

クロララクニオン藻の色素体制御機構

平川 泰久

筑波大学生命環境系

〒300-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

Yoshihisa Hirakawa

Nuclear control of secondary plastids in chlorarachniophytes

Key words: algae, chlorarachniophyte, circadian, nucleomorph, secondary plastid

Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

Tennodai 1-1-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.8c6.00125

1. はじめに

植物や藻類のもつ色素体（葉緑体）が細胞内共生により誕生したことは広く知られている。これは、捕食性の単細胞真核生物が光合成生物を細胞内に取り込む（つまり食べる）ことで始まったと考えられている（図 1）。共生の過程で、取り込まれた光合成生物（共生者）は遺伝子の多くを失い、光合成や代謝、DNA 複製や分裂などに関わる多くの遺伝子は、捕食した真核生物（宿主）の核ゲノムへと移動した。現在、色素体で機能するタンパク質の多く（90%以上）は核ゲノムの遺伝子にコードされており、色素体は細胞質側からのタンパク質供給に大きく依存している（Bock & Timmis 2008）。これにより、色素体は宿主の外では生きられないオルガネラへと進化した。現存の光合成生物のうち、陸上植物と一部の藻類（緑藻、紅藻、灰色藻）は光合成細菌シアノバクテリアの細胞内共生により誕生したと考えられており、我々はこのイベントを一次共生と呼ぶ（図 1）。さらに、他の捕食性真核生物が緑藻や紅藻を細胞

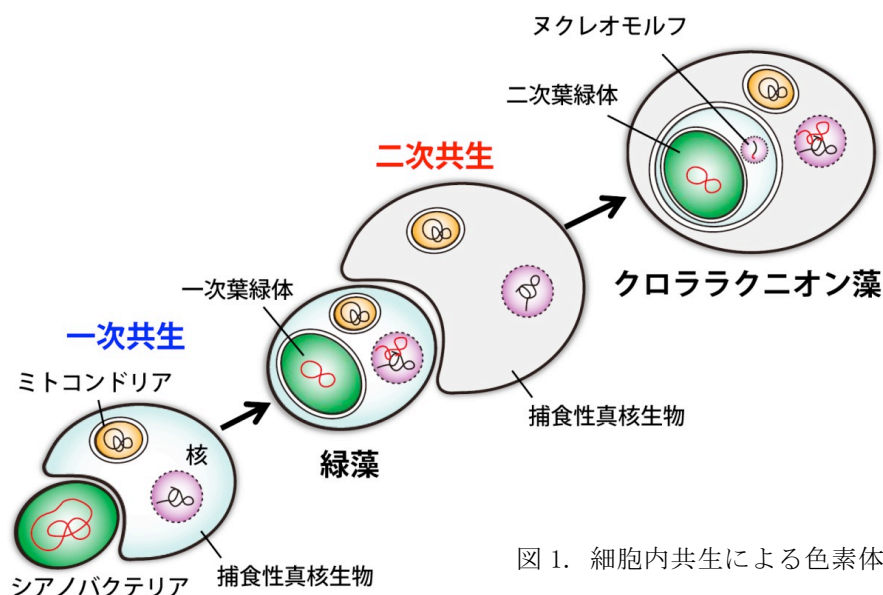


図 1. 細胞内共生による色素体進化。

内に取り込む二度目の共生「二次共生」が起こり、異なる系統の生物で色素体は進化した (Keeling 2013)。真核生物と原核生物の間で起きた一次共生に対して、二次共生は真核生物どうしの共生イベントであり、一次共生が過去に一度きりなのに対して、二次共生は複数回独立に起きている (最低でも 3 回以上)。この様に、複雑な細胞内共生を経て系統的に多様な生物群で色素体は進化してきた。

2. 二次色素体をもつクロララクニオン藻

クロララクニオン藻は海産の単細胞性藻類で、現在までに 8 属 14 種が報告されている (Hirakawa 2014)。細胞形態は多様で、細い仮足を伸ばすアメーバ細胞、細胞壁を持つ球状細胞、鞭毛で泳ぐ遊泳細胞が知られており、熱帯から温帯の沿岸域から外洋と幅広く環境から発見されている (図 2)。

