

## 古代遺伝子の復元による祖先生物の生育温度の推定 Resurrection of ancestral genes to infer the ancient environment temperatures

赤沼 哲史<sup>1\*</sup>, 中島 慶樹<sup>1</sup>, 島田 真実<sup>1</sup>, 横堀 伸一<sup>1</sup>, 山岸 明彦<sup>1</sup>

AKANUMA, Satoshi<sup>1\*</sup>, Yoshiki Nakajima<sup>1</sup>, Masami Shimada<sup>1</sup>, Shin-ichi Yokobori<sup>1</sup>, Akihiko Yamagishi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東薬大・生命

<sup>1</sup>Dept. of Mol. Biol., Tokyo Univ. of Pharm. Life Sci.

The ancient global environment is a topic that has interested many scientists. One debate regarding the ancient environment concerns the growth temperature of ancient organisms. A number of theoretical studies have argued the growth temperature of ancient organisms, but these studies remained inferential due to the lack of empirical testing. Therefore, we developed an experimental way to assess the growth temperatures of ancient organisms using an inferred amino acid sequence of a protein postulated to exist in the last universal common ancestor. Because extant genes are evolutionary descendants of ancient genes, information on ancient genes is embedded in the sequences of extant genes. Therefore, ancestral sequences of a particular protein can be inferred by comparing extant homologous protein sequences. In our experimental method, inferred ancestral residues were introduced into several extant proteins and then the thermal stabilities of the resulting mutant proteins were examined. The mutant proteins, each of which contains one or a few inferred ancestral residues, showed the trend toward enhanced thermal stability when compared to the respective wild-type protein. Because the thermal stabilities of proteins often reflect the living temperatures of host organisms, our results have supported the hyperthermophilic common ancestry hypothesis.

To further improve our knowledge of ancient living systems and of the ancient global environment where early life evolved, the ancestral sequence reconstruction method was used to predict, synthesize, and characterize the complete ancestral sequences of B subunit of DNA gyrase (GyrB) and of nucleoside diphosphate kinase (NDK). The ancestral GyrB sequence was inferred from the sequences of extant DNA gyrases and type-VI DNA topoisomerases as the member of outgroup. Genes encoding the inferred sequence and its isolated N-terminal ATPase domain were PCR constructed and expressed in *Escherichia coli*. The structural properties and thermal stability of ancestral full-length GyrB are similar to those of the extant thermophilic DNA gyrase from *Thermus thermophilus*. The thermal stability of the ancestral ATPase domain is also similar to that of the *T. thermophilus* ATPase domain. Moreover, the ancestral ATPase domain has significant catalytic activity. The fact that the thermal stabilities of the ancestral GyrB and its ATPase domain are comparable to those of the extant thermophilic proteins further supports the idea that the ancient organism lived at high temperatures.

Ancestral NDK sequences were also inferred by the phylogenetic method. For NDKs, the denaturation temperatures of the proteins are roughly correlated with the optimum growth temperatures of the host cells. The genes encoding the inferred amino acid sequences were reconstructed by a PCR-mediated gene synthesis method. The ancestral genes were expressed in *E. coli* and the resurrected proteins purified. The purified ancestral NDKs are catalytically active. Temperature-induced unfolding experiments showed that the ancestral NDKs are significantly stable even around 100°C. The results are again compatible with the hyperthermophilic common ancestry. Thus, our empirical reconstruction of ancestral genes provides experimental evidences that strongly support the hypothesis that ancient organisms lived in thermophilic environments.

Keywords: phylogenetic tree, ancestral gene resurrection, last universal common ancestor, ancient environment temperature

## 微生物によるメタン生産と嫌気メタン酸化 Biological methane production and anaerobic oxidation of methane

嶋 盛吾<sup>1\*</sup>

SHIMA, Seigo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> マックスプランク陸生微生物学研究所

