

IV-2. 分子進化分野

1. メンバー

准教授	稲垣 祐司（センター勤務・生命環境系）
研究員	中山 卓郎
教授	橋本 哲男（共同研究員・生命環境系）
特任助教	谷藤 吾朗（生命環境系）
学生	大学院生 8 名（後期課程在学 3 名、前期課程在学 5 名）、学類生 1 名

2. 概要

分子進化分野では、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】新奇真核微生物の発見 ……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るため、これまでの研究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微生物を単離・培養株化する。

【2】各種トランスクリプトーム・ゲノム解析 ……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進めている。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す。

【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。また、現状では超並列計算機上で効率よく作動する解析プログラムも十分に普及しているとは言えない。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測を目指し、方法論的研究と系統解析プログラムの並列化を行っている。

3. 研究成果

【1】大規模配列データに基づく真核生物大系統の推測

H25 年度末には、我々の研究グループが単離・同定し、正式に記載した *Tsukubamonas globosa* の大規模分子系統解析とミトコンドリアゲノムの完全解読結果を *Genome Biol Evol* 誌に (Kamikawa et al. 2014 *Genome Biol Evol* 6:306-315)、H26 年度初めには *Palpitomoans bilix* の大規模分子系統解析の結果を *Sci Rep* 誌に発表した (Yabuki et al. 2014 *Sci Rep*

4:4641)。H26 年度には、*Microheliella maris*、*Rigifila ramosa*、*Azumiobodo hoyamushi*、新奇真核微生物 PAP020 株のトランスクリプトームデータを基盤にした大規模分子系統解析の準備を行った。*Azumiobodo* と PAP020 株については、大規模分子系統解析まで実施することができた。

(1) *Microheliella maris* の系統的位置の推測

Microheliella は、形態データに基づき系統的に有中心粒太陽虫類と近縁であると示唆されている (Yabuki et al. 2012 *Protist* 163:356-388)。しかし、これまで行われた分子系統解析では、*Microheliella* と有中心粒太陽虫との近縁性は復元されていない。H26 年度までに Illumina Hi-seq2000 により、*Microheliella* と有中心粒太陽虫 SRT127 株、未記載従属栄養性真核微生物 SRT149 株 (通称「ゴニオモドキ」) からのトランスクリプトームデータを取得、大規模分子系統解析用のアライメントデータの作成を行ってきた。残念ながら、H26 年度中にはアライメントデータの準備が終了しなかったため、H27 年度もアライメントデータの作成を引き続き行う。H27 年度中に、大規模分子系統解析を開始する計画である。この研究は、独立行政法人海洋研究開発機構・矢吹彬憲博士との共同研究である。

(2) *Rigifila ramosa* の系統的位置の推測

Rigifila は従属栄養性アメーバ状真核微生物であるが、同じく従属栄養性アメーバ状真核微生物である *Micronuclearia* との近縁性が示された (Yabuki et al. 2013 *Protist* 164:75-88)。しかし、*Rigifila*+*Micronuclearia* クレードが、他の真核生物系統とどのような系統関係にあるのかははっきりしない。我々は *Rigifila* とディフェレリア類 *Diphylleria* sp. SRT116 株から Illumina Hi-seq2000 によるトランスクリプトームデータを取得し、カナダ・Dalhousie 大学 (A. J. Roger & A. G. B. Simpson 博士) とアメリカ・ミシシッピ一州立大 (M. W. Brown 博士) の研究グループが取得したアンキロモナス類 2 種 (*Ancrymonas digmoides* および *Fabomonas tropica*) とマンタモナス類 1 種 (*Mantamonas plastica*) のトランスクリプトームデータと併せ、大規模分子系統解析用データセットを作成した。H26 年度に大規模系統解析を実施したところ、*Rigifila* と *Diphylleria* がクレードを形成し、この関係はブートストラップ (BP) 値 100% で支持された。また *Rigifila*+*Diphylleria* クレードの基部から *Mantamonas* が分岐したが、BP 値によるサポートは低かった (BP = 58%)。H27 年度は、より厳密な系統解析を行うことで、*Rigifila* - *Diphylleria* 間の系統関係、*Rigifila* + *Diphylleria* クレードと *Mantamonas* を含む他の真核生物との系統関係を厳密に検討し、投稿論文作成へ取り掛かる。

(3) *Azumiobodo hoyamushi* の系統的位置の推測

キネトプラスチダ類には、寄生種と自由生活種が混在している。しかし、病原性寄生種であるトリパノソーマ目以外の生物種、特に寄生種の分子データは乏しく、キネトプラスチダ類に所属する生物種間の系統関係は未確定である。ホヤの「フニャフニャ病」は、キネトプラスチダに属する *Azumiobodo* により引き起こされるが、この病原性寄生種がキネトプラスチダ類中でどのような系統的位置を占めるのかははっきりしない。そこで、*Azumiobodo* をはじめ、アメーバ寄生性の *Ichthyobodo*-related organism、魚類寄生性の *Trypanoplasma borreli* から網羅的 mRNA データを取得し、43 遺伝子配列データに基づく分子系統解析を行った。その結果、*Azumiobodo* はネオボド目に属することが判り、キネトプラスチダ類の主要系統であるトリパノソーマ目、ユーボド目、パラボド目、ネオボド目、パラキネトプラスチダ目の間での関係を頑健に復元することに成功した。この結果については投稿論文作成中であり、H27 年度中に投稿を目指す。この研究は、独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所・釜石隆博士との共同研究である。

