

(続紙 1)

京都大学	博士 (人間・環境学)	氏名	加山 基
論文題目	光合成能の喪失に伴う葉緑体ゲノムの縮退と機能の喪失に関する新たな知見		
(論文内容の要旨)			
<p>陸上植物や藻類の葉緑体は、独自のゲノムをもつオルガネラであり、光合成反応だけでなく、光合成以外の多様な反応の場でもある。一部の陸上植物や藻類には、光合成能を喪失し従属栄養によって生育する生物に進化したもの（非光合成生物とよぶ）が知られている。非光合成生物は、多くの場合、光合成能を失った後も葉緑体および葉緑体ゲノムを保持している。しかし、非光合成生物の葉緑体には光合成電子伝達系が存在せず、葉緑体ゲノムは光合成反応に関する遺伝子を欠失している。その一方で、光合成以外の反応の場としての機能は維持されていることが知られている。非光合成生物の葉緑体ゲノム上にコードされている遺伝子、ならびに非光合成生物の葉緑体内で行われている反応を明らかにすることは、光合成能の喪失にともなう葉緑体ゲノムの縮退、さらにそれにともない本来もっていたはずの機能の変化、葉緑体ゲノムの縮退や消失の進化的制約などを考えるうえで非常に重要である。</p> <p>本論文では、非光合成生物の葉緑体ゲノム解析、トランスクリプトーム解析、および生理・生化学的実験から、葉緑体ゲノムの縮退状態ならびに葉緑体内で行われている反応を類推し、光合成能の喪失にともなう葉緑体ゲノムの縮退と機能の変化に関する新たな知見を提示している。</p> <p>第1章では、葉緑体における光合成反応とそれ以外の反応、光合成を行う真核生物の系統的多様性、非光合成生物の系統、光合成の喪失にともなう葉緑体ゲノム進化に関する現状認識を述べ、非光合成生物の葉緑体ゲノム進化研究における課題を指摘したうえで、本論文の目的を述べている。</p> <p>第2章では、非光合成生物<i>Pteridomonas danica</i> (オクロ植物門ディクチオカ藻綱) 2株の葉緑体ゲノムを解析した。その結果、<i>P. danica</i> YPF1301の葉緑体ゲノムが線状構造であるのに対して、<i>P. danica</i> NY0221では環状構造であることを明らかにした。そのうえで、いずれの株の葉緑体ゲノム上にもハウスキーピング遺伝子のみがコードされていたものの、その組成が両者で異なっていることを指摘した。これらのことから、同種内の生物でも葉緑体ゲノムの構造や縮退状態が必ずしも一致していないことを明らかにした。さらに、これまで<i>sufB</i>遺伝子および<i>trnE</i>遺伝子を葉緑体ゲノム上に保持しなければならないことが葉緑体ゲノムの消失に対する進化的制約であると考えられてきたが、<i>P.</i></p>			

*danica*の葉緑体ゲノム上には*sufB*遺伝子が存在しなかったことから、葉緑体ゲノムの消失に対する進化的制約は*trnE*遺伝子を葉緑体ゲノム上に保持しなければならないことである可能性を指摘した。

第3章は、非光合成生物*Chlamydomonas* NrC1902（緑色植物門緑藻綱）のトランスクリプトームデータの解析から、プラストキノン合成系が葉緑体に保持されている可能性を見出した。プラストキノンは、葉緑体内の光合成電子伝達系において重要な役割を果たしている電子伝達物質であり、非光合成生物が保持している事例は報告されていなかった。NrC1902の細胞抽出物のHPLC-MS/MS分析によって、非光合成生物がプラストキノンを合成していることを初めて明らかにした。また、プラストキノン合成酵素の発現をRNA干渉により一時的に抑制すると、細胞の増殖が著しく低下することを明らかにした。この結果は、プラストキノンが細胞の生存に直接影響を及ぼす働きを有していることを示唆し、光合成能の喪失後もプラストキノン合成系を欠失できない進化が存在することを示した。

第4章では、非光合成生物*Nitzschia* sp. KQ18（オクロ植物門珪藻綱）の葉緑体ゲノム解析およびトランスクリプトーム解析により、ゲノム縮退状態が*Nitzschia*属内の他の種の非光合成生物とは異なることを示した。さらに、クロロフィル合成に関わる遺伝子が葉緑体ゲノムおよび核ゲノムに残されていたことから、HPLCを用いてKQ18株に含まれる色素の分析を試み、既知のクロロフィル合成中間体ではなく、新奇クロロフィルMg-protoporphyrin IX dimethyl ester (MgPPDM)が合成されていることを明らかにした。このことは、葉緑体ゲノムの縮退過程において、クロロフィル合成過程の一部を残さなければならない何らかの進化的制約があること、また、合成されているMgPPDMが光合成機能以外の役割をもつクロロフィルである可能性を示唆している。

