

シンビオジェネシスにおける共生者ゲノムの縮小進化に関する研究

●石田 健一郎

金沢大学大学院自然科学研究科

〈研究の目的と進め方〉

一次共生による葉緑体の誕生と、複数の二次共生による他生物群への葉緑体の水平伝搬は、光合成真核生物の誕生、進化、多様化における根源的な役割を果たしたといえる。従って、光合成真核生物の進化と多様性を理解する上で、共生による葉緑体獲得のメカニズムの解明は特に重要である。共生者がオルガネラとして宿主細胞へ統合される過程「シンビオジェネシス(symbiogenesis)」において、共生者のゲノムが縮小し宿主核のコントロール下に置かれるプロセスは最も重要なステップの一つである。本研究では、二次共生由来で、葉緑体の祖先真核藻の痕跡核であるヌクレオモルフ(Nm)を有するクロララクニオン藻系統群をモデルとして、群内のNmゲノムサイズの多様性の全貌を明らかにし、分子系統学的解析およびゲノム構造の比較解析から、クロララクニオン藻全体の進化の中でヌクレオモルフゲノムがどのように縮小したのか、を明かにすることを目的とした。

〈研究開始時の研究計画〉

利用可能な全てのクロララクニオン藻の種および未同定培養株についてパルスフィールドゲル電気泳動システムを用いてヌクレオモルフゲノムを核ゲノムから分離し、クロララクニオン藻の一種*Bigelowiella natans*のヌクレオモルフゲノムプロジェクトより得られた配列(P. J. Keeling博士より配列を提供)をプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行い、各遺伝子がどの染色体あるいはゲノムにコードされているかを特定する。また、ゲノム構造に多様性があると考えられる領域についてクロララクニオン藻各種よりその領域をPCR法により増幅し、配列を決定、比較し、どのような構造の違いがあるのかを確認する。

クロララクニオン藻の種および未同定株の中で18S rRNA遺伝子の配列が報告されていないもの全てについて、同遺伝子配列の決定を行い、現在知られている全てのクロララクニオン藻を含む分子系統樹を作成する。得られた分子系統樹とヌクレオモルフゲノムのサイズおよびゲノム構造データを対応させ、クロララクニオン藻の進化の過程でヌクレオモルフゲノムがどのように縮小したのか、その過程を明らかにする(図1)。

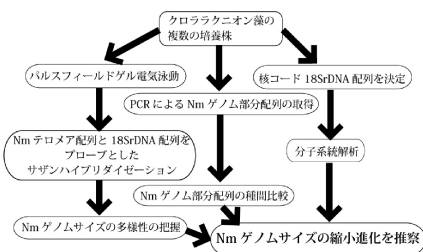


図1、研究計画の流れ

〈研究期間の成果〉

クロララクニオン藻の主要系統群を代表する5株：BC52、CCMP2058 (*Lotharella amoebiformis*)、CCMP2057 (*Gymnochlorella stellata*)、P333、P314を含む合計7株について、パルスフィールド電気泳動法を用い

Nm染色体を分離し、Nm染色体を検出可能な18SrDNAおよびテロメア配列をプローブにサザンハイブリダイゼーションを行ない、Nm染色体の数とサイズを推定した(図2)。これにより、クロララクニオン藻の主要系統群全てについてNmゲノムサイズを調査し、その多様性の全貌をはじめて明らかにした。また核コード18SrDNAを用いて以前よりもタクソンサンプリングを充実させた詳細な分子系統解析を行なった。これをもとにクロララクニオン藻におけるNmゲノムサイズの進化を考えると、1) Nmゲノムは、本藻群の多様化以前に現存のサイズと同程度まで縮小し、その後非コード領域等でサイズの増減がおこった、2) Nmゲノムは、常に減少傾向にあり、全ての系統群で独立にサイズの減少がおこった、のどちらかである可能性が示唆された。Nmゲノム構造の比較解析については、ゲノム配列の進化速度が非常に速いため、PCR法では特定の領域を増幅することが困難であったため、現在、各株のNm染色体DNAを回収し、ゲノムライブラリーの作成を進めている。

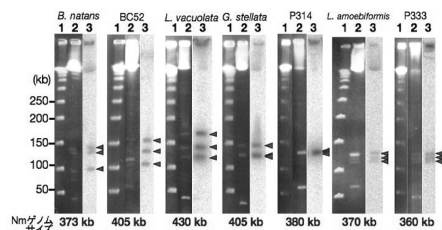


図2、パルスフィールド電気泳動で分離したヌクレオモルフ染色体

本研究で用いていた複数の

のクロララクニオン藻未同定培養株は、新種であることが判明したため、そのうちの一つ(CCMP240)について論文にまとめ、*Lotharella vacuolata* sp. nov.として新種記載を行なった(1)。また、クロララクニオン藻以外で唯一Nmを有するクリプト藻の数種について、Nmゲノム由来のアクチン遺伝子の多様性と進化を明らかにした(2)。

〈国内外での成果の位置づけ〉

- 1) 国際進化原生生物学会で本研究の成果を発表したところ、カナダ・ダルハウジー大学のJohn Archibalt博士よりNmゲノムに関する共同研究の申し入れがあり、現在打ち合わせ中である。
- 2) 本研究がきっかけとなり発見されたクロララクニオン藻の新種を第8回国際藻類学会でポスター発表し、George F. Papenfuss賞(ベストポスター賞)を受賞した。
- 3) 研究代表者は、本研究を含めた二次共生とクロララクニオン藻に関する一連の研究により、日本植物学会奨励賞(2005年度)を受賞した。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

当初、Nmゲノムサイズの縮小のメカニズムをNmゲノム部分配列の比較により考察する予定であったが、PCRでのゲノム断片の増幅が予想外に困難であった。これは、Nmゲノムの進化速度が非常に早いため、複数の分類群にわたって増幅可能なプライマー設計ができなかったことによると考えている。

〈今後の課題〉

複数種についてNmゲノム全配列を決定し、比較ゲノム科学的アプローチにより、Nmゲノムサイズの縮小進化機構を解明する必要があると考えている。そこから、共生による新しい細胞小器官の獲得のメカニズムの解明へとつなげていくべきである。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) Ota S., K. Ueda and K. Ishida 2005. *Lotharella vacuolata* sp. nov., a new species of chlorarachniophyte algae, and time-lapse video observations on its unique post-cell division behavior. *Phycol. Res.* 53: 275-286
- 2) Tanifuji G., M. Erata, K. Ishida, N. Onodera and Y. Hara 2006. Diversity of secondary endosymbiont-derived actin-coding genes in cryptomonads and their evolutionary implications. *J. Plant Res.* (in press)