

## 単細胞真核生物 *Microheliella maris* の大規模分子系統解析

今泉 彩香 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 橋本 哲男 (筑波大学 生命環境系)

### 【背景・目的】

現存する多様な真核生物が、その共通祖先からどのように進化してきたのかという問いは、生物学において根源的かつ重要な未解決問題の一つである。この問題を解決するには、真核生物の系統的多様性の把握とそれらの間の系統的關係を解明する必要がある。しかし現在のところ、我々は真核生物の多様性を十分に把握しているとは言えず、自然環境中には未知の、特に単細胞真核生物 (原生生物) が多数生息している可能性が高い。また真核生物多様性の大半を占める原生生物には、存在は認識されているが系統的位置が現在のところ不明な系統が多数存在する。

原生生物の 1 種である *Microheliella maris* は 2003 年に初めて報告された (参考文献 1)。これまで顕微鏡による詳細な細胞内微細構造観察 (参考文献 2)、3 から 187 遺伝子データに基づく分子系統解析 (所属研究室未発表データ, 参考文献 2, 3) が行われてきたが、*M. maris* の系統的位置を確定することはできていない。そこで、先行研究よりも系統解析に使用する遺伝子数を増やすことで *M. maris* の系統的位置を精度よく推測することを目指し、本研究では 300 遺伝子以上を含むアライメントの作成とその解析を行った。

### 【材料と方法】

#### 1. トランスクリプトームデータ

*M. maris* のトランスクリプトームデータは、所属研究室にて 2012 年に取得されたものを使用した。この解析では Illumina HiSeq2000 を用い 16,076,394 paired-end リードを得た (合計約 1,624 Mbp)。全リードを Trinity によりアセンブルし、30,305 コンティグを得た。

#### 2. 系統解析用アライメントデータの作成

Dalhousie 大学 (カナダ) 所属の Gordon Lax 博士が参考文献 4 で使用した 351 遺伝子アライメントデータを提供してもらい、*M. maris* の配列データを加えることで新たなアライメントデータを作成した (概要は下記参照)。

まず *M. maris* トランスクリプトームデータを対象に、ヒトおよび襟鞭毛虫の配列を問合せ配列とし、TBLASTN によって各遺伝子の候補配列を選んだ。候補配列は、TransDecoder プログラム及び ExPasy を用いてアミノ酸配列に置換した。候補アミノ酸配列を他種生物の相同配列と MAFFT プログラムによりアライメントし、trimAl プログラムにより系統解析に使用すべきでないと考えられる座位を削除した。*M. maris* 配列をふくむ各単一遺伝子アライメントは FastTree プログラムを用いた最尤法により解析し、最終的な配列の選別を行った。選別後、各単一遺伝子アライメントに対して再度 MAFFT プログラムによるアライメントを行い、Gblocks によって使用すべきでない座位の削除を行った。但し、アライメントに含まれる taxa 数が少なかった 13 遺伝子データは、最終的な複数遺伝子系統解析からは除外した。

#### 3. 大規模分子系統解析

合計 338 個の単一遺伝子アライメントを、SeaView を用いて連結し、合計 98,904 アミノ酸座位からなる最終的なアライメントデータを得た。この「338 遺伝子アライメント」には、*M. maris* をふくむ 113 taxa の真核生物が含まれる。これをもとに IQ-TREE プログラムを用いて最尤法による系統解析を行った。ノンパラメトリックブートストラップ解析を行い、最尤系統樹の信頼性を検証した。また、予備解析として FastTree プログラムを用いて最尤法による系統解析も行った。

### 【結果・考察】

FastTree による 338 遺伝子アライメント (98,904 アミノ酸座位×113 taxa) の系統樹は、所属研究室で行われた 158 遺伝子データによる解析結果と同様、*M. maris* が Cryptista と近縁であることを示唆した。

現在、より頑健に *M. maris* の系統樹位置を検討するため、IQ-TREE を用いた最尤法による系統解析を 338 遺伝子アライメントについて実行中である。

### 【参考文献】

- 1 T. Cavalier-Smith, E.E. Chao. Molecular phylogeny of centrohelid heliozoa, a novel lineage of bikont eukaryotes that arose by ciliary loss. *J Mol Evol*, 56 (2003), pp. 387-396.
- 2 A. Yabuki, E.E. Chao, K. Ishida, T. Cavalier-Smith. *Microheliella maris* (Microhelida ord. n.), an ultrastructurally highly distinctive new axopodial protist species and genus, and the unity of phylum Heliozoa. *Protist*, 163 (2012), pp. 356-388.
- 3 T. Cavalier-Smith, E.E. Chao, R. Lewis. Multiple origins of Heliozoa from flagellate ancestors: New cryptist subphylum Corbihelia, superclass Corbistoma, and monophyly of Haptista, Cryptista, Hacrobia and Chromista. *Mol Phylogenet Evol*, 93 (2015), pp. 331-362.
- 4 G. Lax, Y. Eglit, L. Eme, A.J. Roger, A.G.B. Simpson. Hemimastigophora is a novel supra-kingdom-level lineage of eukaryotes. *Nature*, 564 (2018), pp. 410-414.