

## 学位授与記録簿（博士）

バイオサイエンス研究科

氏名	嶺井 隆平
学位の種類	博士（バイオサイエンス）
授与年月日	2021年（令和3年）9月24日
学位授与の要件	本学学位規程第18条第1項該当者（学位規則第4条第1項）
学位論文の題名	細胞内共生における植物化現象初期でのゲノム構造変化の解明
審査委員 主査	白井 剛 教授
副査	齊藤 修 教授
副査	長谷川 慎 教授
副査	小倉 淳 教授

### 論文内容要旨

陸上植物のように、シアノバクテリアの細胞内共生により葉緑体を獲得（一次共生）した系統（Archaeplastida）以外に、様々な系統に葉緑体を有する真核生物が散在する。その中には生態的・経済的に重要な珪藻、コンブ・ワカメなどの褐藻、ユーグレナ藻などの藻類も含まれている。このような多様な藻類は、Archaeplastidaの緑藻・紅藻が、再び他の真核従属栄養生物に細胞内共生し葉緑体化（二次共生）する植物化現象が、進化の長い年月の中で何度も生じた事に起因する。植物化現象において、細胞内共生から葉緑体化に至るまでには、いくつかの段階を経ると考えられている。葉緑体化直前の植物化現象の後期では、共生藻の遺伝子の多くが宿主の核へと移動し、共生体の核が劇的に縮小する事がクリプト藻・クロララクニオン藻のゲノム・トランスクリプトームを用いた研究によって明らかにされている。しかしながら、植物化現象の初期においてゲノム、遺伝子レベルで何が起きているのかは明らかになっていない。そこで私は、植物化現象の初期とされるミドリゾウリムシ *Paramecium bursaria* に細胞内共生する緑藻 *Chlorella variabilis* のオミクス解析により植物化現象初期におけるゲノム構造の変化の解明に取り組んだ。

手法としては最初に、ショートリードとロングリードを用いた中型サイズ（～50Mbp）ゲノムのハイブリッドアセンブリパイプラインを構築し、共生藻は様々なゲノムサ

イズをもつので、さらに大きなゲノムアセンブリに応用可能であることを様々なゲノムサイズ(100 M ~ 2 Gbp)の生物 (コオロギなど) のゲノムアセンブリから検証した。次に、このパイプラインを用いて *C. variabilis* とクロレラ属の基準種で自由生活型の *C. vulgaris*、そして外群として *C. sorokiniana* のゲノム構築し、また *C. variabilis* の共生条件下と非共生条件下の RNA-seq を取得し、比較ゲノムおよびトランスクリプトーム解析をおこなった。その結果、共生によるゲノム縮小という仮説に反し、*C. variabilis* のゲノムが縮小しておらず逆に、Gene gain と Gene duplication により拡大している事が分かった。さらに、それらの増加した遺伝子で共生時に非共生時と比較して発現上昇した中には、細胞壁や宿主との物質のやり取りに関わる遺伝子が含まれており、これらが共生において重要であることが考えられる。また、共生時にクロロフィル合成、LHC ( Light Harvesting Complex )、炭素固定からマルトース合成までのパスウェイの発現上昇しており、*P. bursaria* への大量のマルトース供給機構であることが示唆された。

## 論文審査結果要旨

嶺井隆平氏は、シアノバクテリアの細胞内共生による植物化現象の初期ステージにおいて重要な役割を果たす遺伝子について、モデル共生系である宿主ミドリゾウリムシ *Paramecium bursaria* と共生藻/クロレラ *Chlorella variabilis* などのゲノム解析、および増殖期・定常期・単独培養時における RNA-seq を用いたトランスクリプトーム解析により研究を行なった。ゲノム解析ではショート・ロングリードを混合したハイブリッドアセンブリパイプラインを独自に構築した。ゲノム解析からは、*Chlorella variabilis* ゲノム縮小は認められないことが示された。またトランスクリプトーム解析を組み合わせることで、共生ステージ 3 で細胞壁合成、物質交換、クロロフィル合成、LHC、炭素固定・マルトース合成経路に関わる遺伝子の獲得と発現上昇が認められることを示した。この結果は、共生時における宿主と共生藻の相互作用のメカニズムの遺伝子レベルでの解明に寄与した。これらの結果は、嶺井隆平氏を筆頭著者として国際雑誌に論文発表された。一定の成果を挙げたことは評価でき、論文審査に合格と認められる。また、博士論文公開審査会のプレゼンテーションおよび質疑応答においても、合格と認められる。