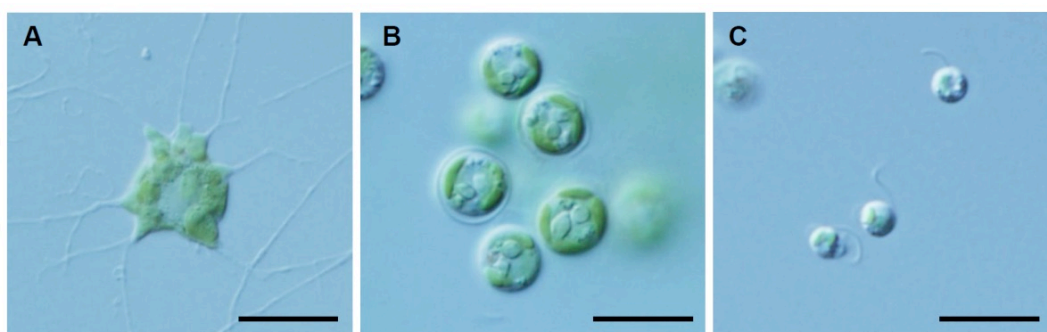


図 2. クロララクニオン藻の顕微鏡写真。(A) *Amorphochlora amoebiformis* (B) *Lotharella globosa* (C) *Bigelowiella natans*。スケールバーは 10 μm

分子系統解析から、クロララクニオン藻は二次共生由来の色素体 (二次色素体と呼ばれる) をもつ藻類群の一つで、リザリア界のケルコゾア門に属する原生生物がトレボウクシア綱に近縁な緑藻を細胞内共生することで誕生したと考えられている (Suzuki et al. 2016a)。クロララクニオン藻は、植物や他の藻類とは異なるユニークな構造の二次色素体をもつことが知られている。植物などの一次色素体が 2 枚の包膜に囲まれているのに対して、本藻の二次色素体は 4 枚の包膜をもつ。内側 2 枚の膜は共生した緑藻の色素体膜由来で、外側 2 枚目の膜はそれぞれ緑藻の細胞質膜と宿主の食包膜に由来するとされている (Cavalier-Smith 2000)。さらに興味深い特徴として、内側 2 枚と外側 2 枚の色素体膜間領域 (もともと緑藻の細胞質にあたるスペース) に共生藻の痕跡的な核であるヌクレオモルフを保持している (図 2)。他の多くの二次色素体では、共生藻の核はすでに消失しており、ヌクレオモルフが見られる藻類は、クロララクニオン藻と紅藻起源の二次色素体をもつクリプト藻に限られる。このことから、クロララクニオン藻は二次共生の中間段階を示す二次色素体をもつ藻類として注目されている。

それでは、二次共生により取り込まれた共生藻が二次色素体へと進化するオルガネラ化の過程でどのようなことが起きたのか？また現在の二次色素体は細胞内でどのように制御されているのか？本総説では、クロララクニオン藻における最近の研究から明らかになった共生進化のプロセスを説明する。

3. 色素体ゲノムとヌクレオモルフゲノムの進化

我々のグループでは、従来のサンガーシークエンスに加え、次世代シークエンサーを用いて複数種のクロララクニオン藻の色素体およびヌクレオモルフのゲノム配列の解読を進めてきた。これまでに、5種の色素体ゲノム、4種のヌクレオモルフゲノムが解読されている。クロララクニオン藻の色素体ゲノムのサイズは67.4から72.6 Kbで、一般的な緑藻の色素体ゲノム(94から521 Kb)よりも少し小さい。遺伝子構成を比較すると、緑藻で保存されている13個の色素体遺伝子(例えば、光化学系遺伝子やリボソーム遺伝子の一部)がクロララクニオン藻では見られない。さらに、クロララクニオン藻の一種 *Bigelowiella natans* で解読された全ゲノムの情報から、失われた色素体遺伝子のいくつかが核ゲノムで発見されている(Curtis et al. 2012)。このことから、二次共生の過程で、共生した緑藻の色素体ゲノムから複数の遺伝子が消失して、核ゲノムへと移動したことが示唆される。興味深いことに、色素体ゲノムの遺伝子構成は、5種のクロララクニオン藻の間でほぼ保存されており、共生に伴う色素体遺伝子の消失や移動は、種分化する以前の二次共生の初期段階で完了したと考えられる(Suzuki et al. 2016a)。