第5章では、上記を総括し、非光合成生物の葉緑体ゲノムの縮退状態や非光合成生物の葉緑体内で行われている反応が同属同種内でも異なること、また、光合成能の喪失にともなって早い段階で失われると考えられてきた葉緑体内での反応の全てあるいは一部が残されていることを述べ、葉緑体ゲノムの縮退過程に関するこれまでの理解が必ずしも適切でなく、更なるデータの蓄積が必要であることを述べている。さらに、光合成能の喪失にともなう葉緑体ゲノムの縮退、それにともない本来保持していたはずの機能の変化やゲノム縮退の進化的制約などの解明には、株レベルの進化的背景や生態学的背景を考慮する必要があることを指摘している。

(論文審査の結果の要旨)

ゲノム比較研究は光合成生物の進化過程の解明に大きく貢献している。光合成真核生物の葉緑体は、シアノバクテリアが従属栄養真核生物の細胞内に共生したものであり、共生したシアノバクテリアのゲノムに由来する独自の環状ゲノムをもつ。葉緑体ゲノム上にコードされている遺伝子の数は100個ほどであり、それらは光合成反応や葉緑体の形成・維持に必要な遺伝子の一部にすぎない。共生したシアノバクテリアのゲノム上にコードされていた遺伝子の大部分は、細胞内共生進化の過程において宿主である従属栄養真核生物の核ゲノムに移動したか、消失した。葉緑体の成立過程における遺伝子の移動や消失に関するゲノム比較研究は、ゲノム解析技術の発展とともに大きな進展を遂げている。一方で、光合成真核生物が光合成能を喪失する過程における葉緑体ゲノムの縮退、葉緑体内で行われる反応の変化、葉緑体ゲノムの消失に関するゲノム比較研究は、断片的であり発展途上である。

本論文は、光合成能を喪失し従属栄養によって生育する生物（非光合成生物）の葉緑体ゲノムを解析・比較することによって、葉緑体ゲノムの縮退状態を明らかにするとともに、葉緑体ゲノム上にコードされている遺伝子やトランスクリプトームデータの解析から葉緑体が保持している反応を類推し、光合成能の喪失とそれにとともなうゲノム縮退過程における新たな進化的制約に関する知見を提示している。

第1章では、本論文の背景を述べた上で、非光合成生物がもつ葉緑体ゲノムの進化研究における課題を指摘し、本論文の目的を適切に述べている。

第2章では、同種の非光合成生物 *Pteridomonas danica* (オクロ植物門ディクチオカ藻綱) 2株の葉緑体ゲノムを解析し、*P. danica* NY0221の葉緑体ゲノムが環状構造を保持しているのに対して、*P. danica* YPF1301では線状構造に変化していることを明らかにした。また、葉緑体ゲノム上にコードされている遺伝子が両株で一致していないことから、同種内における葉緑体ゲノムの縮退状態が必ずしも同じでないことを明らかにした。本研究成果は、大まかな分類群の一属一種を対象としてきたこれまでの比較ゲノム研究の問題点を明示している。また、本章において葉緑体ゲノムの消失に対する進化的制約が *trnE* 遺伝子を保持しなければならないことであるという新たな仮説の提案に至っている点においても高く評価できる。

第3章では、プラストキノン合成している非光合成生物が存在すること、また、非光合成生物においてプラストキノンが生育に不可欠な物質として利用されていることを初めて明らかにしている。プラストキノン合成に関わる遺伝子は、光合成能の喪失にとともない早期に消失すると考えられてきた。本研究は、光合成電子伝達系が失わ

れてもプラストキノンを合成しなければならない何らかの進化的制約が存在する事例があることを示し、葉緑体機能の喪失に関するこれまでの認識を覆す研究成果として高く評価できる。

第4章では、非光合成生物 *Nitzschia* sp. KQ18 (オクロ植物門珪藻綱) の葉緑体ゲノムおよび核ゲノム上にクロロフィル合成に関わる遺伝子の一部が残されていることを見出し、色素分析によってクロロフィル合成中間体の誘導体と考えられるMgPPDMが合成されていることを明らかにした。クロロフィル合成に関わる遺伝子を一部の非光合成性生物が保持していることはすでに報告されていたものの、実際にクロロフィルが合成されていることを示したのは本研究が最初であり高く評価できる。また、非光合成生物において、MgPPDMを合成しなければならない新たな進化的制約が生じた可能性を指摘している点についても評価できる。

第5章では、論文内容を総括したうえで、光合成能の喪失にともなう葉緑体ゲノムの縮退が、同属内、同種内においても株ごとに異なっており、葉緑体ゲノムの縮退、それにとともなう葉緑体内で行われる反応の変化、さらに、葉緑体ゲノム縮退・消失の進化的制約などの解明には、株レベルの進化的背景や生態学的背景を考慮する必要があることを指摘している。

本論文は、光合成能の喪失にともなう葉緑体ゲノムの縮退や葉緑体内で行われる反応の変化、葉緑体の役割の変化に関する研究の発展に大きく寄与するものである。また、人間と自然の共生のための新しい科学・技術のあり方を探求し、生物が種々の有機資源を効果的に産出する機能やメカニズムを解明する相関環境学専攻分子・生命環境論講座の趣旨にふさわしい内容であるといえる。

よって、本論文は博士(人間・環境学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和3年1月21日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、(令和4年9月30日までの間)当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 令和 3年 6月 22日以降