

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：82617

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26840123

研究課題名(和文)非光合成葉緑体の進化と機能多様性探索～比較ゲノムとプロテオームから

研究課題名(英文)Molecular survey of the functional diversity in non-photosynthetic plastids based on comparative genomics and proteomics.

研究代表者

谷藤 吾朗(Tanifuji, Goro)

独立行政法人国立科学博物館・動物研究部・研究員

研究者番号：70438480

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：生物界には光合成能力を失ったにも関わらず、非光合成葉緑体を維持している生物が存在する。それらの非光合成葉緑体の機能変化と進化がどう起こったか明らかにするため、同属内で独立に光合成能力を失ったクリプト藻類クリプトモナス属3株及び光合成株1株の比較ゲノム解析を行った。さらにトランスクリプトーム/プロテオーム解析を行い葉緑体に供給されているタンパク質の推定も行った。結果として、非光合成株は独立に光合成を失っているにも関わらず、収斂的な進化の中で、それぞれの進化段階を反映するような状態であることなどが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Some eukaryotes retain non-photosynthetic plastids despite the secondary loss of photosynthetic ability. In order to unveil the functional transition and evolutionary manner of the non-photosynthetic plastids, comparative genomic survey of genus *Cryptomonas* (cryptomonads), was carried out using one photosynthetic strain and three non-photosynthetic strains which have lost the photosynthetic abilities in independent occasions. In addition, the whole protein set working in the plastids were predicted based on transcriptome/proteome dataset. My data showed that three non-photosynthetic plastids appear to be reflected each state of the loss of photosynthesis in the convergent evolution despite of they have lost the photosynthesis, independently.

研究分野：比較ゲノム、進化学、原生生物学

キーワード：Cryptomonads Plastid Nucleomorph Comparative genomics Reductive evolution

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 葉緑体の起源はシアノバクテリアであり、細胞内共生によって真核生物に獲得された。葉緑体は一般に独自のゲノムをもつが、細胞内共生により宿主と共生体が一つの生物となる過程で大規模なゲノムの再構成が起こったため、葉緑体はシアノバクテリアと比較して5%程度までゲノムが縮小している。そのようなゲノムの縮小進化は進化・多様性拡大の原動力の一つであるが、その過程は十分明らかになったとは言えない。

(2) 葉緑体の重要な機能のひとつは光合成であるが、それだけが主機能ではない。それは光合成能力を失ったにも関わらず、非光合成葉緑体を維持している生物が真核生物界に広く分布していることから明らかである(例えばマラリア原虫など)。しかしながら、非光合成葉緑体の主機能は個々の種で解析が進むものの全体としてははっきりしていない。

(3) クリプト藻類のクリプトモナス属では独立に光合成を失い非光合成葉緑体を維持する株が少なくとも3株存在する。また、クリプト藻類は葉緑体の起源となった二次真核共生体の核の名残(ヌクレオモルフ)を維持するという特徴がある。非光合成葉緑体とヌクレオモルフという原核型と真核型の縮小ゲノムをもつ生物は生物界全体を見渡しても他に例がない。

### 2. 研究の目的

光合成を失っても保持されている非光合成葉緑体に注目し、その進化の遺伝的背景を明らかにすることを目的とした。具体的には、クリプト藻類のクリプトモナス属内で独立に光合成能力を失った株の二次共生体痕跡核(ヌクレオモルフ)と非光合成葉緑体ゲノム完全解読を行い、さらに葉緑体内で働く全てのタンパク質を推定する。非光合成で、すでに葉緑体およびヌクレオモルフのゲノム配列が決定されている株を含め比較を行う。その結果から、i)クリプト藻類内の独立の光合成消失は遺伝的に同じ要因で起こったのか、別な要因で起こったのか明らかにし、また、ii)ゲノム縮小進化における真核型、原核型ゲノムの相違を解明すること、さらに、iii)どのようなタンパク質が非光合成葉緑体で機能しているか推定し、光合成機能消失に伴う進化の詳細を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

独立に光合成能力を失った2株、及びコントロールとして光合成クリプトモナス属の計3株について、塩化セシウム超遠心法によりヌクレオモルフと非光合成葉緑体ゲノムを精製した。Illumina社シーケンサーによりゲノムシーケンシングを行い、既存のソフトウェ

アによりゲノム配列の決定、遺伝子予測および比較ゲノム解析を行った。葉緑体タンパク質の推定については、トランスクリプトーム・データを取得後に全タンパク質配列推定を行い、すでに公表されているアルゴリズムによって葉緑体標的タンパク質を推定した(Curtis et al. 2012)。

### 4. 研究成果

(1) 当初の研究計画にはなかった非光合成クリプトモナス属1株を加え、非光合成株M1634B株、SAG977-2f株、光合成株であるCCAP979/52のヌクレオモルフ及び非光合成葉緑体のゲノム配列決定を試みた。これに申請者らの以前の研究ですでに葉緑体とヌクレオモルフのゲノムが解読されていたCCAP977/2a株の4株で比較解析を行った。

(2) 葉緑体については全株の完全長ゲノム配列を決定した。比較解析の結果、独立に光合成能力を失った3株の葉緑体ゲノムは収斂的と思われる特徴と異なった特徴の双方が見出された。収斂的特徴として、非光合成3株の葉緑体ゲノムは、光合成株のゲノムと比較して、光合成消失に伴うそれぞれの進化段階を表しているように見受けられた。例えば、psb遺伝子ファミリーなどの光合成関連遺伝子が偽遺伝子化している株、完全に消失している株などがあつた。またそれぞれの株で遺伝子間領域が短くなっているなど、光合成消失に伴うそれぞれの進化段階を反映しているものと考えられた。また、遺伝子が消失していく過程でゲノムのリアレンジメントの頻度が上昇することが見出された。この成果は現在投稿準備中である。