<sup>1</sup>Max-Planck-Institute for Terrestrial Microbiology

光合成によって生産された有機物の多くは生態系で微生物によって分解される。その分解過程では二酸化炭素と水素ガスおよび有機酸が中間体として生成し、これらの物質はメタン生成菌によって代謝されメタンとなる。ほとんどのメタン菌は二酸化炭素の水素ガスによる還元反応によってメタンを生産できる。この微生物代謝により莫大な量のメタンが地球上で生産蓄積されている。海底に大量に埋蔵され、将来のエネルギー源として期待されているメタンハイドレートに含まれるメタンも微生物によって生産されたものである。メタン生成代謝酵素系には10種類以上の酵素が含まれ、その多くが金属錯体を活性中心に含む金属酵素である。ヒドロゲナーゼと呼ばれる酵素が水素分子を活性化分解し、その還元力が二酸化炭素の還元に使われる(1)。最終段階でメタン生産を直接触媒する酵素はメチル補酵素M還元酵素(MCR)である(2)。硫酸塩などの電子受容体存在下ではメタンはさらに嫌氣的に酸化される(3)。嫌気メタン酸化代謝はメタン生成代謝を逆行させたようなもので、少なくとも部分的にはメタン生成を触媒する酵素がその逆反応を触媒している。最近、結晶構造解析によりMCRが嫌気メタン酸化反応を行っていることを示す重要な証拠が得られた(4)。本講演では、微生物によるメタン生成と嫌気メタン酸化の生化学に関する最新の研究結果を報告する。

1. Shima, S., Pilak O., Vogt, S., Schick, M., Stagni, M.S., Meyer-Klaucke, W., Warkentin, E., Thauer, R.K., & Ermler, U. (2008) The crystal structure of [Fe]-hydrogenase reveals the geometry of the active site. *Science*, 321, 572-575.
2. Ermler, U., Grabarse, W., Shima, S., Goubeaud, M. & Thauer, R.K. (1997) Crystal structure of methyl-coenzyme M reductase: the key enzyme of biological methane formation. *Science* 278, 1457-1462.
3. Kruger, M., Meyerdierks, A., Glockner, F.O., Amann, R., Widdel, F., Kube, M., Reinhardt, R., Kahnt, J., Bocher, R., Thauer, R.K. & Shima, S. (2003) An conspicuous nickel protein in microbial mats that oxidize methane anaerobically. *Nature*, 426, 878-881.
4. Shima, S., Krueger, M., Weinert, T. Demmer, U., Kahnt, J., Thauer, R.K. & Ermler, U. (2012) Structure of a methyl-coenzyme M reductase from Black Sea mats that oxidize methane anaerobically. *Nature* 481, 98-101.

キーワード: メタン生成, 嫌気メタン酸化, メチル補酵素M還元酵素, X線結晶構造解析, 生化学, [Fe]-ヒドロゲナーゼ  
Keywords: Methanogenesis, Anaerobic oxidation of methane, methyl-coenzyme M reductase, X-ray crystallography, Biochemistry, [Fe]-hydrogenase

## シアノバクテリアの多細胞体制の分子機構と系統進化

### Evolution of multicellularity in cyanobacteria: molecular genetic and genomic approaches

富谷 朗子<sup>1\*</sup>

TOMITANI, Akiko<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 独立行政法人海洋研究開発機構

<sup>1</sup>Institute of Biogeosciences, JAMSTEC

生物にとって多細胞性の獲得は、形態や機能の多様性・複雑性の拡大に結びつく、最も重要な進化的イベントの一つである。それでは、生物はいつ・どのように多細胞性を獲得したのだろうか？本研究では、生物進化史上、最も早く多細胞体制を獲得した生物のひとつと考えられる糸状性シアノバクテリアを材料に、分子遺伝学的手法により細胞分化を制御する新規遺伝子の単離・同定を行い、さらに分子系統解析およびゲノム比較を通じて、シアノバクテリアにおける多細胞体制の進化過程とその遺伝的背景について考察した。

シアノバクテリアは約 27 億年前までに地球上に出現した最初の酸素発生型光合成生物であり、地球史を通じ一次生産者や酸素の供給源として環境や生物の進化に大きな影響を及ぼしてきた。その進化の解明は、地球生命圏史を理解する鍵である。

シアノバクテリアは細菌のなかでも多様で複雑な形態を持ち、その形態的特徴は現生種の分類における主要な基準となっている。特に糸状性シアノバクテリアでは、環境条件に応じて細胞が 4 種類に分化し、また分枝構造を持つものがあるなど、原核生物でありながら多細胞生物的な特徴を持つ。このような形態的特性は化石種の同定の大きな手掛かりとなることから、シアノバクテリアは原生代の微生物化石のなかでも特によく研究されてきた。しかし、地質学的な証拠、特にプレカンブリア代の試料は質・量的に限られ、シアノバクテリアの初期進化過程や古環境変動との関係を復元することは困難である。

