

令和 5 年 8 月 29 日

工学研究科委員長  
掛下 知行 殿

審査委員会報告書

審査委員	
(主査) 教授 柏山 祐一郎	教授
教授 矢部 希見子	
教授 小松 節子	

学位論文提出者氏名

丸山 萌

学位論文題目

*Rapaza viridis* における盗葉緑体制御メカニズムの解明

学位申請受理年月日

令和 5 年 8 月 2 日

1. 学位論文の内容の要旨

別紙論文要旨のとおり

2. 学位論文審査結果の要旨

盗葉緑体现象を示すユーグレノイド類の *Rapaza viridis* (以下「ラパザ」) では、食作用で取得した緑藻細胞から葉緑体のみを分離し、細胞核などは完全に排除する。また、その後約 1 ヶ月葉緑体を維持し光独立栄養性を示すが、これにはラパザ核ゲノムの水平遺伝子転送で取得した葉緑体関連遺伝子との関連が予測されていた。しかし、いずれも詳細な細胞プロセスや分子メカニズムに関する研究はなされていなかった。そこで丸山氏は、ラパザの盗葉緑体の形成過程における微細構造変化の観察と、ラパザ核ゲノムにコードされた葉緑体関連タンパク質の機能解析という 2 つのアプローチにより、ラパザが盗葉緑体を形成してこれを制御するメカニズムの理解を試みた。

本論文の第 1 章では、盗葉緑体现象とラパザの研究背景が整理され、研究の目的と重要性が示されている。第 2 章では、ラパザの盗葉緑体形成過程における微細構造が透過型電子顕微鏡と集束イオンビーム走査電子顕微鏡により詳細に観察されている。

これらにより、4つのカテゴリーに分類可能な未知のメカニズムがドナー細胞からの葉緑体以外の成分を除去するプロセスで機能していることが示され、さらにこれらが陸上植物の葉緑体の維持機構と考えられているミクロクロロファジーと関連する可能性が論じられている。また、盗葉緑体の分割機構が一般的な葉緑体分裂の機構と異なっており、これが盗葉緑体現象に特化した進化の帰結である可能性を論じている。

第3章と第4章では、ラパザの核ゲノムに含まれる、様々な光合成細胞からの水平転移で獲得されたと推測されている葉緑体の機能に関連する遺伝子群について、その翻訳産物の機能を検証している。まず第3章では、葉緑体包膜で機能する糖輸送体と予測された *RvTPTs* と、ルビスコの小サブユニットと相同性の高いペプチド配列リピートを有する *RvRbcS* について、これらの RNAi ノックダウン実験および CRISPR/CAS9 ノックアウト実験に基づく諸実験から、これらの翻訳産物が、それぞれ盗葉緑体の機能維持に必要な因子であることを論じている。次に第4章では、ラパザの盗葉緑体における無機窒素同化と関連すると予想された *RvNaR* の機能の検証を試み、これが硝酸還元酵素として硝酸還元経路の必須因子として機能していることを論じている。また、この遺伝子が、姉妹系統で真の葉緑体を有する光合成生物であるユーグレナ藻と全く異なる進化的起源を有することを論じている。最後の第5章では、得られた結果を総括し、盗葉緑体現象に必要な分子生物学的要因と、ドナー細胞と宿主細胞の相互作用について詳細に考察されている。

この研究成果は、丸山氏が新規な研究材料を開拓して無菌の同調培養系を確立し、さらに世界で初めての分子生物学的ないし生化学的な解析が可能な盗葉緑体生物の実験系を確立した基盤の上に、実現させたものである。この研究基盤により、細胞メカニズムにおいて未解明な側面の多い盗葉緑体現象において、異種の葉緑体を細胞内に維持・制御するメカニズムの総合的な理解に重要な寄与をもたらすと期待される。丸山氏は、目的にあった実験システムを設定し、綿密な観察と慎重な再現実験などを通してこれらの重要な結果を得た。審査員全員で審査した結果、本大学院における学位授与の水準を十分に満たす論文であると判断した。

上記の研究内容を審査委員会で慎重に検討した結果、丸山氏は博士研究者として十分な能力を有しており、また本論文は博士（工学）の論文として、学術上価値のあるものと認める。

### 3. 公聴会の日時

令和5年8月28日

### 4. 最終試験結果の要旨

令和5年8月28日、論文内容およびそれに関連した事項について試問を行い、審議の結果合格と認めた。

### 5. 審査委員会の所見

審査の結果および最終試験結果等を考慮して、申請者は博士（工学）の学位を授与される資格を有するものと認める。

（注） 必要のある場合は、A4縦型の用紙を適宜補うものとする。