これまでに解読されているクロララクニオン藻のヌクレオモルフゲノムは、374から611 Kbで、緑藻の核ゲノム(クラミドモナスでは約120 Mb)と比較すると劇的に小さい。これは二次共生の過程で、共生した緑藻の核から多くの遺伝子が消失したことを示している。ヌクレオモルフに残っている遺伝子は約300個で、多くは転写や翻訳に関わるハウスキーピング遺伝子である。その中には17個の色素体関連遺伝子(例えば、タンパク輸送に関わるTOC75やTIC20, タンパク質修飾に関わるDnaKやCpn60など)が含まれており、ヌクレオモルフはこれらの色素体遺伝子のために現在も存在し続けていると考えられている(Suzuki et al. 2015)。つまり、約300個のハウスキーピング遺伝子は17個の色素体関連遺伝子を維持するためだけに存在するとされている。では、ヌクレオモルフゲノムから消えた遺伝子はどうなったのだろうか? *B. natans* の核ゲノム解析より、数多くの遺伝子がヌクレオモルフから核へと移動したと推定されている。細胞内局在予測から、核コードタンパク質のうち、約700が色素体内へ、約1000のタンパク質がヌクレオモルフのある色素体膜間領域に輸送されていると見積もられている(Curtis et al. 2012)。つまり、ヌクレオモルフを含む二次色素体を維持するためには、核コードのタンパク質の供給が必要不可欠で、二次色素体は核遺伝子に大きく依存していると言える。

ここでヌクレオモルフの運命に関して少し考えてみる。他の多くの藻類ではヌクレオモルフが見られないが、クロララクニオン藻のヌクレオモルフもいずれ消失するのだろうか? 我々の行ったゲノム比較解析から、機能が推定されるヌクレオモルフ遺伝子の多く(80%以上)は4種のクロララクニオン藻で保存されており、17個の色素体関連遺伝子は完全に保存されていた(Suzuki et al. 2015)。つまり、種分化後に重要なヌクレオモルフ遺伝子の消失はさほど起きていないと考えられる。さらに、核ゲノムの解析から、種分化後にヌクレオモルフから核へ移動した遺伝子はこれまで発見されていない。このことから、ヌクレオモルフはゲノム縮小過程の中間段階を示すというより、ある終着点に達していると思われる。17個の

色素体関連遺伝子が核ゲノムへ移動した際、ヌクレオモルフはその役割を終えると考えられているが、今後、ヌクレオモルフが消失する可能性は高くないだろう。

4. 核コード色素体遺伝子の転写制御

前述したとおり、クロララクニオン藻の二次色素体で機能するタンパク質の多くは核ゲノムにコードされており、二次色素体は核の制御下にあると言える。では、これらの遺伝子の転写制御はどのようになっているのだろうか？我々は最近、12時間12時間の明暗周期で同調培養したクロララクニオン藻 *B. natans* の細胞を用いて、一日の遺伝子の発現変動を次世代シーケンサーを用いて解析した (Suzuki et al. 2016b)。核ゲノムにある約 21,000 の遺伝子のうち、約 7000 が概日周期にあわせて発現変動していることを明らかにした。二次色素体内で機能すると推定される 780 個のタンパク質遺伝子に関しては、70%以上が発現変動を示し、その多くは暗期の間に発現量を増加させ、夜明け前に発現ピークを迎えるものであった。