そこで力を発揮するのが、現生種の遺伝情報に基づく分子生物学的アプローチである。シアノバクテリアは「生きた化石」であり、その遺伝子には過去数十億年にわたって環境・生態系の変動を生き延びてきた、生物としての歴史-変異と淘汰の結果-が刻まれている。したがって、遺伝子情報を読み解くことによって、逆にその進化過程や古環境への適応に関する手掛かりが得られることが期待される。さらにシアノバクテリアでは、1996 年に単細胞性の *Synechocystis* sp. PCC6803 株で全ゲノムが解読されてから、現在までに 80 を超える多様な種/株でゲノム配列が決定され、系統進化の議論もポスト・ゲノム時代に入っている。

発表者らはこれまでに、糸状性シアノバクテリアのモデル生物 *Nostoc punctiforme* ATCC29133 株を材料にトランスポゾン挿入による変異体を作成・スクリーニングし、分化細胞の一つであるホルモゴニアの形成変異体を単離することに成功した。ホルモゴニアは物理環境の変化や共生宿主（植物）の存在によって誘導される、一時的な運動性を持つ分化細胞であり、分散や植物との共生に重要な役割を担うものである。このようにホルモゴニア形成は発生・生態・進化的に興味深い現象であるが、その形成の分子機構や進化的背景の詳細は不明であった。得られた変異体の原因遺伝子を調べたところ、その一つは Ser/Thr 型タンパク質リン酸化酵素（プロテインキナーゼ）をコードし、情報伝達に関与することが示唆された。これは複数の機能部位からなるマルチドメイン型の酵素であることから、そのドメイン構造・構成を手掛かりに、シアノバクテリアのゲノム情報を用いてその系統的分布を明らかにし、分子系統情報と統合することで進化過程を推察した。

近年、シーケンシング技術の発達により、遺伝子情報はより高速・大量・安価に得られるようになり、ゲノム解析も多様な生物種を対象とすることが可能となった。今後は、こうしたゲノムレベルの機能・系統解析の一方で、分子遺伝学的手法による遺伝子機能の検証、生理・生態学的な表現型解析、モデリング等の理論的背景の構築、そして古環境や化石情報との統合、等を組み合わせた複合的・学際的なアプローチを進めることによって、生物進化の全体像がすこしずつ明らかになっていくだろう。

キーワード: 多細胞性, 進化, シアノバクテリア, ゲノム, 分子生物, 化石

Keywords: multicellularity, evolution, cyanobacteria, genome, molecular biology, fossil

## 水界の硫黄循環システムと微生物群集 Microbial sulfur cycle in aquatic ecosystems

福井 学<sup>1\*</sup>, 小島久弥<sup>1</sup>

FUKUI, Manabu<sup>1\*</sup>, Hisaya Kojima<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 北海道大学 低温科学研究所

<sup>1</sup>Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University

Sulfur is essential for all organisms as major components of cell materials. There are also a variety of abundant inorganic sulfur compounds in the biosphere, and prokaryotic respiratory processes depending on these chemical species are major driving force of sulfur cycle in ecosystems. In the sulfur cycle, reductive processes are mainly mediated by sulfate-reducing prokaryotes (SRP). SRP are capable of dissimilatory sulfate reduction coupled with oxidation of organic matter, and this reaction is thought to contribute largely to anaerobic mineralization in aquatic ecosystems. Shen et al. (2001) demonstrated that microbial sulfate reduction had evolved by 3.47 Gyr ago, and suggested the earlier emergence of biological sulfur oxidation. Activity of SRP results in generation of sulfide, which supports growth of sulfur-oxidizing prokaryotes (SOP). Both SRP and SOP are polyphyletic, and their diversities in natural environments are drastically affected by temperature. We will discuss the relationship between microbial sulfur cycle and temperature.

キーワード: 硫酸還元, 硫黄酸化, 微生物, ゲノム, 水界, 機能遺伝子

Keywords: sulfate reduction, sulfur oxidation, microorganism, genome, aquatic environment, functional gene

放散虫と有孔虫が互いに姉妹群であるとするレタリア仮説に基づくアクチン，チューブリン，ペプチド伸長因子の複雑な進化シナリオ  
Complex evolutionary histories of actin, tubulins and elongation factor protein in Rhizaria based on Retaria hypothesis

石谷 佳之<sup>1\*</sup>, 石川奏太<sup>2</sup>, 神川龍馬<sup>2</sup>, 矢吹彬憲<sup>1</sup>, 土屋 正史<sup>1</sup>, 稲垣祐司<sup>2</sup>, 瀧下清貴<sup>1</sup>

