

Euglena gracilis のカロテノイドを介する光応答とその生理生態上の機能

加藤翔太, 篠村知子

帝京大学理工学部バイオサイエンス学科

〒320-8551 栃木県宇都宮市豊郷台 1-1

Shota Kato, Tomoko Shinomura

**Physiological responses of carotenoid synthesis
in *Euglena gracilis* to light conditions**

Key words: carotenoid, Excavata, light stress, photoprotection, secondary endosymbiont

Department of Biosciences, School of Science and Engineering, Teikyo University

1-1 Toyosatodai, Utsunomiya, Tochigi, 320-8551, Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.9b4.00136

1. はじめに

Euglena gracilis (図1) は、近年「ユーグレナ」の名で定着しつつあるバイオ燃料や高栄養価食品の原料として注目されている産業上有用な微細藻類の一種である。ユーグレナを産業的に大量培養するためには、太陽光エネルギーを利用した屋外オープンポンドでの培養が不可欠である。しかし、同時に屋外では太陽の直射光のような強すぎる光が光合成の光阻害を引き起こし、しばしば藻体の生産性を低下させる。

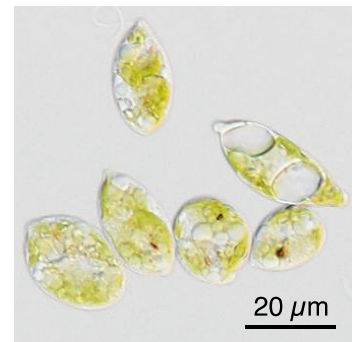


図1. *Euglena gracilis* Klebs細胞の光学顕微鏡写真

光合成生物においてカロテノイドは葉緑体でクロロフィルとともに光エネルギーを吸収し光合成を駆動するための光捕集色素として機能すると同時に、過剰な光エネルギーから葉緑体の光合成システムを保護し活性酸素種を消去する光防護機構としても重要な役割を果たしている。筆者らは *E. gracilis* の光環境応答の基礎生理を明らかにすることを目標に、*E. gracilis* のカロテノイドに着目しその合成の分子機構や光ストレス下におけるカロテノイドの生理機能の解明を目指している。本総説では筆者らが *E. gracilis* から単離同定したカロテノイド合成系遺伝子について概説する。さらに、*E. gracilis* 細胞のカロテノイドの組成と蓄積量に及ぼす光ストレスの影響に関する生理学解析について筆者らのこれまでの知見を紹介する。

2. ユーグレナの生物学的特徴

2-1. ユーグレナの進化と系統分類

E. gracilis は「ミドリムシ」とも呼ばれているように、葉緑体で光合成を行いながら鞭毛を用いて水中を活発に遊泳する単細胞真核生物である。*E. gracilis* は緑藻と同様にその葉緑体に光合成色素のクロロフィルaとbを有するが、緑藻や陸上植物の系統とは全く異なるグループに属する。系統分類において *E. gracilis* はスーパーグループ「エクスカバータ」(Excavata) のユーグレナ目 (Euglenida) に属しており、植物よりもむしろヒトの寄生虫であるトリパノソーマ (Kinetoplastea) と近縁の極めて個性的な藻類である(Adl *et al.*, 2005; Ahmadinejad *et al.*, 2007; Simpson *et al.*, 2004)。ユーグレナ目には1000を超え

る種のユーグレナ類が存在するが、その多くは従属栄養生物（捕食性や栄養吸収性）である(Zakryś *et al.*, 2017)。 *E. gracilis*を含め光独立栄養性のユーグレナ類は元来葉緑体を持っていなかった祖先の原生生物が細胞内に緑藻を取り込み、共生させたことで葉緑体を獲得した（二次共生）と考えられている(Gibbs, 1978; Turmel *et al.*, 2009)。ユーグレナ類の中には葉緑体で光合成を行いながら同時に捕食性も有しているラパザ (*Rapaza viridis*) という混合栄養性のユーグレナも存在する(Yamaguchi *et al.*, 2012)。ラパザは色素体を有するユーグレナ類の基部に位置する系統であり、ユーグレナ類が従属栄養性から混合栄養性を経て光独立栄養性に段階的に栄養様式を転換したことを示している。

