した。新属設立を提案した <i>Bulboplastis</i> を含め、同目を構成する4属はロデラ綱内で単系統群を形成すること、そして <i>Bulboplastis</i> は <i>Neorhodella</i> に近縁であることが示されている。</p> <p>第四章では、構成種の形態形質を遺伝的形質に基づく系統関係と比較することで、ディクソニエラ目内における形態形質の進化過程について議論を展開している。ロデラ綱藻類は眼点様顆粒の集合体をもつこと、ディクソニエラ目藻類ではゴルジ体が核膜に近接し、NAO (nucleus-associated organelle) が直径70-80 μm からなる一対のリング状構造であること、そして同目に所属する属は核、葉緑体、ピレノイドの有無や位置関係より識別可能であることを示し、これらの形質は系統関係と一致するものであると論じている。</p> <p>本研究では、体制が単純でありながら多系統性が示されていた単細胞性紅藻において、共有派生形質が明確でなかった一群であるディクソニエラ目藻類に着目し、系統関係を反映する微細構造を包括的に探索し、整理した。研究成果の一部である新属新種の記載とディクソニエラ目内の系統関係に関する内容は、申請者を筆頭著者とする論文1編として英文誌への掲載が決定している。</p> <p>以上により、本論文の内容は博士学位論文に十分値する内容であると判断し、合格と判定した。</p>			
最終試験の結果の要旨			
<p>公聴会の際に、学位論文の内容について口頭での最終試験を実施した。最終試験では、研究対象とした紅色植物門ディクソニエラ目藻類の生物学的特性、分類学の問題点、形態・系統解析手法、そして分類学的結論に関する質問に的確に回答したことから、専門分野に関する十分な知識を持つことが認められた。したがって最終試験を合格と判定した。</p>			