(4) 新奇真核微生物 PAP020 株の系統的位置の推測

新奇真核微生物 PAP020 株は、筑波大・白鳥峻志氏によりパラオ共和国のマングローブ林の底泥から単離された (図 1)。白鳥氏による顕微鏡観察と申請者による小サブユニットリボソーム RNA 配列に基づく系統解析では、PAP020 株と既知の真核生物との間に明らかな近縁性は示唆されなかった。そこで、PAP020 株から Illumina Hi-seq2000 によるトランスクリプトームデータを取得した (H25 年度)。H26 年度には、このトランスクリプトームデータを基盤に 148 遺伝子から構成されるアライメントデータを作成し、予備的な大規模分子系統解析を行った。この予備解析の結果、PAP020 株はディプロモナス類の基部から分岐し、この系統関係は比較的高い BP 値 (79%) で支持された。上記結果から、PAP020 株はこれまで報告されていないディプロモナス類の祖先的生物だと考えられる。既にカルペディエモナス様生物群 (CLOs) とディプロモナス類との近縁性が判明しているが (Kolisko ら 2010 *Environ Microbiol*)、今回の解析は CLOs を含まない。H27 年度には、昨年度作成した 148 遺伝子アライメントに CLOs の配列データを追加し、大規模分子系統解析をやり直す。この解析により、PAP020 株、CLOs、ディプロモナス類との系統関係 (図 2) を検討し、結果について論文作成に取り掛かる。H27 年度に行う PAP020 株の系統的位置の検討は、筑波大学計算科学研究センター学際共同利用プログラム REALPHYL (15a18; 代表・稲垣祐司) によりサポートされる。

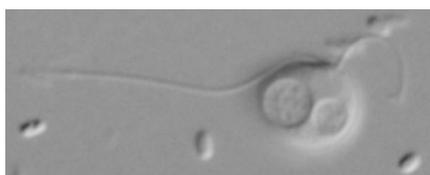


図 1. 嫌気性原生物 PAP020 株
(写真提供；筑波大・白鳥峻志)



図 2. 考えられるディプロモナス類、カルベディエモナス様生物群 (CLOs)、PAP020 株間での系統関係

【2】各種トランスクリプトーム・ゲノム解析

(1) ロパロディア科珪藻細胞内のシアノバクテリア共生体(楕円体)のゲノム解読

ロパロディア科珪藻は、ミトコンドリアや色素体に加え、独自のシアノバクテリア共生体を保持する(楕円体, spheroid body)。楕円体は窒素固定能力を持ち、窒素化合物を宿主細胞に供給していると考えられてきた。また楕円体は珪藻細胞外では生育できず、珪藻細胞の分裂とともに娘細胞に受け継がれる。しかし、楕円体が珪藻細胞にどの程度統合されているのか詳細は不明であった。中山研究員を中心に、我々はロパロディア科珪藻の一種 *Epithemia turgida* の楕円体ゲノムの全塩基配列を決定し、その結果は H26 年度にアメリカ科学アカデミー紀要 *Proc Nat Acad Sci USA* に掲載された (Nakayama et al. 2014 *Proc Nat Acad Sci USA* 111:11407-11412)。

H26 年度は、主にロパロディア科珪藻の別種 *Rhopalodia gibberula* の楕円体ゲノムを完全解読し、アノテーションを完了した (3.02 M 塩基対)。また、宿主(珪藻)細胞のトランスクリプトームデータ(合計 32 G 塩基対)解析を行い、58,475 種類のタンパク質遺伝子転写物を同定した。この中に楕円体ゲノムから水平的に転移した遺伝子を探索したが、楕円体ゲノム由来であると断定できる遺伝子は見つからなかった。宿主(珪藻)ゲノムに楕円体由来遺伝子が発見されなかったため、楕円体が「オルガネラ」であるかどうか結論を出すことはできない。H27 年度は、楕円体構造内に珪藻核コードタンパク質が存在するか否かを検討するため、楕円体を精製しプロテオーム解析を行う予定である。また、*E. turgida* と *Rhopalodia gibberula* の楕円体ゲノム間でゲノムサイズ、遺伝子組成、挿入因子の有無に明らかな違いがあった。これはロパロディア科珪藻の種間で楕円体ゲノムに進化的多様性があることを示唆する。そこで、第 3 のロパロディア科珪藻培養株 (*Epithemia* sp.) の楕円体ゲノムを決定する予定である。

(2) 光合成性真核微生物の色素体ゲノム解析

我々は渦鞭毛藻における葉緑体置換、二次的な光合成能の欠失に伴う色素体ゲノム進化に興味を持ち、①元々もっていた祖先型色素体をクロロフィル *a+b* 型色素体と置換した渦鞭毛藻 *Lepidodinium chlorophorum* と、②非光合成性色素体をもつ珪藻 *Nitzschia* sp. NIES-3581 株 (Kamikawa et al. 2015 *Phycol Res* 63:19-28) の色素体ゲノムを解析してきた (京都大学大学院・人間環境学研究科・地球環境学堂・神川龍馬博士との共同研究)。