ユーグレナ類には形態も栄養様式も異なる多くの種が存在するが、一般に「ユーグレナ」と呼ぶ場合は光独立栄養性のユーグレナ類の中で最も良く研究されている *E. gracilis*のことを指している。

2-2. ユーグレナの細胞構造

ユーグレナ類の細胞は細胞壁を持たず、細胞表層にペリクルと呼ばれる特徴的な線条構造を形成する(Leander *et al.*, 2007)。ユーグレナ類は二次共生によって葉緑体を獲得したため、その葉緑体は3層の包膜に囲まれている(Gibbs, 1978)。このため、核にコードされる葉緑体タンパク質の多くは緑藻や高等植物とは異なる独自の局在化シグナル配列(Bipartite presequence)を有する(Durnford and Gray, 2006)。さらに、緑藻や高等植物が光合成産物を葉緑体内にデンプン(α -1, 4グルカン)として貯蔵するのに対し、ユーグレナ類はパラミロンと呼ばれる β -1, 3グルカンを細胞質に蓄積することもユーグレナ類の大きな特徴の一つである。

ユーグレナ類の多くは2本の鞭毛を持つ。 *E. gracilis*は長さの異なる鞭毛を持ち、1本は細胞前端的陥入部に隠れていて、陥入部から外に長く伸びたもう1本の鞭毛を波打たせて水中を遊泳する。 *E. gracilis*の鞭毛基部の細胞質にはユーグレナ（ラテン語でeu美しい+glena眼）の名称の由来となったオレンジ色の「眼点」(eye spot/ stigma) と呼ばれる構造が存在する。「眼点」と名がついているが、眼点は細胞質に蓄積したカロテノイドを含む脂質顆粒であり、実際の光受容部位は鞭毛基部の副鞭毛体(Paraflagellar body, PFB)と呼ばれる構造である。Iseki *et al.* (2002)は副鞭毛体に局在する光活性化アデニル酸シクラーゼ(Photoactivated adenylyl cyclase, PAC)が *E. gracilis*の光回避反応（ステップアップ驚動反応）における光センサーとして機能することを明らかにしている。眼点と副鞭毛体は近接して存在することから、眼点は光受容部位に当たる光を遮ることで光の方向性の感知に関与していると考えられている。緑藻もカロテノイドを集積した眼点を有するが、緑藻の眼点は光受容体に近接した葉緑体内部のチラコイド膜間に形成される(Kreimer, 2009)。ユーグレナの眼点は緑藻とは異なる部位に形成されること、さらに眼点を形成する脂質顆粒の包膜と葉緑体膜の構造との類似性は認められていないこと(Kivic and Vesik, 1972)から、ユーグレナ類は独自に眼点を発達させたと推察される。

3. ユーグレナのカロテノイド合成遺伝子の単離同定

3-1. *E. gracilis*に含まれる主要なカロテノイド

カロテノイドは8個のイソプレン (C_5) 単位から構成される炭素数40 (C_{40}) の基本構造を持つ化合物である。カロテノイドは炭素原子と水素原子のみで構成される「カロテン」と炭素原子と水素原子に加えて酸素原子も含む「キサントフィル」の大きく2つのグループに分類される。緑色植物の葉緑体には主として β -カロテンとルテイン、ビオラキサナンチン、9'-シス-ネオキサナンチンが含まれ、その他

α -カロテンやゼアキサンチンなどの生合成中間体が少量存在する(Takaichi, 2011)。ユーグレナ類ではこれまでに β -カロテンとゼアキサンチン, 9'-シス-ネオキサンチン, ジアトキサンチン, ジアジノキサンチンなどの存在が報告されている(Takaichi, 2011; Aitzetmüller *et al.*, 1968; Bjørnland, 1982; Takaichi and Mimuro, 1998)。一方で, ユーグレナ類はルテインを持たないと考えられている(三室ら, 2006)。