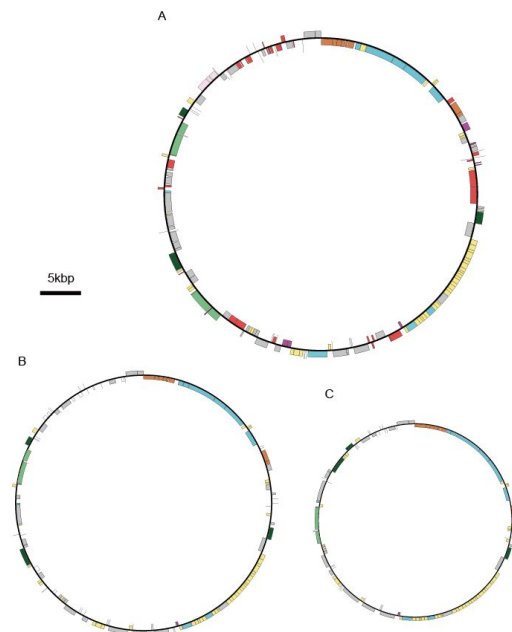


図1、本研究により決定した葉緑体ゲノムの模式図。論文投稿準備中に付き詳細は割愛。

(3)ヌクレオモルフについては当初の計画通り非光合成1株、コントロールとして光合成1株について塩基配列を決定し、比較解析を行うと同時に、ヌクレオモルフゲノムから葉緑体に供給されるタンパク質を推定した。当初は葉緑体を実験的に分離後、MC/LS/LSによる葉緑体タンパク質の網羅的同定を計画したが、高精度で葉緑体を分離精製することは困難を極めた。よって、計画内で代替案として提示しておいたトランスクリプトーム・データから推定されるプロテオームとバイオインフォマティクス的手法により葉緑体に供給されるタンパク質を推定した。主な成果として、非光合成株についても、光合成株で主に光合成に関わるタンパク質の一部が働いている可能性を見出した。非光合成株でなぜそれらのタンパク質が残っているのか、将来的に解決すべき新たな課題を提示した。現在それらの進化的意義などについて投稿論文を準備中である。

(4)他にも派生的な成果として、ゲノムの減少進化に関する成果を投稿論文及び学会などで発表した。

#### <引用文献>

Bruce A. Curtis, Goro Tanifuji et al. Algal genomes reveal evolutionary mosaicism and the fate of nucleomorphs. *Nature*, 495, 59-65, 2012.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

##### [雑誌論文](計3件)

Ryoma Kamikawa, Daniel Moog, Stefan Zauner, Goro Tanifuji, Ken-ichiro Ishida, Hideaki Miyashita, Shigeki Mayama, Tetsuo Hashimoto, Uwe-G Maier, John Archibald, A non-photosynthetic diatom reveals early steps of reductive evolution in plastids, *Molecular Biology and Evolution*, 査読有, (in press).

Goro Tanifuji, John Archibald, Tetsuo Hashimoto, Comparative genomics of mitochondria in chlorarachniophyte algae: endosymbiotic gene transfer and organellar genome dynamics. *Scientific Reports*, 査読有, 2016, 6: 21016. Doi:10.1038/srep21016

谷藤吾朗、細胞内共生におけるゲノム再編-共生遺伝子の移動と消失、*生物の科学* 遺伝 査読なし、70(2):181-185 2016

##### [学会発表](計6件)

谷藤吾朗、「企画ワークショップ；原生生物学会出張ワークショップ；原生生物

学会的藻類学研究の紹介」ヌクレオモルフ研究10年のシンポ-わかったこと、わからないこと、そして今後-日本藻類学会第41回大会、2017年3月23-25日、高知大学(高知)

Goro Tanifuji, Ryoma Kamikawa, Christa E. Moore, Tyler Mills, Yuji Inagaki, Tetsuo Hashimoto, John M. Archibald, Plastid comparative genomics elucidates multiple independent losses of photosynthesis in *Cryptomonas* (Cryptophyta). The 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis, 2016年9月11-14日、京都府立大学(京都).

Ryoma Kamikawa, Stefan Zauner, Daniel Moog, Goro Tanifuji, Ken-ichiro Ishida, Shigeki Mayama, Tetsuo Hashimoto, John M. Archibald, Andrew J. Roger, Uwe-G Maier, Hideaki Miyashita, Yuji Inagaki, 2016. "Uneasy" loss of the Calvin Benson cycle in nonphotosynthetic plastids. The 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis, 2016年9月11-14日、京都府立大学(京都).

谷藤吾朗, 2016. プロテリストワールドへの招待. 企画ワークショップ；プロテリストワールド～アプローチの多様化がもたらすもの～. 日本進化学会第18回大会 東京工業大学、東京.

Goro Tanifuji, Shun Takabayashi, Keitaro Kume, Mizue Takagi, Yuji Inagaki, T. Hashimoto, 2016. The draft genome of *Kipferlia bialata* reveals that a gain of function conversely contributed to reductive evolution in Metamonada. *Protist2016*. 2016年6月6-10日 Russia(Moscow).

谷藤吾朗、John M. Archibald、橋本哲男、ミトコンドリアおよび葉緑体ゲノムのダイナミクス-遺伝子移動とゲノム構造に着目して-、第10回日本ゲノム微生物学会、2016年3月4-5日、東京工業大学(東京).

##### [図書](計0件)

##### [産業財産権]

##### 出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：

出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

谷藤 吾朗 (TANIFUJI, Goro)  
独立行政法人国立科学博物館・動物研究  
部・研究員  
研究者番号：70438480

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

( )