ISHITANI, Yoshiyuki<sup>1\*</sup>, Sohta A. Ishikawa<sup>2</sup>, Ryoma Kamikawa<sup>2</sup>, Akinori Yabuki<sup>1</sup>, TSUCHIYA, Masashi<sup>1</sup>, Yuji Inagaki<sup>2</sup>, Kiyotaka Takishita<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 独立行政法人海洋研究開発機構, <sup>2</sup> 筑波大学大学院生命環境科学研究科

<sup>1</sup>Institute of Biogeosciences, JAMSTEC, <sup>2</sup>Graduate school of life and environmental sciences, University of Tsukuba

放散虫と有孔虫は骨格を有する遠洋性プランクトンであり、古い化石記録を持つことから古生物学的に有用な生物である。近年、分子系統解析の結果から、放散虫と有孔虫は互いに姉妹関係にあり（レタリア仮説）、これら2つの原生生物系統群はエンドミクサやフィロサと共にリザリアという真核生物のスーパーグループに属することが支持されている。

細胞骨格を構成するアクチンやチューブリン、そして翻訳 (mRNA の情報からタンパク質合成する反応) の際に機能するペプチド伸長因子等は真核生物に必須のタンパク質であり、またその系統は生物自体の系統と一致する場合が多い。しかし、放散虫の遺伝子情報が少ないために、放散虫を含めリザリア内で、該当のタンパク質遺伝子がどのような進化を経てきたかは謎のままであった。本研究では多様な放散虫からアクチン ( および ) チューブリン、ペプチド伸長因子をコードする遺伝子を取得し、それらの進化プロセスを分子系統解析により推測した。

その結果、放散虫のアクチン、チューブリン、および チューブリンには2つのパラログが存在することが示された。アクチンにおいては放散虫と有孔虫の共通祖先で遺伝子の重複が起きたこと、チューブリンのパラログの1つは放散虫の共通祖先で他生物からの水平伝搬によって獲得されたこと、チューブリンのパラログの1つは極めて divergent であり、放散虫と有孔虫の共通の祖先で既に獲得されたことが示唆された。また、放散虫は、elongation factor-1 と elongation factor like (EFL) という2つのペプチド伸長因子パラログのうち、EFL を有しており、その遺伝子は有孔虫やエンドミクサの一種であるグロミアとの共通祖先からの垂直的遺伝によって獲得されたことが示唆された。以上のことから、これらの遺伝子は、リザリアの系統内において複雑な進化的道筋を辿ってきたと考えられる。

キーワード: ポリシスティナ, アカンサリア, アクチン, チューブリン, ペプチド伸長因子様タンパク質, 分子系統解析

Keywords: Polycystina, Acantharia, actin, tubulin, elongation factor-like protein, phylogenetic analysis

## 有孔虫細胞質構造とタンパク質コード遺伝子の関係解明への挑戦 Can molecular phylogeny of protein-coding genes provide new insights for foraminiferal morphology?

氏家 由利香<sup>1\*</sup>

Ujiie, Yurika<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 高知大学海洋コア総合研究センター

<sup>1</sup>CMCR, Kochi University

Multi-gene phylogenetic studies have revealed one of big eukaryotic group, Rhizaria include Foraminifera, Radiolaria, Filosa, and Endomyxa. Foraminifera is known diverse group having two distinct life-styles: planktic and benthic. Recently, molecular phylogeny of foraminifera showed the polyphyletic origins of planktic foraminifera that they were diverged from benthic foraminiferal lineages at least twice (Ujiie et al., 2008). Moreover, high genetic diversity at intra-species level has been inferred based on the SSU rDNA and ITS rDNA sequences (e.g., Darling and Wade, 2008). However, these studies have not been challenged to understand the evolutionary processes according with cell-structures.

This present study shows the foraminiferal phylogenies of two protein-coding genes (actin 2 and b-tubulin 2), which are corresponded to actin granules and microtubules in cell structure. Especially foraminiferal b-tubulin 2 forms a helical filament, which is involved in rapid microtubule assembly/disassembly system resulting in the quick movement of pseudopodia (Habura et al. 2005). Both phylogenies of actin 2 and b-tubulin 2 show two robust clades according with tube- and fan-shaped pseudopodia which are observed in attaching new chamber during their growth processes. Rotaliida including planktic foraminifera have fan-shaped pseudopodia, whereas some of benthic groups have tube-shape one. This preliminary data suggests that the phylogenetic analyses of the protein-coding genes potentially implicate the mechanisms of morphological traits in shell-bearing protoists. Future assessments are required increasing taxonomic sampling of benthic tube-shaped types.

