



藻類学ワークショップ I 原生生物学会出張ワークショップ・原生生物学的藻類学研究

ヌクレオモルフ・ゲノミクス - 二次細胞内共生に伴うゲノム再編 - 谷藤吾朗

細胞内共生によって宿主に取り込まれた共生体のゲノムは、遺伝子の宿主核ゲノムへの移動 (EGT: endosymbiotic gene transfer) や不要遺伝子の消失などのゲノム再編によりゲノムサイズが縮小する。このことは葉緑体やミトコンドリアのゲノムサイズが自由生活性のバクテリアと比較して極端に小さいことから明らかである。原核生物-真核生物間の細胞内共生の結果として成立しているのが葉緑体やミトコンドリアであるが、真核生物-真核生物間の細胞内共生 (二次共生) に伴う遺伝子再編の様子を明らかにするためのモデルとされてきたのがヌクレオモルフ (以下; Nm) をもつ生物である。Nm は葉緑体の起源となった真核の二次共生体由来する残存核であり、これまでにクリプト藻類とクロララクニオン藻類でのみ報告されている。他の二次共生生物は共生体由来の核を完全に消失しているため、Nm にゲノムが残存していることが明らかになって以来、主に比較ゲノム学的アプローチから生物間の遺伝的統合について研究が行われてきた。本稿では、これまでのヌクレオモルフに関するゲノム研究を整理し、特にそもそもなぜ「クリプト藻類とクロララクニオン藻類だけが共生体核を残しているのか」という問題を議論する。

クリプト藻類とクロララクニオン藻類のヌクレオモルフゲノムは収斂進化している

クリプト藻類は紅藻類を、クロララクニオン藻類は緑藻類を葉緑体の起源とし、また宿主となった生物の系統もそれぞれ全く異なる (e.g., Tanifuji & Archibald 2014)。それにもかかわらず、両者の Nm ゲノムは驚くほど似た特徴をもっている (e.g., Tanifuji & Archibald 2014)。例えば、これまでに解析された全ての Nm が 3 本の線状染色体をもっていることや、線状染色体のテロメア配列の内側 (sub-telomeric 領域) に共通してリボソーム RNA がコードされていることが挙げられる。さらにゲノムサイズは全て 1 Mb 以下であり、概ねゲノムサイズも似ているといえる。また、一般的な自由生活性の生物の核ゲノムに比べ、遺伝子間領域や遺伝子自体の配列が短いなどコンパクトなゲノム構造をしている。ゲノム構造の共通点が何に起因するのか、現在まで十分な説明は存在しないが、両 Nm で共通の進化的圧力がかかったことは明白である。一方で、両系統群の Nm ゲノム構造上の違いはイントロンの数である。クリプト藻類の Nm ゲノムでは 0-30 のイントロンが見つまっているが、クロララクニオン藻類で

は 800-1000 もの非常に短い (20nt 程度) イントロンが含まれている (e.g., Suzuki *et al.* 2015)。クロララクニオン藻類ではイントロンが緑藻共生体から受け継がれたものであることが示唆されている一方で (Roy & Penny 2007)、クリプト藻類では進化の過程でイントロンが消失したのか、起源紅藻がはじめからイントロンが少なかったのか分かっていない。そのため、イントロン数の違いが異なる進化の結果なのか、もともとの共生体ゲノムの違いなのか明らかでない。

Nm ゲノムに含まれるタンパク質遺伝子は 500 個以下と少なく、それらは大きく 3 つのグループに分けることが出来る (e.g., Tanifuji & Archibald 2014)。ひとつはタンパク質発現に必要なハウスキーピング遺伝子群であり、一般に全ての真核生物が共通してもつ遺伝子群である。Nm に含まれる遺伝子のうち約半数はハウスキーピング遺伝子である。機能既知の遺伝子のほとんどは (90% 程度) はこのグループに属し、クリプト藻類、クロララクニオン藻類のそれぞれの系統内でほとんど同じ遺伝子セット (90% 程度) が共有されている。第 2 のグループは葉緑体関連遺伝子群であり、Nm ゲノムに含まれる全タンパク質遺伝子の約 5% 程度 (クリプト藻類で 18-31 個、クロララクニオン藻類で 17 個) と少ない。一般に光合成真核生物の核ゲノムには葉緑体に供給されるタンパク質が数百から千個程度コードされているが、クリプト藻類とクロララクニオン藻類でも Nm 及び葉緑体ゲノムに含まれていない多くの葉緑体タンパク質は核から供給されている (Curtis *et al.* 2012)。そして最後のグループは機能未知のタンパク質群である。これらのほとんどは他生物を含む全ての既知タンパク質との相同性がなく、クリプト藻類、クロララクニオン藻類のそれぞれの系統内で比較しても共有するものが少なく保存性が低い。にもかかわらず Nm ゲノムに含まれるタンパク質遺伝子全体の 30% 以上を占めている。なぜこのような保存性の低いタンパク質がゲノム縮小の進化圧にさらされているはずの Nm ゲノムに豊富に残されているのか謎である。いずれにせよ、クリプト藻類でもクロララクニオン藻類でも大まかな遺伝子群の分類、割合は一致しており、両系統群の Nm ゲノムが収斂的に進化してきた結果、同じような遺伝子構成になったと考えられる。