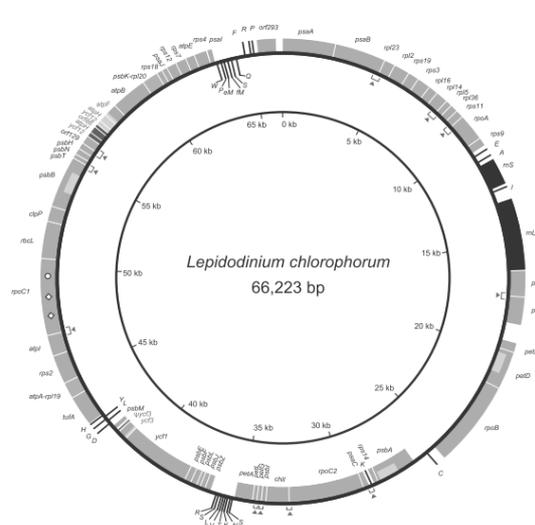


図 3. *Lepidodinium chlorophorum* 色素体ゲノム (Kamikawa et al. 2015 *Genome Biol Evol*)

H26 年度には、それぞれの色素体ゲノムデータを完全に解読し、論文を作成・投稿した (出版された *L. chlorophorum* 色素体ゲノムのみ図 3 に示した)。渦鞭毛藻 *L. chlorophorum* 色素体ゲノムとその配列情報に基づく系統解析により、世界に先駆けてこの色素体はプラシノ藻起源であることを解明した (図 4 ; Kamikawa et al. 2015 *Genome Biol Evol* in press)。 *Nitzschia* sp. NIES-3581 株の色素体ゲノムに関する論文は、2015 年 5 月に *Mol Biol Evol* 誌に受理された。

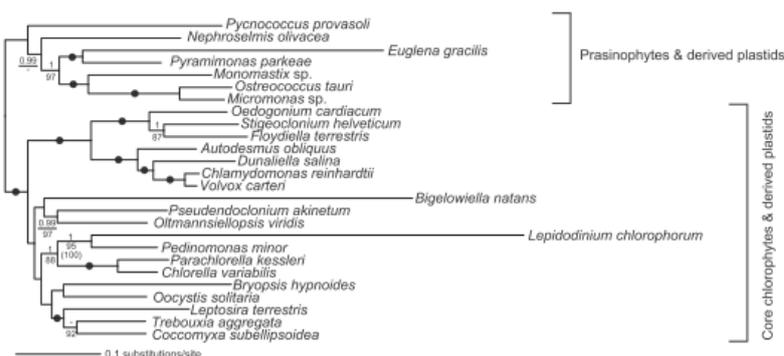


図 4. 52 個の葉緑体遺伝子配列に基づく最尤法による系統解析結果 (Kamikawa et al. 2015 *Genome Biol Evol*)

(3) クロロフィル *a+b* 型葉緑体をもつ未記載渦鞭毛藻 TRD および MRD 株のゲノム・トランスクリプトーム解析

これまで渦鞭毛藻の進化中で緑藻色素体の獲得は、*Lepidodinium* 属の祖先で一回だけ起きたと考えられてきた。しかし我々は東京大学アジア生物資源環境研究センター・岩滝光儀博士の研究グループと共同で、*L. chlorophorum* とは系統的に離れた緑色のクロロフィル *a+b* 型色素体をもつ未記載渦鞭毛藻 TRD 株と MRD 株を発見し (図 5)、一連の研究を進めている。H25 年度

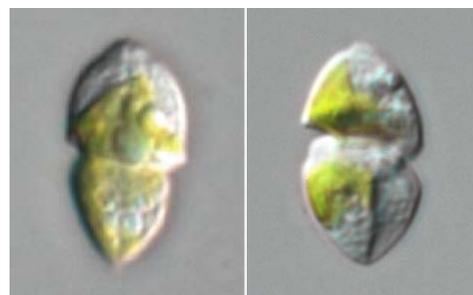


図 5 左、未記載渦鞭毛藻 MRD 株；
右、未記載渦鞭毛藻 TRD 株。
(写真提供；山形大・皿井千裕)

までに TRD 株と MRD 株の色素体は、*L. chlorophorum* と同じくペディノ藻を起源とするが、宿主 (渦鞭毛藻) の系統は互いに近縁とはならないことを明らかにしてきた。これまでの結果は、互いに独立な渦鞭毛藻 3 系統が、細胞内共生したペディノ藻からクロロフィル *a+b* 型色素体を独立に獲得したことを示唆する。従って、クロロフィル *a+b* 型色素体をもつ独立した渦鞭毛藻 3 系統の色素体と宿主核ゲノムを比較解析することにより、色素体置換に伴う共生体と宿主のゲノムの変化の本質について迫ることが可能となる。

H25 年度には、Illumina Hi-seq2000 による TRD 株と MRD 株についてトランスクリプトーム解析とゲノムシーケンス解析が完了していた。H26 年度に、上記 2 株のトランスクリプトームデータを精査したところ、渦鞭毛藻ゲノムにコードされる緑藻由来のタンパク質遺伝子転写物を多数同定することに成功した。渦鞭毛藻ゲノム上の遺伝子からの転写物の 5' 末端には、短い spliced leader 配列が付加される。実際に TRD 株と MRD 株の「緑藻由来」遺伝子転写物の一部が、それらの 5' 末端に spliced leader 配列をもつことを実験的に確認した。これらの結果は、緑藻 (共生体) 遺伝子が宿主ゲノムに水平的に転移したことを示し、共生した緑藻が TRD 株・MRD 株の細胞中で「葉緑体化」したと強く結論付けることができた。H26 年度には、トランスクリプトームデータの解析とともに、TRD 株および MRD 株の色素体ゲノム解読も行った。MRD および TRD 株からは、H25 年度中に Illumina Hi-seq2000 によるゲノムデータを取得していた。これらのデータを解析したところ、MRD 株の色素体ゲノムは約 100 K 塩基対の環状分子であることが判明した。TRD 株からのデータを解析したところ、55 遺伝子を含む 30 の色素体ゲノム断片 (合計 46.3 K 塩基対) の同定に成功したが、色素体ゲノムの完全解読には至らなかった。H27 年度は、完全解読に成功した MRD 株色素体ゲノムに関しては、配列データを精査し遺伝子のアノテーション等を行う。また並行して、TRD 株色素体ゲ