### (References)

Darling, K.F., Wade, C.M., 2008. The genetic diversity of planktic foraminifera and the global distribution of ribosomal RNS genotypes. *Mar. Micropaleontol.* 67, 216-238.

Habura, A., Wegener, L., Travis, J.L., Bowser, S., 2005. Structural and functional implications of an unusual foraminiferal b-tubulin. *Mol. Biol. Evol.*, 22, 2000-2009.

Ujiie, Y., Kimoto, K., Pawlowski, J., 2008. Molecular evidence for an independent origin of modern triserial planktonic foraminifera from benthic ancestors. *Mar. Micropaleontol.* 69, 334-340.

Keywords: Foraminifera, protein-coding gene, cell structure

## 真核生物の種に特異的なアミノ酸配列 Amino acid sequence specifying eukaryotic species

中村 郁郎<sup>1\*</sup>, 真壁 壮<sup>1</sup>, 高橋 弘子<sup>2</sup>, 森泉 俊幸<sup>2</sup>

NAKAMURA, Ikuo<sup>1\*</sup>, MAKABE So<sup>1</sup>, TAKAHASHO Hiroko<sup>2</sup>, MORIIZUMI Toshiyuki<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 千葉大学園芸学研究科, <sup>2</sup>(株)ベックス

<sup>1</sup>Grad. Sch. Hort., Chiba U., <sup>2</sup>Bex Co.

真核生物は、約 20 億年前に誕生し、原生物、菌類、植物、動物へと多様な進化を遂げてきた。これらの生物の進化を解明するためには、種の識別が必要である。これまで、生物の種の識別は、リンネが確立した形態に基づいた 2 名法に基づいて行われてきた。しかし、DNA 塩基配列解析技術の急速な発展および形態分類に精通した専門家の減少などを背景として、DNA 塩基配列に基づいた生物種の分類法に関する研究が盛んになっている。カナダの Hebert 博士のグループは、ミトコンドリアのシトクローム c オキシダーゼ (COI) 遺伝子の塩基配列を用いて、生物の種を識別するための DNA barcode とする DNA barcoding を提唱した (Hebert et al. 2003)。カナダは、国策として DNA barcoding プロジェクトを推進している。また、国際コンソーシアムも組織されており、現在までに数十万種の COI 遺伝子のデータが収集されている。また、次世代のギガシーケンサーの登場により、さまざまな生物において全ゲノムの塩基配列の解析が進行している。全ゲノム配列情報を解析し比較できれば、種を決めている分子機構を解明できると期待される。しかし、現在までに真核生物の多数の種の全ゲノム配列情報が解明されているが、種を識別するための普遍的な手法については、まだ手掛かりが得られていない。

分子生物学的手法を用いた生物種の分類法が一般社会に受け入れられるようにするためには、簡単に種を同定できることが必要である。全ゲノムあるいは多数の遺伝子の塩基配列を解析しなければ、種を識別できないシステムを構築しても実用的ではないと思われる。このために、生物種をできるだけ短い文字列で記載することも重要である。専門家でなければ理解できない複雑な文字列を用いて記載しても一般には受け入れられないであろう。この 2 つの点において、DNA barcoding は有用な方法であると考えられる。葉緑体およびミトコンドリア DNA は、種を識別するために有効なマーカーである。しかし、種の分化には直接関係ないと考えられる。また、真核生物の 45S リボソーム RNA (rRNA) 遺伝子の ITS 配列は、種に特異的な変異を示すけれども核内に数百コピーあるので正確な配列の解析が難しいという課題がある。そこで、私達は、細胞核に存在する 1 個のシングルコピー遺伝子の分子配列を用いて、種を識別するシステムを構築することが必要であると考えている。