収斂的にゲノムが縮小してきた両系統群の Nm だが、クロララクニオン藻類の方がクリプト藻類に比べゲノム縮小がより進んだ状態かもしれない。クリプト藻類とクロララクニオン藻類のハウスキーピング遺伝子は半数以上が共通す

る (Suzuki *et al.* 2015)。おそらくイントロンが豊富であるという理由でクロララクニオン藻類の Nm ゲノムに多く含まれているスプライシング関連遺伝子を除くと、クロララクニオン藻類のハウスキーピング遺伝子の 80% 程度がクリプト藻類の相同遺伝子に含まれる (e.g., Tanifuji *et al.* 2014)。すなわち、クロララクニオン藻類のハウスキーピング遺伝子の多くがクリプト藻類のサブセットにみえる。また、これまで Nm ゲノムが解読されたクリプト藻類では *Chroomonas mesostigmatica* Butcher ex D. R. A. Hill だけがプロテアソーム関連因子を完全に欠いているが (Moore *et al.* 2012)、クロララクニオン藻類では共通して欠いている (Gilson *et al.* 2006, Suzuki *et al.* 2015, Tanifuji *et al.* 2014)。クロララクニオン藻類がより Nm ゲノムの縮小が進んだ状態かもしれないという示唆は、クロララクニオン藻類の Nm ゲノムの方がクリプト藻類よりも、祖先近縁種のゲノムと比較した時に DNA 塩基配列の変異がより蓄積しているという事実とも合致する (Patron *et al.* 2006)。

なぜヌクレオモルフが残存しているのか？

葉緑体とミトコンドリアに未だにゲノムが維持されるのは、redox potential regulation 仮説で説明される (Allen 2003)。すなわち、葉緑体もミトコンドリアもエネルギー産生オルガネラであり、オルガネラゲノム中の一部遺伝子発現がオルガネラ内の酸化還元電位によって制御されているため、ゲノムの完全消失は遺伝子発現機構の破綻を意味する。よって一部の例外を除きゲノムを完全に失うことは出来ない (Allen 2003)。しかしながら、この仮説は核を起源とする Nm には当てはまらない。ではなぜクリプト藻類とクロララクニオン藻類は共生体核を残しているのだろうか？ 前述のように、Nm に含まれる機能既知の遺伝子はほとんどがハウスキーピング遺伝子であるが、相同遺伝子は宿主核にもあるのでこれらが Nm が残存している理由とは考えにくい。宿主核ゲノムになく、Nm ゲノムにだけある必須遺伝子として想定されるのは、葉緑体関連遺伝子である。Gilson ら (2006) は、Nm ゲノムに保存されている多くのハウスキーピング遺伝子はわずかに含まれている葉緑体関連遺伝子の発現に必要なものであって、現在 Nm ゲノムに残る葉緑体関連遺伝子がやがて宿主核ゲノムに移動してしまえば Nm ともども不要となると議論した (Gilson *et al.* 2006)。

では、十分な時間さえ経てば Nm ゲノムの葉緑体関連遺伝子は核ゲノムへ EGT するのだろうか？ そもそも EGT にはどのような手順が必要か？ まず、1) Nm の葉緑体関連遺伝子を含む DNA 断片が宿主核ゲノムに移動し、2) mRNA に発現するような調節因子を獲得し、且つ 3) コードされるタンパク質が葉緑体に輸送されるためのシグナル配列を獲得しなければならない。少なくともこれら 3 つの段階を踏まねば Nm ゲノムにある必須な葉緑体関連遺伝子は EGT を経た消失はできない。それほど簡単に成立するステップとは思えないが、実際に他の共生体核を失った二次共生生物や一次