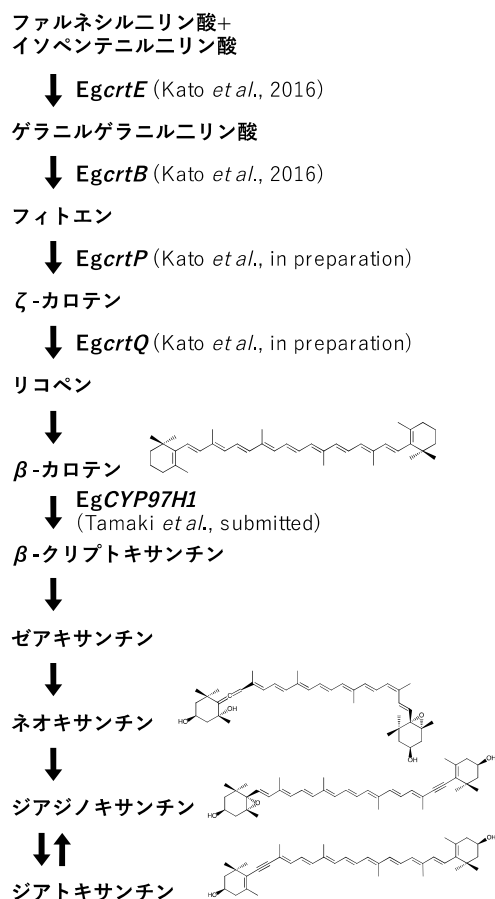


図2. *E. gracilis*のカロテノイド合成経路(推定)と主要なカロテノイドの構造式

図2に *E. gracilis* の推定されるカロテノイド合成経路を示した。筆者らは *E. gracilis* に含まれるカロテノイドを高速液体クロマトグラフィーと C-18 カラムを用いて分析し, β -カロテンとネオキサンチン, ジアジノキサンチン, ジアトキサンチンが *E. gracilis* 細胞の主要なカロテノイド分子種(図2)であることを報告した(Kato *et al.*, 2017)。カロテノイド合成系の中でフィトエンからリコペンの合成に至る初期段階はシアノバクテリアから高等植物まで共通している。これまでに筆者らは *E. gracilis* のカロテン合成系遺伝子を複数単離同定し, 既にその一部(EgcrTE および EgcrTB)を報告した(Kato *et al.*, 2016)。ここではカロテン合成の初期段階に関わる遺伝子についての知見を紹介する。なお, 本総説ではカロテノイド合成系の遺伝子名は小文字で始まるイタリック体で表記し, その産物のタンパク質は大文字で始まる立体で表記した (EgCYP97H1を除く)。

3-2. フィトエンの合成

カロテノイドの前駆体はイソプレノイド合成系で合成されるゲラニルゲラニルニリン酸(GGPP; C_{20})である。GGPP 合成酵素(CrtE または GGPPS, GGPS)

によってファルネシルニリン酸(FPP; C_{15})とイソペンテニルニリン酸(IPP; C_5)が縮重し, GGPP が合成される。その後, フィトエン合成酵素(CrtB または Psy, Pys)によって2分子のGGPP がリン酸基側同士(tail-to-tail)で結合することで最初のカロテン, フィトエン(C_{40})が合成される。GGPP 合成酵素遺伝子とフィトエン合成酵素遺伝子は藻類ではシアノバクテリアの *Thermosynechococcus elongatus* (crtE)や *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (crtB), *Synechococcus elongatus* PCC 7942 (pys)や真核藻類の *Pyropia umbilicalis* (ggps), *Chlamydomonas reinhardtii* (crtB), *Haematococcus phuvialis* (pys), *Chlorella zofingiensis* (psy)でその単離と機能解析がなされている(Takaichi, 2011; Cordero *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2016)。これまでのところユーグレナの核ゲノム配列は公開されていないが, *E. gracilis* のトランスクリプトームデータ(Yoshida *et al.*, 2016)は報告されている。筆者らは高等植物や他の藻類の既知のGGPP 合成酵素とフィトエン合成酵素のアミノ酸配列を用いて相同性検索を行い, *E. gracilis* の EgcrTE と EgcrTB の cDNA を単離し, 大腸菌タンパク質発現系を用いた相補実験でその機能を明らかにした(Kato *et al.*, 2016)。