中村 (2010) は、真核生物の核ゲノムにある 1 個のシングルコピー *PolA1* 遺伝子の配列情報を用いて真核生物の種を識別できることを報告した。*PolA1* 遺伝子は、45S rRNA の合成に関与する RNA ポリメラーゼ I の最大サブユニット (POLA1) をコードしている。この POLA1 タンパク質の C 末端領域に真核生物の種の識別に有効な Protein tag (Ptag) 配列が含まれている。Ptag 配列は、平均 370 アミノ酸で、真核生物で高度に保存されている PBL (20 aa) および PBR (16 aa) に挟まれている。原生物、菌類、植物、動物の各界よりそれぞれ 5 種の Ptag アミノ酸配列と COI 遺伝子の塩基配列の同一性を総当たりで比較したところ、その両端には、COI 遺伝子の塩基配列は、原生物、菌類、動物においては 65 % 程度の同一性を示し相互に分化しているが、植物においては 90 % 以上の同一性を示すために種の分類には有効ではないと思われる (Kress et al. 2005)。一方、Ptag 配列は、すべての生物の種間で 40 % 程度の低い同一性を示し (図 1)、種の分類に有効であると思われる。現在までに約 450 種の真核生物の Ptag 配列が収集されているが、全真核生物の系統樹において、ヒトとチンパンジーの違いが分かる程の高感度である。一方、感度が高すぎるので、高次の分類体系を解明するためには、体系的に多数の生物種を解析してデータベースを構築する必要があると考えられる。

DNA barcoding が著しく進展しているなかで、新たな分子分類方法を提案することは無駄と考えられるかもしれない。しかし、COI 遺伝子はミトコンドリアの遺伝子であるのに対して、Ptag 配列は核遺伝子にコードされているので、相互に補完するデータベースを構築できると考えられる。そして、両者の解析結果に矛盾が認められた場合は、遠縁交雑などの新たな種分化を見いだす契機になると考えられる。また、リボソーム RNA の合成において重要な機能を持つ POLA1 サブユニットの内部に超可変 Ptag 配列が含まれている理由は興味深く、Ptag 配列はアミノ酸配列であるので、DNA 配列情報と形態形成とを繋ぐ研究などに発展できる可能性があると考えられる。

キーワード: 真核生物, 進化, *PolA1* gene, RNA ポリメラーゼ I

Keywords: Eukaryote, evolution, *PolA1* gene, RNA polymerase I

BPT28-07

会場:102A

時間:5月24日 15:30-15:45

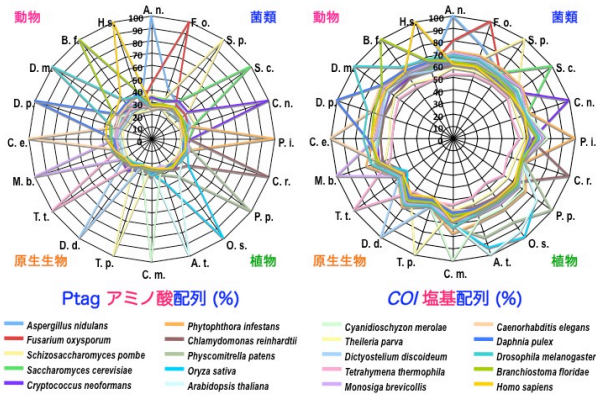


図 真核生物におけるPtagアミノ酸配列およびCOI塩基配列の種間変異 (%)



## 白亜紀植物化石の抵抗性高分子を構成する分子ユニット組成からの化学分類 Chemotaxonomy of Cretaceous plant fossils from compositions of molecular units in resistant macromolecule

沢田 健<sup>1\*</sup>, 池田 慧<sup>1</sup>, 中村 英人<sup>1</sup>, 高橋正道<sup>2</sup>

SAWADA, Ken<sup>1\*</sup>, IKEDA, Kei<sup>1</sup>, NAKAMURA, Hideto<sup>1</sup>, Masamichi Takahashi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 北海道大学大学院理学研究院, <sup>2</sup> 新潟大学大学院自然科学研究科

<sup>1</sup> Faculty of Science, Hokkaido University, <sup>2</sup> Faculty of Science, Niigata University

Resistant macromolecules such as cutin and suberin polymers constituting living plants are known to be stable and much resistant to microbial degradation and diagenesis. Furthermore, the composition of molecular unit (monomer) constituting resistant macromolecules are various according to taxonomy. If variability of these compositions preserved in plant fossils that had undergone diagenetic alteration, these compositions can be useful as chemotaxonomic indicator. In the present study, we analyzed plant carbonized fossils collected from three Cretaceous coal layers to investigate variability of composition of molecular units in their resistant macromolecules, and to examine applicability of these compositions for chemotaxonomic study.