ノムの完全解読をめざし実験を継続する。

(4) 各種真核微生物のミトコンドリアゲノム解析

ミトコンドリアは細胞内共生した α プロテオバクテリアが退化したオルガネラである。ミトコンドリアの成立は原始真核生物細胞に深く関連し、真核生物の細胞体制とゲノム構造に大きな影響を与えたと考えられている。また真核生物の進化過程で、ミトコンドリアゲノムにコードされる遺伝子の種類や数、ゲノム構造などが大きく多様化してきた。我々は各種の真核微生物のミトコンドリアゲノムを解読し、その多様性と進化を解明しようと試みている。

H26年度はカタブレファリス類 *Roombia* sp. NY0200 株、クリプスタ生物群の新規メンバーである *Paliptomonas bilix* のミトコンドリアゲノムの解読に取り組んだ。*Roombia* sp.のミトコンドリアゲノム構造は極めて複雑であると考えられ、現在までに4つのミトコンドリアゲノム断片 (3.0、6.1、49、118 K 塩基対；合計約 176 K 塩基対) を同定した。これらのゲノム断片には2個の rRNA 遺伝子、14個の tRNA 遺伝子と34個のタンパク質遺伝子、12個の機能未知タンパク質遺伝子及び合計 23 kb 以上の散在反復配列が確認された。現在までに68個のイントロンが確認され、これらのイントロン中には19個の Intron Encoded Protein (IEP) が同定された。*P. bilix*のミトコンドリアゲノムについては完全解読に成功し、77 K 塩基対の線状ゲノムであることが判明した。興味深いことに、この線状ミトコンドリアゲノムはその両端に約 30 K 塩基対弱の **Inverted repeat** 構造をもっていることが判った。同様の構造は、系統的に離れた2つの生物種(アルベオラータ生物 *Acavomonas peruviana* およびストラメノパイル生物 *Proteromonas lacerate*) で報告されており、異なる3つの真核生物系統のミトコンドリアゲノムが、特異な構造に収斂進化したことを示唆する。H27年度には、上記2つのミトコンドリアゲノムに関する論文を執筆し、英文雑誌に投稿する予定である。

(5) 嫌気性従属栄養性ストラメノパイル生物 *Cantina marsupialis* のトランスクリプトーム解析

ストラメノパイル生物群には PCR 法により海水サンプルから増幅された 18S リボソーム RNA 配列だけから存在が推測されている MAST 系統群が多数知られている。我々は、ブリティッシュコロンビア大(カナダ)・雪吹直史博士と共同で MAST-13 グループに含まれる嫌気性従属栄養性真核微生物 *Cantina marsupialis* の単離培養に成功し、*C. marsupialis* の詳細な形態データを *J Eukaryot Microbiol* 誌に報告した (Yubuki et al. 2015 *J Eukaryot Microbiol* in press)。H25年度にこの培養株のトランスクリプトームデータを取得し、独立行政法人海洋研究開発機構・瀧下清貴博士の研究グループと共同でこの生物がもつ退化型ミトコンドリアの代謝機能を推測した。H26年度には論文を執筆し、

2015 年 5 月現在 *Protist* 誌に投稿中である。

【3】分子系統解析の方法論研究

分子系統解析で広く用いられる“homogeneous”塩基置換モデルでは、遺伝子配列間で塩基組成は大きく異なることを前提としている。しかし現実には、生物種間あるいは同一ゲノムの異なる領域間でも塩基組成が異なることがある。遺伝子配列間の塩基組成が大きく異なる場合、homogeneous 置換モデルを前提とした解析では著しいモデル不整合が生じ、その結果誤った系統樹（アーティファクト）に導かれることが分かっている。この塩基組成の偏りに起因するアーティファクトを防ぐためには、遺伝子配列間の塩基組成の違いを独立したパラメータとして評価できる“non-homogeneous (NH)”置換モデルによる系統解析プログラムを適応することで解消可能である。一方、この解析法では推定すべきパラメータ数と計算時間が飛躍的に増大するという問題が生じるため、系統解析プログラムの並列化が必須である。

我々は、NH 置換モデルを実装した系統解析プログラム NHML に対し、MPI および OpenMP による並列化を施した（H25 年度）。H26 年度には、テストデータ（15 配列×28,605 塩基座位）を作成し、COMA (PACS-IX) システムにおいて性能評価を行った。その結果、OpenMP/MPI とともに良好な並列化効率