EgCrtE のアミノ酸配列には, 真正細菌と植物型のGGPP 合成酵素 (type II GGPPS) で保存されてい

るアスパラギン酸残基に富む First-aspartate rich motif (FARM: DDXXXD) と Second-aspartate-rich motif (SARM: DDXXXD) が存在する。GGPP 合成酵素の分子系統樹において, EgCrtE は比較的シアノバクテリア(Cyanophyta)や紅藻(Rhodophyta)と近縁であり, *T. elongatus* と *P. umbilicalis* の GGPP 合成酵素とそれぞれ 46%と 44%の同一度と 59%と 55%の類似度を示した (Kato *et al.*, 2016)。EgCrtB もシアノバクテリアや緑藻のフィトエン合成酵素と同様にアスパラギン酸に富んだ 2 箇所の DXXXD モチーフを有している。しかしながら, 系統樹において EgCrtB はシアノバクテリアや緑藻のフィトエン合成酵素とは異なるクレードに位置し, 緑藻の Psy/Pys との同一度と類似度はそれぞれ 38-40%と 52-56%であった (Kato *et al.*, 2016)。ユーグレナ類が合成するジアトキサンチンとジアジノキサンチンは, ユーグレナ類の他にはクロムアルベオラータ(Chromalveolata)に属する一部の藻類(Heterokontophyta, Haptophyta および Dinophyta)でのみ認められる特徴的なキサントフィルである(Takaichi, 2011)。さらに, 近年の分子系統解析の結果, ユーグレナ類の共通祖先は緑藻由来の葉緑体を獲得する前に紅藻系二次共生植物(Chromalveolata-like prey alga)を取り込み, 遺伝子水平伝播によって紅色系遺伝子を獲得したことが明らかにされている(Maruyama *et al.*, 2011)。これらのことから, ユーグレナのカロテノイド合成系は緑藻ではなく紅藻系二次植物に由来すると推察された。

緑藻や高等植物では CrtE の多くと CrtB が葉緑体に局在するのに対し, EgCrtE と EgCrtB のアミノ酸配列からは *E. gracilis* の典型的な葉緑体局在化シグナル配列は見出されなかった。この結果は, ユーグレナのイソプレノイド合成系が細胞質に存在することと関連があると考えられた。高等植物のイソプレノイド合成系には細胞質のメバロン酸(MVA)経路と葉緑体の非メバロン酸(DOXP/MEP)経路が存在するが, 高等植物は非メバロン酸経路で合成されたイソプレノイドを用いてカロテノイドを合成している(Lichtenthaler, 1999; 2007)。進化の過程でメバロン酸経路を失った緑藻も高等植物と同様に非メバロン酸経路由来のイソプレノイドをカロテノイド合成に用いている。一方で, ユーグレナは光合成生物で例外的に非メバロン酸経路を欠き, イソプレノイドを細胞質のメバロン酸経路で合成している(Lichtenthaler, 2007; Disch *et al.*, 1998)。これらのことから, *E. gracilis* は GGPP とフィトエンを細胞質で合成している可能性が考えられた。

