

平成 19 年度修士論文（工学）

褐藻 *Pylaiella littoralis* のミトコンドリア group II イントロンと
Chlorella saccharophila と同定された緑藻 KS-1 株の分子系統解析

Molecular phylogenetic analysis of mitochondrial group II introns detected in
a brown alga *Pylaiella littoralis* and the phylogenetic position of a green alga '
Chlorella saccharophila' (KS-1)

平成 20 年 3 月

高知工科大学大学院
工学研究科 基盤工学専攻
物質・環境システム工学コース
1105118 藤村政隆

[1] *Chlorella saccharophila* と同定された緑藻 KS-1 株の分子系統解析

1. 要旨

鹿児島県の硫黄島の海岸から採取・単離された KS-1 株は、MV (メチルビオロゲン) CdCl_2 に対して耐性を持ち、形態的な特徴から *Chlorella saccharophila* と同定された。

本研究では、*Chlorella saccharophila* と同定された KS-1 株の分子系統上の位置を推定するために、核ゲノム上の遺伝子として 18S rDNA、ミトコンドリアゲノム上の遺伝子として *cox1*、葉緑体ゲノム上の遺伝子として *rbcL* の DNA 塩基配列を決定した。これを他の緑藻の塩基配列と比較し、近隣結合法によって分子系統樹を作成することで、KS-1 株の系統位置を解析した。その結果 KS-1 株は、*Chlorella saccharophila* あるいは、その近縁種ではないことを示した。従って、形態的な特徴に基づいた分類が誤りである可能性が高いことが分かった。

また、18S rDNA 遺伝子の塩基配列中に、group I インترونと思われるイントロンを見出し、この配列が group I インترونであることを確かめる為に、group I インترونの特有な二次構造を作れるかどうか確かめた。group I インترونの一般的な特徴を満たす 2 次構造モデルを作ることが出来たので、この配列は group I インترونである可能性が高い。

[2] 褐藻 *Pylaiella littoralis* のミトコンドリア group II イントロンの分子系統解析

1. 要旨

イントロンには、核型イントロンのほかに group I イントロンと group II イントロンと呼ばれるものが存在し、それらのイントロン RNA 配列は、自分自身を切り出して前後のエキソンを結合する活性を持つリボザイム分子の一種であることが分かっている。そのうちの group II イントロンは、オルガネラや細菌、ウィルスのゲノムから見出されている。group II イントロン内には、スプライシングされたイントロン RNA を DNA の特定配列部に挿入させた後に、これを逆転写して DNA に変換するのに必要な酵素がコードされている。この酵素の働きは、group II イントロンが水平伝播する時に使われると考えられている。オルガネラの遺伝子内に侵入したイントロン DNA は、メカニズムは不明だが、進化的に長い時間のうちに消えてしまう。フランスで採集された褐藻 *P.littoralis* のミトコンドリア LSU rRNA 遺伝子には4つの group IIB イントロンが、*cox1* 遺伝子には、3 つの group IIA イントロンの存在が報告されている。6 カ国で採集された *P.littoralis* について、サンプル毎に、上記 2 種類の遺伝子内に挿入されているイントロンの数は様々であること、また同一サイトに挿入されているイントロンであっても、その内部配列に大きな違いが見られることが解っている。これらのデータを系統解析することにより、日本で採取されたサンプルで見出された、LSU rRNA 遺伝子内の第 4 イントロンとフランスのサンプルが持つ遺伝子内の第 1 イントロンは、ごく最近侵入してきたイントロンである事が明らかになった。

データベースから *P.littoralis* の group II イントロン内 ORF とホモロジーのある塩基配列、アミノ酸配列を得て、*P.littoralis* の group II イントロンとの相互関係を調べることにより、*P.littoralis* に侵入してきたイントロンがどの種由来なのか、または近い種を明らかに出来ると考え分子系統解析を行った。その結果データベースには *P.littoralis* の group II 内 ORF と高い相同性を示す配列が無く、*P.littoralis* のミトコンドリア内にイントロンを提供したと思われる生物種の特定はできなかった。