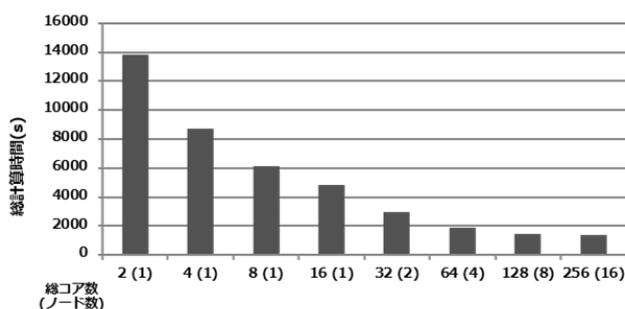


図 6 並列版 NHML の性能評価結果

を示し、128 並列まで効果的な計算時間の短縮が確認された（図 6）。また、真正細菌類の一群である γ プロテオバクテリア 24 種のもつ 32 遺伝子配列データ（合計 28,605 塩基座位）に対し、並列版 NHML プログラムを使用して最尤系統樹の探索とブートストラップ解析を行い、homogeneous モデルに基づく解析（Homogeneous 解析）からの結果と比較を行った（図 7 A & B）。Homogeneous 解析では γ プロテオバクテリア間の系統関係は高いブートストラップ値で支持されたものの、同じデータを並列版 NHML により解析した結果では大きく異なる樹形が復元された。また、両解析より得られた系統樹の対数尤度差に基づき統計検定を行ったところ、NHML による解析では Homogeneous 解析に比べより適切な系統樹推測が行えていることが示唆された。上記解析は、H26 年度筑波大学計算科学研究センター学際共同利用プログラム NONHOMO (14a14；代表・稲垣祐司) によりサポートされた。

H27 年度は、 γ プロテオバクテリア間の系統関係のより正確に推測をめざし、69 遺伝子配列データを新たに作成し、並列版 NHML により解析を行う。また、NH モデルを実装した、

アミノ酸配列ベースの系統解析プログラムの作成を開始する。アミノ酸配列に基づく系統解析は、塩基配列ベースの系統解析よりもモデルパラメーター数が飛躍的に増加する。このため、COMA システムの汎用 CPU のみを用いる並列化では十分な高速化が見込めない。そこで、COMA メニーコア部を利用し、系統樹推測のさらなる並列化・高速化を検討する。H27 年度に行う並列版 NHML による解析は、筑波大学計算科学研究センター学際共同利用プログラム NONHOMO (15a24 ; 代表・石川奏太) によりサポートされる。

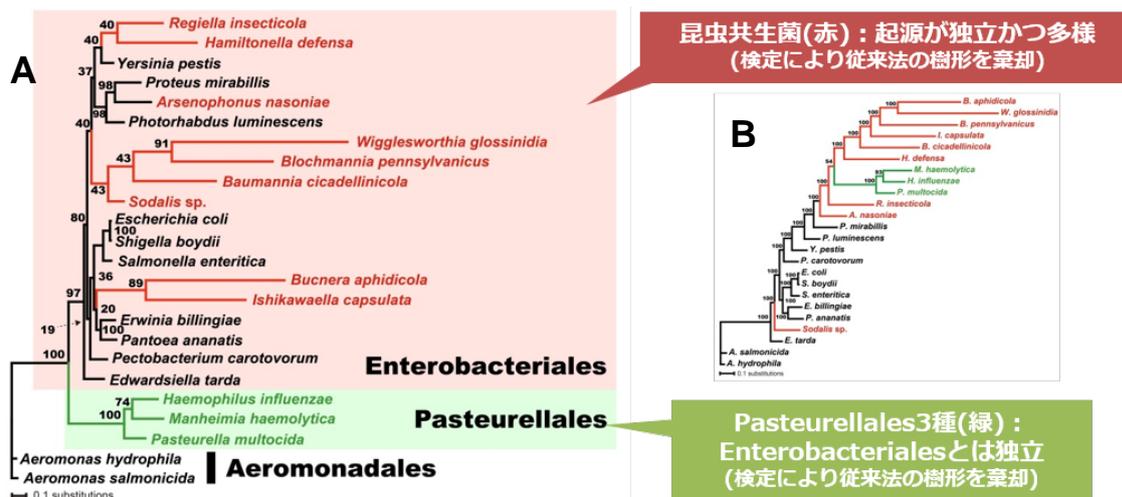


図 7 24 種の γ プロテオバクテリアの系統関係。(A) Non-homogeneous (GG98 + Γ) モデルに基づく系統解析結果 (並列版 NHML を使用)。 (B) Homogeneous (GTR + Γ) モデルに基づく系統解析結果。

4. 教育

(1) 博士論文

- A) 石川奏太 “How to Reconstruct Accurate Phylogenetic Trees from Nucleotide Sequence Data with Extraordinary Compositional Bias: Assessment of the Performance of Data-Recoding Methods and Non-Homogeneous Models”

(2) 修士論文

- A) 久米慶太郎 「嫌気性・微好気性真核微生物群フォルニカータにおけるミトコンドリア関連オルガネラの縮退進化」
- B) 平澤輝仁 「カタブレファリス類 *Roombia* sp. NY0200 株のミトコンドリアゲノムにおける大規模なイントロン獲得」
- C) 松尾恵梨子 「緑藻由来葉緑体をもつ渦鞭毛藻における GAPDH 遺伝子の進化」

(3) 卒業論文

- A) 井上貴史 「微好気性鞭毛虫 (*Dysnectes brevis*) と単一バクテリアとの二者培養系の確立」

(4) 集中講義

橋本哲男 : 「核酸・タンパク質配列データにもとづく生物進化の推測」

計算科学リテラシー (日・英)

