

III-2 生物分野

1. メンバー

教授 橋本哲男

准教授 稲垣祐司

2. 概要

生物分野では、真核生物の主要グループ間の系統関係解明に向け、主に3つの「柱」を設定し研究を進めている。

1. **新奇真核生物の発見** 真核生物の多様性の大部分は肉眼で認識することが難しい単細胞生物であり、これまでの研究によりでは真核生物多様性の全体像を十分に把握しているとは言い切れない。そこで自然環境からこれまでに認識されていない新奇真核生物を単離・培養株化しすることを目指している。

2. **大規模配列データ解析** 真核生物の主要グループ間の系統関係を分子系統学的に解明するには、大規模遺伝子データが必須である。そこで系統進化的に興味深い生物種を選び、培養と遺伝子データの取得をおこなっている。そのデータを基に、大規模配列データ解析を行い正確な真核生物系統の推測を目指している。

3. **分子系統解析の方法論研究** 分子系統解析においては、解析する配列データの特長、使用する解析法・配列進化モデルなどにより、系統推定に偏りが生じることが知られている。これまでの方法論は、単一遺伝子データに基づいて研究されてきたが、複数遺伝子から構成される大規模配列データを解析するための方法論の検討はそれほど進んでいない。そこで、大規模配列データ解析においてより偏りの少ない推定を目指し、方法論的研究を行っている。

3. 研究成果

【1】大規模配列データ解析

(1)有中心粒太陽虫とテロネマ類の系統関係の検討 (稲垣, 橋本)

2つの生物群、有中心粒太陽虫とテロネマ類は、その系統的所属がいまだに分からない。我々は有中心粒太陽虫 *Raphidiophrys contractilis* とテロネマ類 *Telonema subtilis* の網羅的発現遺伝子解析を、パイロシーケンシング技術を用いて行った。*R. contractilis* からは約36万リード、*T. subtilis* からは約21万リードを解析し、127遺伝子データ(合計約3万アミノ酸残基)に基づく系統解析を行った。興味深いことに、*R. contractilis*、*T. subtilis* とともにハプト藻類・クリプト藻類と単系統を形成した。この結果は、2種の生物群が真核生物大系統中でどのような位置を占めるかという長年の疑問に対し、初めて具体的な示唆を与える結果となった。一連の研究は、スイス・ジュネーブ大(F. Burki, J. Pawlowski)、ノルウェー・オスロ大(K. Shalchian-Tablizi, K. Jakobsen)、カナダ・ダルハウジー大(J. Archibald)、カナダ・ブリティッシュコロンビア大(P. Keeling)、イギリス・オックスフォード大(T. Cavalier-Smith)との共同で行った。現在結果を *Genome Biology and Evolution* 誌に投稿中である。

【2】新奇真核生物の発見 (稲垣・橋本)

(1) YPF602 株の解析

パラオ共和国の海水サンプルから新規従属栄養性真核生物を単離した。光学顕微鏡・電子顕微鏡観察からこの YPF602 株は、これまで知られている何れの単細胞真核生物にも類似していないことが分かった。この生物から 6 種類の遺伝子配列を決定し、系統解析を行った。これまでの解析で YPF602 株の系統的位は決定できていないが、クリプト藻類に近縁である可能性が示唆された。現在顕微鏡観察結果と 6 遺伝子配列に基づく系統解析の結果をまとめた論文を執筆中である。

(2) TKB055 株の解析

TKB055 株は筑波大学構内の評太郎池から単離された新規従属栄養性真核生物である。これまでの光学顕微鏡観察では、TKB055 株はこれまで知られている何れの単細胞真核生物とも類似性は見られなかった。しかし、この生物から複数遺伝子を単離し系統解析を行ったところ、エクスカバータ生物群の Discoba と呼ばれるグループとの近縁性が示唆された。電子顕微鏡観察による詳細な細胞内構造の観察結果を行ったが、エクスカバータ生物群に特徴的な細胞構造が観察された。現在顕微鏡観察結果と系統解析の結果をまとめ、論文執筆の準備を行っている。

【3】分子系統解析の方法論研究 (稲垣・橋本)

(1) 発見的樹形探索法の効率評価

最尤法をもちいる分子系統解析では、データ中に含まれる配列数から生成可能なすべての樹形の尤度を計算し、その尤度が最も大きい系統樹を「最尤系統樹」として選び出す(網羅的樹形探索)。しかし、配列数が増えるにつれ検証すべき樹形数は指数関数的に上昇し、実際の系統解析において網羅的樹形探索を行うことは事実上不可能である。この計算コストの高い網羅的樹形探索法のかわりに、任意に設定した「スタート系統樹」から最尤系統樹をヒューリスティック(発見的)に探索する方法が開発されてきた。ヒューリスティック探索は、可能な樹形をすべて探索しないため計算コストは極めて低く、実データ解析に広く使用されている。しかしこの探索法の最大の問題点は、結果の樹形が必ずしも最尤系統樹である保証がないことである。

我々は、300 個の 10 配列データから生成可能な 2,027,025 樹形に対して網羅的探索を行った。この解析には PACS-CS およびグリッドコンピューターを用いた。次に、網羅的探索から得られた最尤系統樹と、ヒューリスティック探索から得られた樹形を比較した。その結果、ヒューリスティック探索が最尤系統樹を選び出す効率は、(配列データの特徴にも依存するが)これまで考えられてきたよりも低い(~20%)ことが判明した。興味深いことに、複数の樹形からヒューリスティック探索を開始することにより、探索効率を改善することが可能であることが判明した。