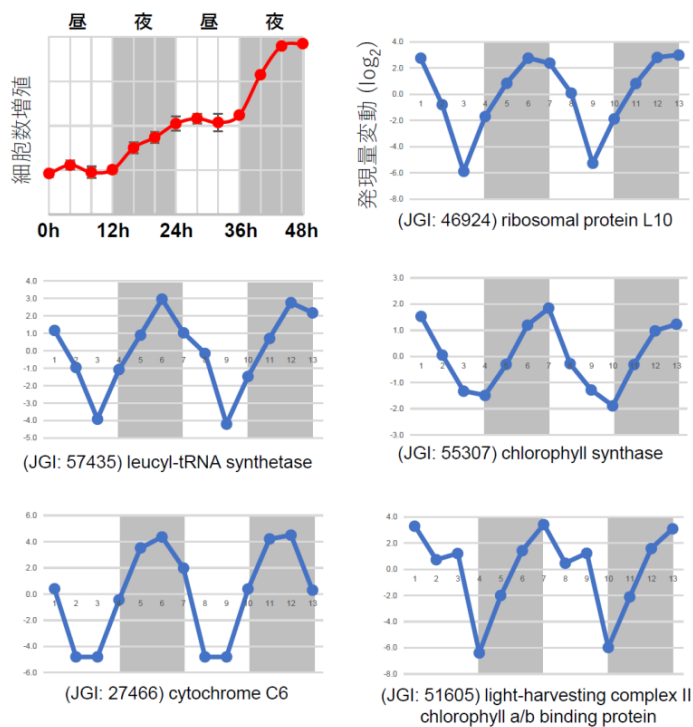


図 3. 概日周期にあわせて発現変動する色素体関連遺伝子。

明暗周期で同調培養したクロララクニオン藻 *B. natans* は、暗期にのみ細胞分裂する。5 つの色素体で機能するタンパク質遺伝子の発現量変動を折れ線グラフ (青) で示す。いずれも暗期に発現量が増加している。

緑藻のクラミドモナスやオストレオコッカスでも、色素体関連の核遺伝子が概日周期で発現制御されることが知られており、多くの遺伝子は太陽の昇る明け方に転写開始されている (Monnier et al. 2010, Zones et al. 2015)。同じ光合成生物でも、クロララクニオン藻と緑藻では色素体関連遺伝子の発現時期が大きく異なっており、二次共生により共生緑藻から宿主核へと移動した色素体関連遺伝子は、新たな発現調節機構を獲得したと考えられる。クロララクニオン藻が夜の間に色素体関連遺伝子を発現することの意義は不明であるが、この転写機構はサーカディアンリズム (体内時計) により制御されていると思われる。一方、ヌクレオモルフに残った約 300 の遺伝子は転写制御されているのだろうか？驚くことに、99%のヌクレオモルフ遺伝子は一日を通して一定の転写量を保っていた (Suzuki et al. 2016b)。一般的に時期特異的な発現変動を見せる DNA 複製関連遺伝子さえもヌクレオモルフでは発現変動し

ていなかった。二次共生で極度に縮小したヌクレオモルフゲノムでは、遺伝子と遺伝子の間の領域も小さく約 100 塩基程度しかない。このことが、ヌクレオモルフ遺伝子の転写レベルでの発現調節機構の消失と関係しているのかもしれない。これらのことから、クロララクニオン藻の二次色素体をコントロールするハンドルは核が握っていると言えるだろう。

5. ヌクレオモルフのユニークな DNA 複製タンパク質

最後にヌクレオモルフの DNA 複製に関わる面白いタンパク質を紹介する。共生緑藻の核を起源に持つヌクレオモルフは、真核型の DNA 複製機構をもつと考えられている。実際、ヌクレオモルフゲノムには複数の真核型の DNA 複製関連タンパク質 (PCNA, MCM, ヒストンなど) がコードされている。しかし、最も重要なポリメラーゼ遺伝子がヌクレオモルフゲノムに存在せず、既に核ゲノムに移動していることが示唆されてきた。最近の研究で我々は、クロララクニオン藻のヌクレオモルフに局在する DNA ポリメラーゼを発見した (Suzuki et al. 2016b)。驚くことに、分子系統解析の結果、その DNA ポリメラーゼはウイルスの配列と近縁であることが示された。つまり、二次共生の過程で、ヌクレオモルフ DNA を複製するポリメラーゼは、緑藻由来のものからウイルス由来のものに置き換わったと考えられる。興味深いことに、クロララクニオン藻の色素体関連タンパク質の中には、緑藻以外を起源するものが複数存在することが知られている (Archibald et al. 2003, Yang et al. 2014)。例えば、色素体分裂関連タンパク質 FtsZ は紅藻系統からの水平伝播に由来するとされている (Hirakawa & Ishida 2015)。これらのことから、二次共生の成立過程は、共生者と宿主の二者間だけの単純なイベントではなく、他の藻類やバクテリア、ウイルスまでも関わる非常にモザイク性の高いイベントであったと考えられる。