We analyzed plant fossils of angiosperms and gymnosperms collected from three locations; 1) Hirono, Fukushima Prefecture (Ashizawa Formation, Futaba Group), 2) Mukawa, Hokkaido (Hakobuchi Formation, Yezo Group), and 3) Mikasa, Hokkaido (Mikasa Formation, Yezo Group), Japan. For example, we used fruit fossils of *Hironoia fusiformis* and *Archaeofagacea futabensis*, flower fossils of *Esgueiria futabensis*, leaf fossils of *Juniperus* and *Platanus*, a stem fossil of *Ephedra*, as well as some fossils of fruits, seeds and woods that were taxonomic uncertain. Powder samples of above fossils were extracted with methanol and dichloromethane, and were subsequently refluxed under high temperature to remove free compounds completely. Finally, the residues were saponified by KOH/methanol to obtain ester-bound compounds. GC-MS analysis was performed for identification and quantification of compounds.

As ester-bound molecular units in resistant macromolecule of all fossil samples, C<sub>10</sub>-C<sub>28</sub> n-alkanoic acids and C<sub>10</sub>-C<sub>28</sub> n-alkanols were mainly detected. It was found that distributions of carbon number of n-alkanoic acids were clearly different between woody and non-woody fossils in the Futaba samples. In the non-woody fossils (e. g. flowers, fruits and leaves), which were organs that have cuticles, C<sub>18</sub> /C<sub>16</sub> ratios of n-alkanoic acids were lower. In the Hakobuchi plant fossils, we could obtain such difference for the C<sub>18</sub> /C<sub>16</sub> alkanolic acid ratios between woody and non-woody fossils. On the other hands, the C<sub>18</sub> /C<sub>16</sub> ratios of n-alkanoic acids are higher in wood fossils. In addition, C<sub>14</sub> /C<sub>16</sub> ratios of n-alkanoic acids in non-woody fossils tended to be higher than those in woody fossils. These results imply that the characteristics of the compositions in the n-alkanoic acid units might be attributed to monomer compositions of cutin and suberin. From scatter diagram for relationships between C<sub>18</sub> /C<sub>16</sub> and C<sub>14</sub> /C<sub>16</sub> ratios as independent variables, a linear function which can distinguish non-woody fossils from wood fossils was obtained. From scatter diagram for the relationship between C<sub>20</sub> /C<sub>18</sub> and C<sub>20</sub> /C<sub>16</sub> ratios of n-alkanols as independent variables, wood fossils could be roughly separated from flower, fruit and leaf fossils. The higher ratios of C<sub>20</sub> n-alkanol in woody fossils suggested high contribution to suberin-derived monomer in the fossils. From these results, we propose that the alkanolic acid and alkanol units from polyesters of resistant macromolecule can be powerful chemotaxonomic indicators for ancient plant fossil, although further examination is necessary.

キーワード: 白亜紀植物化石, 抵抗性高分子, 化学分類, スベリン, クチン, 化石ポリエステル

Keywords: Cretaceous plant fossil, resistant macromolecule, chemotaxonomy, suberin, cutin, fossil polyester

## GenBank データに基づく、琉球の 1.55Ma 同時島嶼化による異所的種分化 Allopatric speciation due to 1.55 Ma isolation of the islands of Ryukyu, Japan, based on geologic and GenBank data

遅沢 壮一<sup>1\*</sup>, John Wakabayashi<sup>2</sup>

OSOZAWA, Soichi<sup>1\*</sup>, John Wakabayashi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 東北大学理学研究科地学専攻, <sup>2</sup>Department of Earth and Environmental Sciences, California State University, Fresno

<sup>1</sup>Department of Earth Sciences, Graduate School of Science, Tohoku University, <sup>2</sup>Department of Earth and Environmental Sciences, California State University, Fresno

本研究の動機は沖縄の第四系から、オキナワウラジロガシなど、現生種と同じ種子化石を発見したことである(名護・やんばるの地質; 名護博物館発行、地域地質で発表する)。近い将来には、このような化石についても解析することを願っている。本題に戻ると、古気候・古海洋変動で発表するように、また International Geology Review、2011 にあるように、琉球は、奄美-沖縄ユニットと八重山ユニットの2つの島嶼群として、日本、台湾とともに、中国大陸から、1.55Ma に、突然分断された。島としての孤立化は琉球の固有種を生じたはずである。この仮説を検証するため、現生固有種を自ら DNA 解析する前に、まず既存の GenBank データを用いて、カラスアゲハなどについて、線形化した樹形図を作成し、一斉分岐の位置に 1.55Ma の分岐年代を挿入した。多くの種は、ほぼこの時期に種分化しており、異所的種分化が初めて証明されたことになる。また、分子時計を正しくリセットできた。対馬海峡と台湾海峡の分断は不十分であった。また、北と南中国には何らかの地理的障害があることが予想される。今後、南北中国の相違の要因を、現地調査を含めて地質学的に探るとともに、試料採集し、これらの DNA 解析を行うことにしている。

