

論文審査の要旨及び担当者

No.1

報告番号	甲 乙 第	号	氏 名	鶴巻 萌
論文審査担当者	主 査	政策・メディア研究科委員	兼 政策・メディア研究科教授	金井 昭夫
	副 査	政策・メディア研究科委員	兼 環境情報学部教授	内藤 泰宏
	副 査	政策・メディア研究科委員	兼 政策・メディア研究科教授	荒川 和晴
	副 査	政策・メディア研究科委員	兼 環境情報学部教授	黒田 裕樹
学力確認担当者：				
鶴巻萌君の学位請求論文は、「Features and evolution of ribosomal genes in Candidate Phyla Radiation (CPR) bacteria」と題され、全 4 章から構成されている。論文の邦題は、「Candidate Phyla Radiation (CPR) バクテリアにおけるリボソーム遺伝子の特性および進化」である。題目の通り、本研究は CPR バクテリアが有するリボソームタンパク質とリボソーム RNA (rRNA) の遺伝子配列を網羅的に解析し、同バクテリアのリボソームの特異的な性状とその進化を明らかにしたものである。 本研究の主たる成果は次の 5 点にまとめられる。 (1) CPR バクテリアでは、通常のバクテリアが有する 54 種のリボソームタンパク質のうち複数が欠落または短縮しており、3 種の rRNA においても一部の領域が欠落していることを明らかにした。(2) CPR バクテリアのリボソームタンパク質の多くが、これまでのバクテリアのそれらと部分的に異なるアミノ酸配列を有することを示した。(3) CPR バクテリアのリボソームは、表面部分が単純化した小型な構造を持ち、特に翻訳効率に関わる L1-stalk が欠落あるいは不完全な状態で存在することを示した。(4) CPR バクテリアの rRNA 遺伝子に存在する挿入配列 (IS) を解析し、グループ I またはグループ II イントロンに類似した IS が CPR の系統全体に分布していること、IS の内部にはイントロンの転移に関わる LAGLIDADG ホーミングエンドヌクレアーゼ (LHE) の遺伝子が高頻度に存在していることを明らかにした。(5) CPR バクテリアの 1 系統に由来する LHE の生化学実験を実施し、イントロン転移の初期段階である配列特異的 DNA 切断の活性を持つことを確認した。 第 1 章は序論であり、研究題材に関する基礎知識と先行研究について概説するとともに、本研究の着想と目的を述べている。まず、リボソームは高度に保存された分子複合体であり、タンパク質合成 (翻訳) の場として細胞機能の中心的役割を担うことを記載し、原核生物におけるリボソームの基本的な分子構成を説明した。続いて、本研究の題材である CPR バクテリアは近年発見された未培養系統を中心に構成され、小型なゲノムを始めとする特徴を有していること、バクテリアの多様性と進化を議論する上で関心を集めていることを述べた。また先行研究では、CPR バクテリアのゲノム上で一部のリボソームタンパク質の欠落や rRNA 遺伝子上の IS が見出されており、その知見が CPR のより深い理解とリボソーム進化の議論において重要であること、一方で個々の遺伝子のサイズや構造といった詳細な情報は不足していることを述べた。そこで、CPR の公共ゲノム配列を使用して個々のリボソーム遺伝子を網羅的に抽出し、それらの特性と系統分布を解明することを目的として掲げた。				

第2章では、公共データベースから897個のCPRバクテリアゲノムと1661個の既知の(non-CPR)バクテリアのゲノムを収集し、各リボソームタンパク質遺伝子の有無、およびリボソームタンパク質とリボソームRNA(rRNA)の遺伝子サイズを包括的に調べた。解析の結果、先行研究で知られていたリボソームタンパク質uL1、bL9、uL30に加え、新たにbL28、uL29、bL32、bL33の遺伝子が系統特異的に失われていることを明らかにした。さらに、個々の遺伝子のサイズと配列をnon-CPRバクテリアと比較し、複数のリボソームタンパク質に部分的な欠落や付加領域を見出したとともに、16S、23S、5S rRNAもまた特定部位の欠落による短縮が起きていることを示した。このような欠落領域を標準的なリボソームの立体構造データに当てはめることで、CPRバクテリアのリボソームは、表面構造が単純化した小型な構造を持つことを示唆した。

第3章では、CPRバクテリアのrRNA遺伝子上に存在することが知られているISに着目し、第2章で構築したrRNA遺伝子のデータセットを使用して、網羅的なISの検出と機能分類、およびその系統分布の解析を実施した。その結果、ISは16S rRNA遺伝子の48%、23S rRNA遺伝子の82%に存在し、CPRクレード全体に広く分布しているが、例外として一部の系統グループにはほとんどISが存在しないことを明らかにした。さらに、抽出したISの配列に対してイントロンとタンパク質コード領域の検出を実施し、ISの大部分が自己スプライシングを行うグループIもしくはグループIIイントロン様の構造を持つこと、その内部にLAGLIDADGをはじめとするホーミングエンドヌクレアーゼ(HE)ドメインを持つタンパク質を頻繁にコードしていることを示した。HEはイントロン転移の開始時に標的DNAの切断を行う機能を持つことから、請求者はrRNA遺伝子のIS増加にこれらのHE遺伝子の存在が寄与していると考えた。そこで、特に豊富に存在したLAGLIDADGホーミングエンドヌクレアーゼ(LHE)を対象にして更なる情報解析を行い、CPRバクテリアのLHEが単一の機能ドメインからなることを示した。さらに、CPRの1系統である*Ca. Shapirobacteria*に由来するI-ShaIの大腸菌での組換え体タンパク質を使用して実験学的検証を実施し、そのエンドヌクレアーゼ活性が挿入部位のDNA配列を標的としていることを確認し、CPRバクテリアにおけるrRNA ISの増加にLHEが寄与することを強く支持する結果を示した。

第4章では、第2章から第3章で論じられたCPRバクテリアのリボソーム遺伝子の特性に関する研究成果をまとめ、これらの特性が生じた進化的背景や、特異なリボソームがもたらす生物学的な影響について考察している。また、本研究領域における将来の課題として、更なる生化学的検証の必要性について記載し、最後に本研究がCPRおよびリボソームの進化における新たな知見をもたらすものであると述べている。

本博士論文は、原核生物の多様性におけるCPRバクテリアの位置付けと、翻訳系の分子進化に関する新しい洞察を提供するものとして極めて高く評価できる。以上のことから、請求者は今後、独立した研究者として、解決困難な課題を発見し、これを多角的に遂行する能力が十分にあると言える。したがって、本学位請求論文は、博士(学術)の学位授与の要求水準を満たすものと認められる。