共生を含め、大量の EGT を成功させている。この難問を成立させるための最も単純な方法は、「条件を満たすまで何度も DNA 移動を繰り返す」ことだろう。少なくとも葉緑体やミトコンドリアの遺伝子移動はこのような方法で成功してきたと考えられる。実際、植物の核ゲノムには数百カ所の領域に葉緑体ゲノムとほぼ同一の DNA 配列が大量に存在しており、例えばイネの核ゲノムには合計 800kbp 以上の葉緑体ゲノムとほぼ同一の DNA 断片が蓄積している (Matsuo *et al.* 2005, Smith *et al.* 2011)。つまり、少なくとも植物では、葉緑体ゲノムの DNA 断片の移動は現代でも高頻度で起こっている。それらの DNA 断片に含まれる遺伝子領域が「たまたま転写・翻訳され、タンパク質が共生体由来の細胞質区画に戻って来ることが出来た場合に遺伝子移動が完了する」、というのが大量の EGT を最もシンプルに説明する仮説だろう。この仮説を前提とすれば、もしクリプト藻類とクロララクニオン藻類の核ゲノムから多数の Nm DNA 断片が見つければ、Nm ゲノムから宿主核ゲノムへの EGT が現在も進行中であり、今後 Nm が消失する可能性を大きく示唆することになる。

このことを検証するため、Curtis ら (2012) はクリプト藻類 *Guillardia theta* D. R. A. Hill & R. Wetherbee とクロララクニオン藻類 *Bigelowiella natans* Moestrup の核ゲノムを解読した (Curtis *et al.* 2012)。その結果、意外なことに、ミトコンドリアからの DNA 断片の移動は示されたが、Nm と葉緑体からの DNA 断片の移動は全く検出されなかった。すなわち、少なくとも *G. theta* と *B. natans* では現代における Nm ゲノムから宿主核ゲノムへの DNA 移動はほとんどなかったのである。もし今後 Nm から宿主核への EGT が起こらないのだとしたら、Nm から必須葉緑体関連遺伝子が消失する機会の多くが奪われることになる。なぜなら、核への必須葉緑体関連遺伝子の供給源が外部環境から核への水平伝播以外になくなるからである。つまり、Nm ゲノムの比較ではゲノム縮小の中途段階に見えたとしても、核ゲノムの情報を加味すると、ゲノム縮小は事実上止まっているようにも見える。Curtis らはこの状況から Nm ゲノムを“frozen”と表した (Curtis *et al.* 2012)。

なぜヌクレオモルフ・葉緑体から核ゲノムへの DNA 断片の移動がないのだろうか？ このことを説明するのに Limited Transfer Window Hypothesis はもつとも説得力がある仮説かもしれない。すなわち、「EGT の頻度は 1 細胞内に保持されるオルガネラの数に相関する」というものである (Barbrook *et al.* 2006)。Barbrook らは細胞内共生のごく初期は宿主が共生体の分裂を完全にはコントロールできなかったため、複数のオルガネラをもつ生物のような状態だったと想定した。複数のオルガネラをもっていれば、何らかの理由で一つのオルガネラが崩壊したとしても、他にも同機能を担うオルガネラが存在しているので機能が大きく損なわれることは考えにくい。この時壊れたオルガネラのゲノム DNA は核ゲノムへ移動するチャンスを得るだろう。一方

で、オルガネラが単一だった場合はオルガネラの崩壊は致死を意味する。実際、生物の核ゲノムに蓄積するオルガネラ DNA 断片の量は細胞あたりに含まれるオルガネラの数に相関することは広く真核生物で見受けられている (Smith *et al.* 2011)。核ゲノム解析がなされたクリプト藻類 *G. theta* とクロラクニオン藻類 *B. natans* は単一の葉緑体と Nm, 及び複数のミトコンドリアをそれぞれ細胞中にもっている。前述のように Nm と葉緑体からの DNA 断片の移動は全く見つからなかった一方で、*G. theta* では 13 個、*B. natans* では 7 個のミトコンドリアとほぼ同一の配列が発見されており、Limited Transfer Window Hypothesis に合致する (Curtis *et al.* 2012)。よって、細胞内共生が成立する初期あるいは直前では葉緑体と共生体核を含む区画が複数存在したが、一定の進化段階で (少なくとも *G. theta* と *B. natans* では) 単一の葉緑体とヌクレオモルフとなったために、それ以上積極的な EGT が起こらなかったと考えれば、Nm がゲノム縮小の中間の特徴を示すにもかかわらず、積極的な EGT が起こっていないように見えることも合点がいく。逆説的に言えば、他の二次共生生物は共生体が複数あるうちに必須遺伝子の EGT が完了したのかもしれない。

