

## 新奇緑色渦鞭毛藻 TRD 株の葉緑体ゲノムシーケンス

森田 幸之介 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 稲垣 祐司 (筑波大学 生命環境系)

## 背景

渦鞭毛藻は単細胞性の真核生物で、多くのものは紅藻由来の葉緑体 (ペリディニン型葉緑体) を持つ。また、葉緑体を持つ渦鞭毛藻の中にはハプト藻や緑藻に由来する葉緑体を持つものも存在する。これらはペリディニン型葉緑体を持つ渦鞭毛藻が、更にハプト藻や緑藻を細胞内共生させ、これらをオルガネラ化することにより、葉緑体を置き換えたものと考えられている。この現象は三次共生と呼ばれ、この三次共生のメカニズムを解明することは、現在多様な真核光合成微生物が持つ葉緑体の進化と多様性を研究する上で非常に重要である。

近年確立された渦鞭毛藻 TRD 株は緑色の葉緑体を持つ。これまでの研究において、TRD 株の葉緑体ゲノムにコードされた PsaA 遺伝子および少サブユニットリボソーム RNA 遺伝子を用いた系統解析が行われ、本渦鞭毛藻の葉緑体は単細胞緑藻ペディノ藻に近縁であることが明らかになった。このことから、TRD 株はペディノ藻との三次共生によって葉緑体を置換したものと考えられている。本研究においては、渦鞭毛藻 TRD 株の葉緑体ゲノムシーケンスを行い、すでに配列が決定されているペディノ藻の *Pedinomonas minor* の葉緑体ゲノムと比較解析を行うことによって、三次共生のメカニズムを葉緑体ゲノムの観点から解明することを目標とした。

## 実験方法

私が研究を開始する以前に、所属研究室では渦鞭毛藻 TRD 株の mRNA を網羅的に配列決定したトランスクリプトームデータを取得していた。これまで解析された多種生物のトランスクリプトーム解析から、データ中には mRNA だけでなくミトコンドリアや葉緑体ゲノム断片も混在することがわかっている。そこで、まずそのトランスクリプトームに対して Blastx による相同性検索を行い、緑藻の葉緑体ゲノムコードタンパク質またはシアノバクテリアのタンパク質に高い相同性を示した配列を選出し、これらを TRD 株における葉緑体ゲノム断片であるとした。得られた配列について既知の緑藻遺伝子と比較解析を行い、遺伝子領域を推定した。トランスクリプトームデータから取得した葉緑体ゲノムの部分配列がミスアセンブリに起因するものではないことを確かめるために、その配列からプライマーを作成し、TRD 株から抽出した total-DNA を鋳型として PCR を行い、PCR 産物のシーケンスを行った。また、得られた葉緑体ゲノム部分配列でプライマーを設計し、部分配列間の PCR 増幅を試みた。

## 結果と考察

相同性検索の結果、渦鞭毛藻 TRD 株のトランスクリプトームデータの中から 33 個の葉緑体ゲノム部分配列 (総塩基数約 45.7 kbp) が検出された。現在のところ、これら葉緑体ゲノム配列のうち、約 15 kbp については TRD 株から抽出した total-DNA を用いて PCR およびシーケンスすることで確認している。トランスクリプトームデータから発見された葉緑体ゲノム部分配列における配列間領域の一部は PCR によって取得され、最終的に 30 個の葉緑体ゲノム部分配列を得た。解析した結果、これらの部分配列上には 55 個の遺伝子がコードされていることが示唆された。検出された遺伝子はリボソームタンパク質遺伝子、光化学系 I および II サブユニット遺伝子、ATP 合成酵素遺伝子、大サブユニットおよび少サブユニットリボソーム RNA 遺伝子などであり、これらはすべてペディノ藻 *Pedinomonas minor* の葉緑体ゲノムにもコードされている遺伝子であった。葉緑体ゲノムにおける最大のシンテニー領域であるリボソームタンパク質遺伝子クラスターを *P. minor* 葉緑体ゲノムと比較したところ、TRD 株においてのみ、複数の遺伝子においてコーディング領域のオーバーラップが認められ、また *rps8* については終止コドンが見られず、下流の *rpl36* と融合していることが示唆された。さらに、この遺伝子クラスターにおける遺伝子間領域は *P. minor* において 30~320 bp ほどであるのに対し、TRD 株では 10~50 bp 程度と比較的に短いことが示された。

また、3 つの光化学系 II サブユニット遺伝子 *psbT*、*psbN*、*psbH* は TRD 株の葉緑体ゲノム上にこの順番でコードされていたが、このうち、*psbT* および *psbH* の産物は同一の読み枠にコードされており、*psbT* には明確なストップコドンは確認されなかった。そのため、これら 2 つの遺伝子は *rps8-rpl36* と同様に融合遺伝子となっていると考えられる。

現在のところ、TRD 株の葉緑体全ゲノム配列の解読には至っておらず、ゲノムサイズ・ゲノム全体における GC 含量・コードされる遺伝子数など全体的な特徴は明らかではない。しかし、今回解析した領域に見られる、コーディング領域のオーバーラップや融合タンパク質の存在、比較的に短い遺伝子間領域などの特徴は、TRD 株の葉緑体ゲノムが縮退していることを示唆している。これは TRD 株にペディノ藻が三次共生したことによって、葉緑体ゲノムに縮小圧がかかったためだと考えられる。引き続き、葉緑体ゲノムのシーケンス、解析を続けていき、TRD 株の葉緑体ゲノムに特有の特徴または TRD 株の葉緑体ゲノムの全体的な傾向を明らかにしていく。