キーワード: 琉球島嶼, 1.55 Ma 同時島嶼化, 線形化樹形図, 固有種, 異所的種分化の証明, 正確な分子時計の構築

Keywords: Ryukyu islands, 1.55 Ma synchronous isolation, lineaged phylogenetic tree, endemic species, vicariant speciation, precisely estimated molecular evolution rate

## 二枚貝のボディープランの進化 Evolution of bivalve bodyplan

和田 洋<sup>1\*</sup>

WADA, Hiroshi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 筑波大・生命環境

<sup>1</sup>Univ. of Tsukuba

By evolving bilaterally separate shell plates, bivalves have acquired a unique body plan in which their soft tissues are completely protected by hard shell plates. Here we asked how the unique shell morphology of bivalves was brought about by modification of their development. First, we confirmed the old descriptions on the cellular origin of shell field precursors claiming that bilaterally cleaved shell field precursor cells develop into bilaterally separated shell fields. Thus, modification of the early spiral cleavage pattern is tightly linked with the evolution of bilaterally separate shell plates. Furthermore, we found that the specific inhibition of *dpp* during bivalve development results in impaired development of the ligament that separates the shell plates. We conclude that the unique shell plate morphology of bivalves is a result of two distinct modifications during early embryogenesis, namely, modification of the early spiral cleavage pattern and neofunctionalisation of *dpp* for ligament development.

キーワード: 二枚貝, 発生, 進化

Keywords: bivalve, development, evolution

## 動物ゲノムデータのリンクドデータ化の試みについて An attempt to create the animal genomic data as a Linked Data

川島 武士<sup>1\*</sup>, 小柳亮<sup>1</sup>, 行者路<sup>1</sup>  
KAWASHIMA, TAKESHI<sup>1\*</sup>, KOYANAGI, Ryo<sup>1</sup>, GYOJYA, Fuki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 沖縄科学技術大学院大学

<sup>1</sup>Okinawa Institute of Science and Technology

DNA 配列解読機の性能の向上により、生物のゲノムの配列解読速度は、昨今になり急激すすんでいる。これは、ゲノム DNA のサイズが大きな動物においても例外ではない。ゲノム解読にともなって予測される遺伝子の塩基配列、タンパク質のアミノ酸配列、さらに遺伝子発現解析データとの対応、遺伝学的各種情報との対応関係を整備する事は、ゲノム配列解読後のデータの解析において、必須の作業であるが、そのようなデータの整備作業は、配列データの解読スピードにおいついていないというのが現状である。

とくに動物ゲノムについては、ほんの数年前までは、比較的大型の研究プロジェクトという位置づけであったが、現在では配列解読自体はかなり簡単にできるようになってきたため、一つのゲノムデータについて少人数の研究者のみが解析する事が多く、公開された段階での予測遺伝子モデルの精度の低下が懸念される。

動物の遺伝子モデルの予測は、他の動物の遺伝子モデルとの比較から作成される事が多く、この場合、精度の低い遺伝子予測が次の予測においてさらに精度の低い遺伝子予測を誘発する、いわゆる「Junk Makes Junk」がしばしば見いだされるのが現状である。

複数の動物間のゲノム比較は、過去の動物のゲノムがどのようなものであったか、つまり現生動物の進化について重要な手がかりをあたえてくれるが、そもそもの遺伝子予測やその機能予測に大きな間違いがあることは、解析結果に致命的なエラーをもたらしかねない。

このようなことをできるだけ排除するために、我々は進化的な視点から見てできるだけ多様な動物のゲノム配列に注目し、遺伝子予測の修正や、精度の高いアノテーションをつけることを行っている。またそれらのデータ間の比較解析を簡便にするために、Linked Data として利用できる形で公開する試みを行っているので、紹介する。

キーワード: 動物, ゲノム, アノテーション, オントロジー, リンクドデータ, セマンティックウェブ  
Keywords: animals, genome, annotation, ontology, linked data, semantic web