5. 受賞、外部資金、知的財産権等

(1) 受賞

- A) **西村祐貴** (博士後期課程 2 年) Holtz-Conner Travel Award, Protist2014.
- B) **中山卓郎** 日本藻類学会 第 11 回研究奨励賞

(2) 外部資金 (名称、氏名、代表・分担の別、採択年度、金額、課題名)

- A) 新学術領域研究 (研究領域提案型) 「ミトコンドリア・色素体以外の共生オルガネラ成立過程の解明 (課題番号 23117006)」, **稲垣祐司** (代表), 研究期間: 2011-2015 年度, 交付額: 直接経費 17,300 千円, 間接経費 5,190 千円.
- B) 基盤研究 (A) 「新型分割イントロン切り出し因子同定に基づく真核生物 mRNA 成熟機構進化の解明 (課題番号 23247038)」, **橋本哲男** (分担; **稲垣祐司**), 研究期間: 2011-2014 年, 交付額: 直接経費 6,200 千円, 間接経費 1,860 千円.
- C) 若手研究 (B) 「ケルコゾア生物における“ミトコンドリア型解糖系”の理解に向けた基礎的研究 (課題番号 23247038)」, **中山卓郎**, 研究期間: 2014-2015 年, 交付額: 直接経費 1,400 千円.
- D) 若手研究 (B) 「非光合成葉緑体の進化と機能多様性探索～比較ゲノムとプロテオームから」, **谷藤吾朗**, 研究期間: 2014-2016 年, 交付額: 直接経費 2,600 千円.

(3) 知的財産権 (種別、氏名、課題名、年月日)

なし

6. 研究業績

(1) 研究論文

A) 査読付き論文

- ① Kamikawa R, Tanifuji G, Kawachi M, Miyashita H, **Hashimoto T**, **Inagaki Y**. Plastid genome-based phylogeny pinpointed the origin of the green-colored plastid in the dinoflagellate *Lepidodinium chlorophorum*. 2015 *Genome Biology and Evolution* in press.
- ② Yubuki N, Pánek T, Yabuki A, Čepička I, Takishita K, **Inagaki Y**, Leander BS. Morphological identities of two different marine stramenopile environmental sequence clades: *Bicosoeca kenaiensis* (Hilliard 1971) and *Cantina marsupialis* (Larson and Patterson, 1990) gen. nov., comb. nov. 2015 *Journal of Eukaryotic Microbiology* in press.

- ③ Kamikawa R, Yubuki N, Yoshida M, Taira M, Ishida K, Leander BS, Miyashita H, **Hashimoto T**, Mayama S, **Inagaki Y**. Multiple losses of photosynthesis in *Nitzschia* (Bacillariophyceae). 2015 *63*:19-28.
- ④ **Nakayama T**, **Inagaki Y**. Unique genome evolution in an intracellular N₂-fixing symbiont of a rhopalodiacean diatom. 2014 *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 111:11407-11412.
- ⑤ **Nakayama T**, Kamiawa R, **Tanifuji G**, Kashiya Y, Ohkouchi N, Archibald JM, **Inagaki Y**. Complete genome of a nonphotosynthetic cyanobacterium in a diatom reveals recent adaptations to an intercellular lifestyle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2014 111:11407-11412.
- ⑥ 石川奏太, 中尾昌広, **稲垣祐司**, **橋本哲男**, 佐藤三久. Non-homogeneous 置換モデルに基づく進化系統樹推測の MPI/OpenMP HYBRID 並列化 : 大規模計算システム向けプログラムの開発と性能評価. 2014 *情報処理学会論文誌コンピューティングシステム (ACS)* 7:13-24.
- ⑦ Kamikawa R, **Inagaki Y**, **Hashimoto T**. Secondary loss of a *cis*-spliced intron after the diversification of *Giardia intestinalis* assemblages. 2014 *BMC Research Notes* 7:413.
- ⑧ Nishimura Y, Kamikawa R, **Hashimoto T**, **Inagaki Y**. An intronic open reading frame was released from one of group II introns in the mitochondrial genome of the haptophyte *Chrysochromulina* sp. NIES-1333. 2014 *Mobile Genetic Elements* 4:e29384.
- ⑨ Yabuki A, Kamikawa R, Ishikawa SA, Kolisko M, Kim E, Tanabe AS, Kume K, Ishida K, **Inagaki Y**. *Palpitomonas bilix* represents a basal cryptist lineage: Insight into the character evolution in Cryptista. 2014 *Scientific Reports* 4:4641.

B) 査読無し論文

なし

(2) 国際会議発表 (発表者には*を付けた)

A) 招待講演

なし

B) 一般講演

- ① *Yuki Nishimura, Mami Nomura, **Takuro Nakayama**, Ken-ichiro Ishida, **Tetsuo Hashimoto**, **Yuji Inagaki**. *Paulinella chromatophora* retains two evolutionarily distinct pathways for tetrapyrrole biosynthesis. 2014 年 8 月 3-8 日 Protist2014. Banff Center, Banff, Canada.