3-3. フィトエンからリコペンまで

フィトエンは 4 段階の不飽和化を経てリコペンに変換される(Takaichi, 2011; Huang *et al.*, 2017)。シアノバクテリアや真核藻類では, フィトエンからリコペンまでの不飽和化に 2 種類の酵素が関与している。最初の 2 段階の不飽和化はフィトエン不飽和化酵素 (植物型) (CrtP または Pds) によって触媒され, フィトエンからフィトフルエンを経て ζ -カロテンが合成される。その後, ζ -カロテン不飽和化酵素 (CrtQ または Zds) によって ζ -カロテンがニューロスポレンを経てリコペンへ変換される。一方で, *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 は他のシアノバクテリアと異なり, 細菌型のフィトエン不飽和化酵素 (CrtI) を持ち, フィトエンからリコペンまでの 4 段階の不飽和化を一つの酵素で行っている。*E. gracilis* のフィトエン不飽和化酵素は植物型であり, EgCrtP と EgCrtQ の 2 つの酵素がフィトエンからリコペンへの変換を担っている (Kato *et al.*, in preparation)。

4. ユーグレナのカロテノイド合成・蓄積の光ストレス応答

緑藻の *Dunaliella salina* (Król *et al.*, 1997)や *H. phuvialis* (Steinbrenner and Linden, 2001), *C. zoofingensis* (Li

et al., 2009)は、強光ストレス下で細胞に高濃度のカロテノイドを蓄積することが知られている。筆者らは *E. gracilis* が合成するカロテノイドの生理生態上の機能を明らかにするため、光ストレス下で培養した *E. gracilis* のカロテノイド合成遺伝子の発現や細胞のカロテノイドの含量と組成を解析した (Kato *et al.*, 2016; 2017)。図3に培養時の光強度(27, 55, 240, 460, 920 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$)が *E. gracilis* の主要なカロテノイドの蓄積量に及ぼす影響を示した。さらに、培養時の光強度の増加に伴う細胞増殖の抑制や光合成色素蓄積量、細胞の微細構造の変化との関係を図4にまとめた。太陽の直射光は2000 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に相当する。

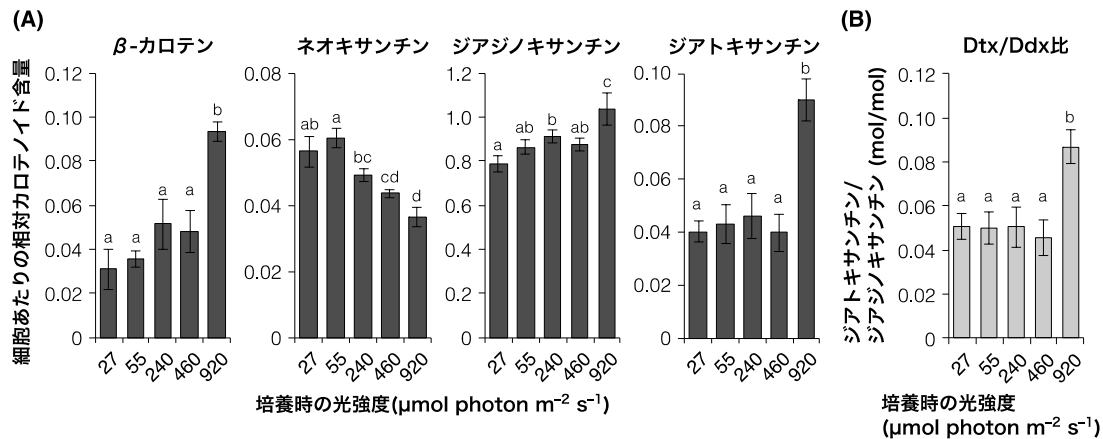


図3. 培養時の光強度が *E. gracilis* の (A) 主要なカロテノイドの含量と (B) ジアトキサンチン/ジアジノキサンチン (Dtx/Ddx) 比に及ぼす影響 (Kato *et al.*, 2017 を元に作図)
55 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 照射処理区の細胞あたりの主要なカロテノイドの総量を1とした。