(2) 遺伝子サンプリングが連結データ解析結果にもたらす影響 (稲垣, 橋本)

我々は 10,000 ポジション以上をふくむに 27 遺伝子データを生成し、この中から遺伝子をランダムにサンプリ

ングし、系統解析を行った。ノリの仲間である紅藻類と、クロレラなどを含む緑藻類や陸上植物をふくむ「緑色植物」は単系統であると考えられている。実際 30,000 アライメントポジション以上を含む巨大配列データ解析においては、紅藻類・緑色植物間の近縁性は強く復元されている。この紅藻類・緑色植物間の近縁性をマーカーにし、遺伝子サンプリングがどのように連結データ解析結果に影響をもたらすかを精査した。我々の行った解析により、紅藻類・緑色植物間の近縁性に対するサポートが、データサイズよりも遺伝子サンプリングにより大きく変動することが判明した。この結果は *Molecular Biology and Evolution* 誌 (2008 年 IP=7.280) に掲載された。

4. 研究業績

<研究論文>

1. Takishita K, Yamaguchi H, Maruyama T, Inagaki Y. A hypothesis for the evolution of nuclear-encoded, plastid-targeted glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase genes in "chromalveolate" members. 2009 PLoS ONE 4(3) e4737.
2. Sakaguchi M, Takishita K, Matsumoto T, Hashimoto T, Inagaki Y. Tracing back the EFL evolution in the cryptomonads-haptophytes assemblage: Separate origins of EFL genes in haptophytes, photosynthetic cryptomonads, and goniomonads. 2009 *Gene* 441(1-2): 126-131 (Published on-line on Jun. 26, 2008).
3. Takishita K, Inagaki Y. Eukaryotic origin of glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase genes in *Clostridium thermocellum* and *Clostridium cellulolyticum* genomes and putative fates of the exogenous gene in the subsequent genome evolution. 2009 *Gene* 441(1-2): 22-27 (Published on-line on Mar. 10, 2008).
4. Kamikawa R, Inagaki Y, Sako Y. Direct phylogenetic evidence for lateral transfer of elongation factor-like gene. 2008 *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105:6965-6969.
5. Ohama T, Inagaki Y, Bessho Y, Osawa S. Evolving genetic code. 2008 *Proceeding of the Japan Academy Series B* 84:58-74.
6. Nishimoto Y, Arisue N, Kawai S, Escalante AA, Hori T, Tanabe K, Hashimoto T. Evolution and phylogeny of the heterogeneous cytosolic SSU rRNA genes in the genus *Plasmodium*. 2008 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47:45-53.

<学会発表>

(A)招待講演

1. Akinori Yabuki, Takeshi Nakayama, Ken-ichiro Ishida, Tetsuo Hashimoto, Yuji Inagaki. TKB055 as a novel member of "Discoba". 2008 年 11 月 8-9 日(筑波大学) International Symposium on Protistology: Evolution and Diversity.

2. Yuji Inagaki, Kiyotaka Takishita, Tadashi Maruyama, Akinori Yabuki, Ken Ichiro Ishida, Naoji Yubuki, Isao Inouye, Miako Sakaguchi, Tetsuo Hashimoto. Protist EST program in Tsukuba (PETIT): Similar to but smaller than PEP by Genome Canada/Genome Atlantic. PROTIST 2008 (ISOP59/ISEPXVII) 2008年7月21-26日PROTIST 2008 (ISOP59/ISEPXVII) (カナダ・ダルハウジー大学)

(B)その他の学会発表

1. 橋本哲男、坂口美亜子、稲垣祐司. 真核生物の系統進化: 有中心粒太陽虫の位置づけを中心に. 2008年12月9-12日第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(兵庫・神戸・神戸ポートアイランド)
2. Akinori Yabuki, Yuji Inagaki, Ken-ichiro Ishida. *Palpitomonas bilix* n. gen., n. sp., a missing-link protist between green algae and cryptophytes? 2008年11月8-9日(筑波大学) International Symposium on Protistology: Evolution and Diversity.
3. Takuya Matsumoto, Miako Sakaguchi, Akinori Yabuki, Tetsuo Hashimoto, Yuji Inagaki. Katablepharid EFL possesses the evolutionary affinity to the homologues of chlorarachniophytes, foraminiferans, and diatoms. 2008年7月21-26日PROTIST 2008 (ISOP59/ISEPXVII) (カナダ・ダルハウジー大学)
4. Miako Sakaguchi, Kiyotaka Takishita, Takuya Matsumoto, Tetsuo Hashimoto, Yuji Inagaki. Updating the distribution of elongation factor-like genes in eukaryotes. PROTIST 2008 (ISOP59/ISEPXVII) 2008年7月21-26日PROTIST 2008 (ISOP59/ISEPXVII) (カナダ・ダルハウジー大学)

5. シンポジウムの開催

1. 2008年11月8-9日 国際シンポジウム「International Symposium on Protistology: Evolution and Diversity」主催:平成19年度筑波大学プレ戦略イニシアチブプログラム「地球—生命—人類の持続的共存のための新プロティストロジー創出へ向けた教育研究拠点形成(代表:井上勲)」講演者(国外8名・国内10名)