- ② *Eriko Matsuo, **Takuro Nakayama**, Ryoma Kamikawa, **Goro Tanifuji**, Chihiro Sarai, Kazuya Takahashi, Mitsunori Iwataki, **Yuji Inagaki**. Complex evolution of plastid GAPDHs in the dinoflagellate species with green alga-derived plastids. 2014 年 8 月 3-8 日 Protist2014. Banff Center, Banff, Canada.
- ③ ***Takuro Nakayama**, **Goro Tanifuji**, Ryoma Kamikawa, Eriko Matsuo, Chihiro Sarai, Kazuya Takahashi, Ken-ichiro Ishida, Mitsunori Iwataki, **Yuji Inagaki**. "Green genes" in novel green colored dinoflagellates: signs of the nucleomorph genomes. 2014 年 8 月 3-8 日 Protist2014. Banff Center, Banff, Canada.
- ④ *Goro Tanifuji, Chihiro Sarai, Ryoma Kamikawa, Kazuya Takahashi, **Takuro Nakayama**, Konosuke Morita, **Tetsuo Hashimoto**, Mitsunori Iwataki, **Yuji Inagaki**. The discovery of novel nucleomorph-bearing algae. 2014 年 8 月 3-8 日 Protist2014. Banff Center, Banff, Canada.
- ⑤ Ryoma Kamikawa, Eriko Matsuo, Euki Yazaki, Michiru Tahara, Takaya Sakura, Kisaburo Nagamune, ***Yuji Inagaki**. A snap shot of the gene replacement after endosymbiotic gene transfer: plastid GAPDH genes in the dinoflagellate *Karenia brevis* as a case study. 2014 年 8 月 3-8 日 Protist2014. Banff Center, Banff, Canada.
- ⑥ *Matthew W Brown, Aaron A Heiss, Ryoma Kamikawa, Akinori Yabuki, Takashi Shiratori, Ken-ichiro Ishida, **Yuji Inagaki**, Alastair GB Simpson, Andrew J Roger. Phylogenetic placement of the orphaned amorphean protists; ancyromonads, mantamonads, collodictyonids, and rigifilids. 2014 年 8 月 3-8 日 Protist2014. Banff Center, Banff, Canada.
- ⑦ Ryoma Kamikawa, Eriko Matsuo, Euki Yazaki, Michiru Tahara, Takaya Sakura, Kisaburo Nagamune, ***Yuji Inagaki**. Cellular localization of evolutionarily distinctive 'plastid-targeted' GAPDHs in *Karenia brevis* and *K. mikimotoi*. 2014 年 6 月 25-29 日 Integrated Microbial Biodiversity Program meeting, Canadian Institute for Advanced Research. Liblice Castle, Liblice, Czech Republic.
- ⑧ ***Takuro Nakayama**, **Yuji Inagaki**. Green dinoflagellates: their origins and implications from transcriptome analyses. 2014 年 6 月 25-29 日 Integrated Microbial Biodiversity Program meeting, Canadian Institute for Advanced Research. Liblice Castle, Liblice, Czech Republic.
- ⑨ *Sohta Ishikawa, Ryoma Kamikawa, **Yuji Inagaki**. Inter- or intra-genomic gene conversions between peptide-chain release factor paralogs in Bacteroidetes. 2014 年 6 月 20-24 日 Evolution 2014. Raleigh Convention Center, North Carolina, USA.

(3) 国内学会・研究会発表（発表者には*を付けた）

A) 招待講演

- ① *稲垣祐司. 珪藻細胞内の非光合成性シアノバクテリア共生体の起源と進化. 2014 年 10 月 25 日 第 15 回環境微生物系学会合同大会 2014 サテライト研究集会『植物を住处とする微生物の生態』, クラウンパレス浜松, 浜松, 静岡.
- ② *稲垣祐司. 新たな細胞内共生体獲得に伴うゲノムの進化. 2014 年 9 月 17-19 日 日本遺伝学会第 86 回大会, 長浜バイオ大学, 長浜, 滋賀.
- ③ *稲垣祐司, 西村祐貴, 神川龍馬, 谷藤吾朗, 中山卓郎, 橋本哲男. 大規模配列データで解明される新奇真核微生物系統とそのオルガネラゲノム. 2014 年 9 月 12-14 日 日本植物学会第 78 回大会 明治大学生田キャンパス, 川崎, 神奈川.

B) その他の発表

- ① *矢崎裕規, 石川奏太, 久米慶太郎, 谷藤吾朗, 釜石隆, 橋本哲男, 稲垣祐司. 57 遺伝子系統解析により解明されたキネトプラスチダ類における寄生性形質獲得プロセス. 2015 年 3 月 21-22 日 第 84 回日本寄生虫学会大会 杏林大学三鷹キャンパス, 三鷹, 東京.
- ② *高林舜, 谷藤吾朗, 久米慶太郎, 稲垣祐司, 橋本哲男. フォルニカータ生物 *Kipferlia bialata* の二者培養系の確立とゲノム・トランスクリプトーム解析. 2015 年 3 月 21-22 日 第 84 回日本寄生虫学会大会 杏林大学三鷹キャンパス, 三鷹, 東京.
- ③ *森田幸之介, 谷藤吾朗, 中山卓郎, 神川龍馬, 皿井千裕, 高橋和也, 岩滝光儀, 稲垣祐司. 新奇緑色渦鞭毛藻鶴岡株・室蘭株の葉緑体ゲノム比較解析. 2015 年 3 月 20-22 日 日本藻類学会第 39 回大会 九州大学箱崎キャンパス, 福岡, 福岡.
- ④ *中山卓郎, 谷藤吾朗, 神川龍馬, 皿井千裕, 松尾恵梨子, 高橋和也, 岩滝光儀, 稲垣祐司. 新奇緑色渦鞭毛藻類における緑藻遺伝子の網羅的探索 — 新たなヌクレオモルフゲノムへの示唆. 2015 年 3 月 20-22 日 日本藻類学会第 39 回大会 九州大学箱崎キャンパス, 福岡, 福岡.
- ⑤ *野口文哉, 島村繁, 中山卓郎, 矢崎裕規, 橋本哲男, 稲垣祐司, 藤倉克則, 瀧下清貴. 嫌気性ストラメノパイル生物 *Cantina marsupialis* が有するミトコンドリア関連オルガネラの代謝能推定. 2015 年 3 月 20-22 日 日本藻類学会第 39 回大会 九州大学箱崎キャンパス, 福岡, 福岡.