E. gracilis の細胞あたりのクロロフィル含量の減少は 240 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上、細胞増殖の遅延や抑制は 460 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上の連続光照射によって引き起こされた。920 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 照射下で培養すると *E. gracilis* のカロテノイド合成系は *Eg crtB* の転写レベルで応答し、細胞あたりの主要なカロテノイドの総量も増殖に適な光強度 (55 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で培養した細胞に比べ 1.3 倍に増加した。一般に葉緑体のカロテノイドの多くはチラコイド膜やチラコイド膜上の反応中心と集光アンテナタンパク質の複合体に存在するが、強光ストレス処理によって *E. gracilis* のカロテノイド含量が増加したのに対し葉緑体チラコイド膜の層の数は著しく減少した (Kato *et al.*, 2017)。一方でチラコイド膜間や細胞質に存在する脂質顆粒の大きさや数が光強度の増加に伴って増加する傾向が認められたことから、これらの脂質顆粒の増加がカロテノイド含量の増加の要因の一つであると考えられた。

緑色植物ではビオラキサンチンとゼアキサンチンの相互変換 (ビオラキサンチンサイクル) が光阻害を回避するための非光化学的消光 (NPQ) を調節するキサントフィルサイクルとして機能している。一方で、珪藻やハプト藻、渦鞭毛藻はジアジノキサンチンとジアトキサンチンの相互変換反応であるジアジノキサンチンサイクルを NPQ 調節に用いている (Goss and Jakob, 2010)。珪藻の *Phaeodactylum tricorutum* ではジアジノキサンチンの蓄積量が多いほど NPQ 活性が高く、特にジアトキサンチン含量が直接 NPQ 活性と相関することが報告されている (Lavaud *et al.*, 2002; Ruban *et al.*, 2004)。 *E. gracilis* の主要なカロテノイドの総量の約 8 割を占めるジアジノキサンチンは、光強度の増加に伴って含量が増加する傾向を示し、その応答はクロロフィル含量の減少や細胞増殖の抑制が生じる光強度よりも弱

い光($55 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$)でも引き起こされた。さらに、ジアトキサンチンは主要なカロテノイドの総量に対する割合は低いものの、強光ストレス処理によって対照($55 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 照射区)の2倍以上に増加し、ジアジノキサンチン(Ddx)に対するジアトキサンチン(Dtx)の比(Dtx/Ddx)も約2倍に上昇した。これらのことから *E. gracilis* においてもジアジノキサンチンと特にジアトキサンチンが強光ストレスの回避において重要な役割を果たしているカロテノイドである可能性が示唆された。

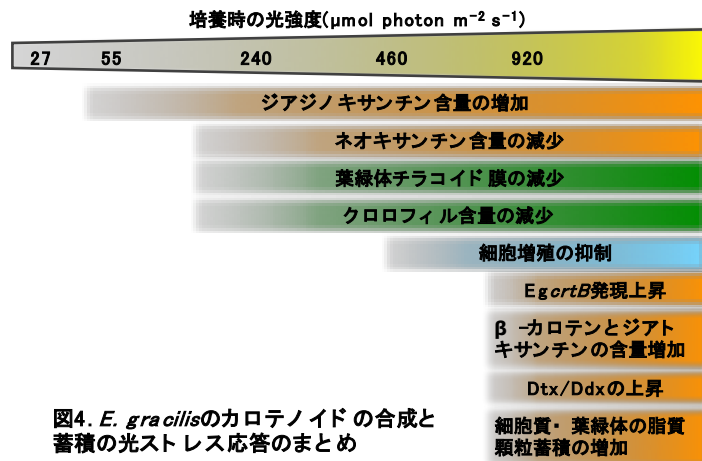


図4. *E. gracilis*のカロテノイドの合成と蓄積の光ストレス応答のまとめ

5. おわりに

藻類が合成するカロテノイドは系統分類によって多岐にわたり、藻類におけるカロテノイド合成遺伝子や調節機構の多くは未解明である。現在、筆者らは *E. gracilis* のカロテノイド合成・蓄積の調節に及ぼす概日リズムや光シグナルの影響を解析し、その光環境応答の分子機構の解明を目指している。