引用文献

- Archibald, J.M., Rogers, M.B., Toop, M., Ishida, K., & Keeling, P.J. 2003. Lateral gene transfer and the evolution of plastid-targeted proteins in the secondary plastid-containing alga *Bigeloviella natans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 100:7678–7683.
- Bock, R. & Timmis, J.N. 2008. Reconstructing evolution: Gene transfer from plastids to the nucleus. *BioEssays* 30:556–566.
- Cavalier-Smith T. 2000. Membrane heredity and early chloroplast evolution. *Trends Plant Sci.* 5:174–182.
- Curtis, B.A., Tanifuji, G., Burki, F., Gruber, A., Irimia, M., Maruyama, S., Arias, M.C., Ball, S.G., Gile, G.H., Hirakawa, Y., Hopkins, J.F., Kuo, A., Rensing, S.A., Schmutz, J., Symeonidi, A., Elias, M., Eveleigh, R.J., Herman, E.K., Klute, M.J., Nakayama, T., Oborník, M., Reyes-Prieto, A., Armbrust, E.V., Aves, S.J., Beiko, R.G., Coutinho, P., Dacks, J.B., Durnford, D.G., Fast, N.M., Green, B.R., Grisdale, C.J., Hempel, F., Henrissat, B., Höppner, M.P., Ishida, K., Kim, E., Kořený, L., Kroth, P.G., Liu, Y., Malik, S.B., Maier, U.G., McRose, D., Mock, T., Neilson, J.A., Onodera, N.T., Poole, A.M., Pritham, E.J., Richards, T.A., Rocap, G., Roy, S.W., Sarai, C., Schaack, S., Shirato, S., Slamovits, C.H., Spencer, D.F., Suzuki, S., Worden, A.Z., Zauner, S., Barry, K., Bell, C.,

- Bharti, A.K., Crow, J.A., Grimwood, J., Kramer, R., Lindquist, E., Lucas, S., Salamov, A., McFadden, G.I., Lane, C.E., Keeling, P.J., Gray, M.W., Grigoriev, I.V., & Archibald, J.M. 2012. Algal genomes reveal evolutionary mosaicism and the fate of nucleomorphs. *Nature* 492: 59–65.
- Hirakawa, Y. 2014. Complex plastids of chlorarachniophyte algae. *Perspect. Phycol.* 1:87–92.
- Hirakawa, Y. & Ishida, K. 2015. Prospective function of FtsZ proteins in the secondary plastid of chlorarachniophyte algae. *BMC Plant Biol.* 15:276.
- Keeling, P.J. 2013. The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64:583–607.
- Monnier, A., Liverani, S., Bouvet, R., Jesson, B., Smith, J.Q., Mosser, J., Corellou, F., & Bouget, F.Y. 2010. Orchestrated transcription of biological processes in the marine picoeukaryote *Ostreococcus* exposed to light/dark cycles. *BMC Genomics* 11:192.
- Suzuki, S., Hirakawa, Y., Kofuji, R., Sugita, M., & Ishida, K. 2016a. Plastid genome sequences of *Gymnochlora stellata*, *Lotharella vacuolata*, and *Partenskyella glossopodia* reveal remarkable structural conservation among chlorarachniophyte species. *J. Plant. Res.* 129:581–590.
- Suzuki, S., Ishida, K., & Hirakawa, Y. 2016b. Diurnal transcriptional regulation of endosymbiotically derived genes in the chlorarachniophyte *Bigeloviella natans*. *Genome Biol. Evol.* 8:2672–2682.
- 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.
- Yang, Y., Matsuzaki, M., Takahashi, F., Qu, L., & Nozaki, H. 2014. Phylogenomic analysis of “red” genes from two divergent species of the “green” secondary phototrophs, the chlorarachniophytes, suggests multiple horizontal gene transfers from the red lineage before the divergence of extant chlorarachniophytes. *PLoS One* 9:e101158.
- Zones, J.M., Blaby, I.K., Merchant, S.S., Umen, J.G. 2015. High-resolution profiling of a synchronized diurnal transcriptome from *Chlamydomonas reinhardtii* reveals continuous cell and metabolic differentiation. *Plant Cell* 27:2743–69.