- ⑥ *皿井千裕, 高橋和也, 谷藤吾朗, 中山卓郎, 神川龍馬, 稲垣祐司, 石田健一郎, 岩滝光儀. 山形県鶴岡産緑色渦鞭毛藻 TRD132 株の細胞内微細構造. 2015 年 3 月 20-22 日 日本藻類学会第 39 回大会 九州大学箱崎キャンパス, 福岡, 福岡.
- ⑦ *瀉端篤, 他 16 名 (中山卓郎および稲垣祐司, を含む). 有殻アメーバ *Paulinella chromatophora* のトランスクリプトーム解析. 2014 年 11 月 25-27 日 第 37 回日本分子生物学会. パシフィコ横浜, 横浜, 神奈川.
- ⑧ *松尾充啓, 他 16 名 (中山卓郎および稲垣祐司, を含む). 有殻アメーバ *Paulinella chromatophora* のゲノム解析. 2014 年 11 月 25-27 日 第 37 回日本分子生物学会. パシフィコ横浜, 横浜, 神奈川.
- ⑨ *皿井千裕, 谷藤吾朗, 森田幸之助, 中山卓郎, 高橋和也, 岩滝光儀, 石田健一郎, 稲垣祐司. 新奇緑色渦鞭毛藻共生体の微細構造観察: とくに共生体核に注目して. 2014 年 9 月 12-14 日 日本植物学会第 78 回大会 明治大学生田キャンパス, 川崎, 神奈川.
- ⑩ *矢崎裕規, 石川奏太, 久米慶太郎, 谷藤吾朗, 釜石隆, 橋本哲男, 稲垣祐司. キネトプラスチダ類における寄生性鞭毛虫の系統的位置と寄生性形質獲得プロセスの解明. 2014 年 8 月 21-24 日 日本進化学会第 16 回大会 高槻現代劇場, 高槻, 大阪.
- ⑪ *松尾恵梨子, 高橋和也, 中山卓郎, 谷藤吾朗, 岩滝光儀, 稲垣祐司. 渦鞭毛藻の葉緑体置換に伴うクロロフィル *a* 生合成系遺伝子の進化. 2014 年 8 月 21-24 日 日本進化学会第 16 回大会 高槻現代劇場, 高槻, 大阪.
- ⑫ *西村祐貴, 神川龍馬, 谷藤吾朗, 橋本哲男, 稲垣祐司. 真核微生物 *Palpitomonas bilix* におけるミトコンドリアゲノム解析. 2014 年 8 月 21-24 日 日本進化学会第 16 回大会 高槻現代劇場, 高槻, 大阪.
- ⑬ *谷藤吾朗, Bruce A Curtis, 中山卓郎, 稲垣祐司, 橋本哲男, Julius Lukes, John M Archibald. 寄生性アメーバに細胞内共生するキネトプラスチダ類のゲノム解析. 2014 年 8 月 21-24 日 日本進化学会第 16 回大会 高槻現代劇場, 高槻, 大阪
- (4) 著書、解説記事等
- ① 松尾恵梨子, 稲垣祐司. 細胞進化の証人たち・細胞進化モデル生物図鑑 第 6 回 仁義なき光合成能争奪戦—多重共生系モデル: 渦鞭毛藻 2014 細胞工学 33:452-453.

- ② 稲垣祐司, 中山卓郎. プレスリリース「ミトコンドリア・葉緑体に次ぐ第三の共生オルガネラか?～“光合成をしない”光合成細菌のゲノム解読に成功～」
平成 26 年 7 月 22 日

7. 異分野間連携・国際連携・国際活動等

(1) 異分野連携

高性能計算システム研究部門との連携による分子系統解析プログラムの並列化

(2) 国際連携

- A) A. J. Roger 博士 (Dalhousie 大・カナダ) および A. G. B. Simpson 博士 (Dalhousie 大・カナダ) との共同研究: フォルニカータ生物群における嫌気性ミトコンドリア機能の解析
- B) A. J. Roger 博士 (Dalhousie 大・カナダ)、A. G. B. Simpson 博士 (Dalhousie 大・カナダ)、M. W. Brown 博士 (アメリカ・ミシシッピ州立大) との共同研究: 大規模遺伝子配列データに基づく真核生物大系統の推測

(3) 国際活動

なし

8. シンポジウム、研究会、スクール等の開催実績

- (1) 第 37 回日本分子生物学会ワークショップ 1W18「細胞内共生した生物や環境ウィルスのゲノム進化」開催場所パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2014 年 11 月 25 日, オーガナイザー: 橋本哲男、武村政春
- (2) 研究会「微生物進化 2015」開催場所: 筑波大学計算科学研究センター (茨城県つくば市), 日時: 2015 年 2 月 27 日, オーガナイザー: 案浦健、千葉洋子、橋本哲男、稲垣祐司.

9. 管理・運営

なし

10. 社会貢献・国際貢献

なし

11. その他

なし