近年、カロテノイドの抗酸化作用やビタミンA欠乏や加齢黄斑変性、ガン、心疾患の予防効果が注目され、微細藻類ヘマトコッカスが合成蓄積するアスタキサンチンのサプリメントや化粧品等への利用が拡大している。ユーグレナは9'-シス-ネオキサンチンやアセチレン基を有するジアジノキサンチンなど一部の分類群に特有なカロテノイドを含むことから、ユーグレナのカロテノイド合成系やその調節に関わる分子機構を解明することで強光下でも高効率で増殖する藻類の分子育種のみならず、ユーグレナ特有のカロテノイドを効率的に生産するための応用研究の発展にも貢献できると考えている。

6. 謝辞

本総説で紹介した筆者らの研究は、科学研究費補助金(25450308, 17K07945)および私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(S1311014)、平成27年度帝京大学理工学部教育・研究推進特別補助金の支援を得て遂行した。

引用文献

- Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Farmer, M. A., *et al.* 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J. Eukaryot. Microbiol.* 52: 399–451.
- Ahmadinejad, N., Dagan, T., & Martin W. 2007. Genome history in the symbiotic hybrid *Euglena gracilis*. *Gene* 402: 35–39.
- Aitzetmüller, K., Svec, W. A., Katz, J. J., & Strain, H. H. 1968. Structure and chemical identity of diadinoxanthin and the principal xanthophyll of *Euglena*. *Chem. Commun.* 1: 32–33.
- Bjørnland, T. 1982. Chlorophylls and carotenoids of the marine alga *Eutreptiella gymnastica*. *Phytochem.* 21: 1715–1719.

- Cordero, B. F., Couso, I., León, R., Rodríguez, H., & Vargas, Á. 2011. Enhancement of carotenoids biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* by nuclear transformation using a phytoene synthase gene isolated from *Chlorella zofingiensis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 91: 341–351.
- Disch, A., Schwender, J., Müller, C., Lichtenthaler, H. K. & Rohmer, M. 1998. Distribution of the mevalonate and glyceraldehyde phosphate/pyruvate pathways for isoprenoid biosynthesis in unicellular algae and the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6714. *Biochem. J.*, 333: 381–388.
- Durnford, D. G., & Gray, M. W. 2006. Analysis of *Euglena gracilis* plastid-targeted proteins reveals different classes of transit sequences. *Eukaryot. Cell* 5: 2079–2091.
- Gibbs, S. P. 1978. The chloroplasts of *Euglena* may have evolved from symbiotic green algae. *Can. J. Bot.* 56: 2883–2889.
- Goss, R., & Jakob, T. 2010. Regulation and function of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in algae. *Photosynth. Res.* 106: 103–122.
- Huang, J. J., Lin, S., Xu, W., & Cheung P. C. K. 2017. Occurrence and biosynthesis of carotenoids in phytoplankton. *Biotechnol. Adv.* 35: 597–618.
- Iseki, M., Matsunaga, S., Murakami, A., *et al.* 2002. A blue-light-activated adenylyl cyclase mediates photoavoidance in *Euglena gracilis*. *Nature* 415: 1047–1051.
- Kato, S., Soshino, M., Takaichi, S., *et al.* 2017. Suppression of the phytoene synthase gene (*EgcrTB*) alters carotenoid content and intracellular structure of *Euglena gracilis*. *BMC Plant Biol.* 17: 1–10.
- Kato, S., Takaichi, S., Ishikawa, T., Asahina, M., Takahashi, S. & Shinomura, T. 2016. Identification and functional analysis of the geranylgeranyl pyrophosphate synthase gene (*crTE*) and phytoene synthase gene (*crTB*) for carotenoid biosynthesis in *Euglena gracilis*. *BMC Plant Biol.* 16: 1–12.
- Kivic, P. A., & Vesik, M. 1972. Structure and function in the Euglenoid eyespot apparatus: The fine structure, and response to environmental changes. *Planta* 105: 1–14.
- Kreimer, G. 2009. The green algal eyespot apparatus: a primordial visual system and more? *Curr. Genet.* 55: 19–43.
- Król, M., Maxwell, D. P., & Huner, N. P. A. 1997. Exposure of *Dunaliella salina* to low temperature mimics the high light-induced accumulation of carotenoids and the carotenoid binding protein (Cbr). *Plant Cell Physiol.* 38: 213–216.
- Lavaud, J., Rousseau, B., Gorkom, H. J. van, & Etienne, A.-L. 2002. Influence of the diadinoxanthin pool size on photoprotection in the marine planktonic diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Plant physiol.* 129: 1398–1406.
- Leander, B. S., Esson, H. J., & Breglia S. A. 2007. Macroevolution of complex cytoskeletal systems in euglenids. *Bioessays* 29: 987–1000.
- Li, Y., Huang, J., Sandmann, G., & Chen, F. 2009. High-light and sodium chloride stress differentially regulate the biosynthesis of astaxanthin in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* 45: 635–641.
- Lichtenthaler, H. K. 1999. The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 47–65.
- Lichtenthaler, H. K. 2007. Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids, α -tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance. *Photosynth. Res.* 92: 163–179.