ヌクレオモルフ・バイオロジーは終わらない

これまでの Nm の比較ゲノム研究は一定の成果を上げたといっている。しかしながら解決できていない問題は残っている。誌面の都合上で説明に大きく割くことは出来ないが、本当に Nm ゲノムの縮小が止まっているのか必ずしも決着がついたとはいえない上、Nm に多く含まれる機能未知タンパク質の存在意義は明らかではない。Nm をモデルとした研究はゲノミクスを主軸とした研究から、より生物学的な解析が必要な局面を迎えている。これからも Nm をもつ生物を用いた生物学は真核—真核の細胞内共生におけるゲノム再編の様子をより詳細に明かしていくことになるだろう。

謝辞

本稿の執筆の機会を頂いた日本藻類学会と日本原生生物学会に感謝申し上げます。誌面の都合により割愛させていただ

いた原著文献の著者の皆様にお詫び申し上げます。

引用文献

- Allen, J. F. 2003. The function of genomes in bioenergetic organelles. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 358: 19-37.
- Barbrook, A. C., Howe, C. J. & Purton, S. 2006. Why are plastid genomes retained in non-photosynthetic organisms? *Trends Plant Sci.* 11: 101-108.
- Curtis, B. A., Tanifuji, G., Burki, F., et al. 2012. Algal genomes reveal evolutionary mosaicism and the fate of nucleomorphs. *Nature* 492: 59-65.
- Gilson, P. R., Su, V., Slamovits, C. H., Reith, M. E., Keeling, P. J. & McFadden, G. I. 2006. Complete nucleotide sequence of the chlorarachniophyte nucleomorph: Nature's smallest nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 9566-9571.
- Matsuo, M., Ito, Y., Yamauchi, R. & Obokata, J. 2005. The rice nuclear genome continuously integrates, shuffles, and eliminates the chloroplast genome to cause chloroplast-nuclear DNA flux. *Plant Cell* 17: 665-675.
- Moore, C. E., Curtis, B. A., Mills, T., Tanifuji, G. & Archibald, J. M. 2012. Nucleomorph genome sequence of the Cryptophyte alga *Chroomonas mesostigmatica* CCMP1168 reveals lineage-specific gene loss and genome complexity. *Genome Biol. Evol.* 4: 1162-1175.
- Patron, N. J., Rogers, M. B. & Keeling, P. J. 2006. Comparative rates of evolution in endosymbiotic nuclear genomes. *BMC Evol. Biol.* 6: 46.
- Roy, S. W. & Penny, D. 2007. Patterns of intron loss and gain in plants: Intron loss dominated evolution and genome wide comparison of *O. sativa* and *A. thaliana*. *Mol. Biol. Evol.* 24: 171-181.
- Smith, D. R., Crosby, K. & Lee, R. W. 2011. Correlation between nuclear plastid DNA abundance and plastid number supports the limited transfer window hypothesis. *Genome Biol. Evol.* 3: 365-371.
- Suzuki, S., Shirato, S., Hirakawa, Y. & Ishida, K. 2015. Nucleomorph genome sequences of two chlorarachniophytes, *Amorphochlora amoebiformis* and *Lotharella vacuolata*. *Genome Biol. Evol.* 7: 1533-1545.
- Tanifuji, G. & Archibald, J. M. 2014. Nucleomorph comparative genomics. In: Wolfgang, L. (ed.) *Endosymbiosis*. pp. 197-213. Springer Vienna, Vienna
- Tanifuji, G., Onodera, N. T., Brown, M. W., et al. 2014. Nucleomorph and plastid genome sequences of the chlorarachniophyte *Lotharella oceanica*: convergent reductive evolution and frequent recombination in nucleomorph-bearing algae. *BMC Genomics* 15: 374.