- Maruyama, S., Suzaki, T., Weber, A.P. M., Archibald, J. M., & Nozaki, H. 2011. Eukaryote-to-eukaryote gene transfer gives rise to genome mosaicism in euglenids. *BMC Evol. Biol.* 11: 1–11.
- 三室守, 高市真一, 富田純史 2006. カロテノイド-その多様性と生理活性-. 裳華房. 東京.
- Ruban, A. V., Lavaud, J., Rousseau, B., Guglielmi, G., Horton, P., & Etienne, A.-L. 2004. The super-excess energy dissipation in diatom algae: comparative analysis with higher plants. *Photosynth. Res.* 82: 165–175.
- Simpson, A. G. B., Gill, E. E., Callahan, H. A., Litaker, R. W., & Roger A. J. 2004. Early evolution within kinetoplastids (Euglenozoa), and the late emergence of trypanosomatids. *Protist* 155: 407–422.
- Steinbrenner, J., & Linden, H. 2001. Regulation of two carotenoid biosynthesis genes coding for phytoene synthase and carotenoid hydroxylase during stress-induced astaxanthin formation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant Physiol.* 125: 810–817.
- Takaichi, S. 2011. Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions. *Mar. Drugs* 9: 1101–1118.
- Takaichi, S., & Mimuro, M. 1998. Distribution and geometric isomerism of neoxanthin in oxygenic phototrophs: 9'-cis, a sole molecular form. *Plant Cell Physiol.* 39: 968–977.
- Turmel, M., Gagnon, M.-C., O'Kelly, C.J., Otis, C., & Lemieux, C. 2009. The chloroplast genomes of the green algae *Pyramimonas*, *Monomastix*, and *Pycnococcus* shed new light on the evolutionary history of prasinophytes and the origin of the secondary chloroplasts of euglenids. *Mol. Biol. Evol.* 26: 631–648.
- Yamaguchi, A., Yubuki, N., & Leander, B. S. 2012. Morphostasis in a novel eukaryote illuminates the evolutionary transition from phagotrophy to phototrophy: description of *Rapaza viridis* n. gen. et sp. (Euglenozoa, Euglenida). *BMC Evol. Biol.* 12: 1–16.
- Yang, L.-E., Huang, X.-Q., Lu, Q.-Q., Zhu, J.-Y., & Lu, S. 2016. Cloning and characterization of the geranylgeranyl diphosphate synthase (GGPS) responsible for carotenoid biosynthesis in *Pyropia umbilicalis*. *J. Appl. Phycol.* 28: 671–678.
- Yoshida, Y., Tomiyama, T., Maruta, T., Tomita, M., Ishikawa, T., & Arakawa, K. 2016. *De novo* assembly and comparative transcriptome analysis of *Euglena gracilis* in response to anaerobic conditions. *BMC Genom.* 17: 1–10.
- Zakryś, B., Milanowski, R., & Kamkowska A. 2017. Evolutionary origin of *Euglena*. In: Schwarzbach, S. D., & Shigeoka, S. (eds.) *Euglena: Biochem. Cell Mol. Biol.* pp. 3–17. Springer, Cham.