

クロララクニオン藻におけるミトコンドリア局在の解糖系酵素の分子進化

下向 雄大 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 平川 泰久 (筑波大学 生命環境系)

【背景と目的】

解糖系は真核生物・原核生物の細胞における中心的な代謝経路で、グルコースからピルビン酸にいたるまでの反応を、主に10個の酵素が触媒している。

哺乳類などでは、解糖系の反応は細胞質で行われる。しかし、真核生物の中の卵菌や珪藻が含まれるストラメノパイルでは、解糖系の後半に関わる酵素であるホスホグリセリン酸キナーゼ (PGK)、ホスホグリセリン酸ムターゼ (PGM)、エノラーゼ (EN)、ピルビン酸キナーゼ (PK) が、細胞質だけではなくミトコンドリアにも局在していることが報告されている¹⁾。また、リザリアに含まれるクロララクニオン藻の一種 *Bigelowiella natans* でも、PGK と EN の酵素がミトコンドリアに局在することが予測されている²⁾。しかし、その他の酵素に関しては、情報が少ない。

本研究では、ストラメノパイル以外の生物にも、ミトコンドリアで働く解糖系が存在するのかを知るために、9種のクロララクニオン藻において、PGK、PGM、EN、PKの遺伝子の探索と分子系統解析による進化の考察を行った。

【材料と方法】

i) 相同性検索

9種のクロララクニオン藻 (*Bigelowiella natans*, *Bigelowiella longifila*, *Partenskyella glossopodia*, *Norrisiella sphaerica*, *Lotharella globose*, *Lotharella oceanica*, *Amorphochlora amoebiformis*, *Chlorarachnion reptans*, *Gymnochlora* sp.) のトランスクリプトームデータを用いて BlastP 検索を行い、PGK、PGM、EN、PK のアミノ酸配列を取得した。先行研究で細胞質に局在が予想された *B. natans* の配列をクエリとして用いた。

ii) 分子系統解析

先行研究²⁾で報告されている分子系統樹に、本研究で得られたクロララクニオン藻の配列を加え、IQ-TREE2 を用いて最尤系統樹の構築を行った。配列のアライメントには、MAFFT と trimAl を用いた。ブートストラップ値 (BP) は、Ultrafast で1000回計算した。

iii) タンパク質の局在予測

ミトコンドリアや色素体へ輸送されるタンパク質には、N末端に特異的な輸送シグナル配列が存在する。3つの解析ソフト (PredSL, Predotar, TargetP) を用いて、クロララクニオン藻の4つの酵素 (PGK, PGM, EN, PK) の輸送シグナル配列の有無を予測した。N末端が欠落した配列は解析から除いた。

【結果】

相同性検索により9種のクロララクニオン藻から、37個のPGK、46個のPGM、26個のEN、35個のPKの配列を得ることができた。

i) PGKの分子系統樹と局在予測

クロララクニオン藻のPGKは5つのクレードにまとめられた。そのうち1つのクレードに含まれる配列がミトコンドリア輸送シグナルをもつことが予測された。そのクレードは、ストラメノパイルに属する *Blastocystis hominis* と姉妹群を形成した。

ii) PGMの分子系統樹と局在予測

クロララクニオン藻のPGMは7つのクレードにまとめられた。そのうち1つのクレードに含まれる配列がミトコンドリア輸送シグナルをもつことが予測された。そのクレードは、ストラメノパイルの *Aureococcus anophagefferens* や *Phaeodactylum tricorutum* と姉妹群を形成した。

iii) ENの分子系統樹と局在予測

クロララクニオン藻のENは4つのクレードにまとめられた。そのうち1つのクレードに含まれる配列がミトコンドリア輸送シグナルをもつことが予測された。そのクレードは、色素体や細胞質に局在が予測される本藻の配列と近縁であった。

iv) PKの分子系統樹と局在予測

クロララクニオン藻のPKは5つのクレードにまとめられた。そのうち1つのクレードに含まれる配列がミトコンドリア輸送シグナルをもつことが予測された。そのクレードは、細胞質や色素体に局在が予測される本藻の配列と近縁であった。

【考察とまとめ】

本研究では、解糖系に関わる4つの酵素を複数種のクロララクニオン藻で探索した結果、全ての酵素において、ミトコンドリアに局在すると思われる配列が見つかった。先行研究で、クロララクニオン藻にも一部の解糖系酵素が存在すると予測されていたが、本研究で解糖系の後半がミトコンドリアに存在することが示唆された。つまり、ストラメノパイル以外の生物にも、ミトコンドリアの解糖系が存在することを示唆する結果である。

分子系統樹を基に各酵素の進化を考察すると、ミトコンドリアに局在予測されたPGMとPGKに関しては、ストラメノパイルとクロララクニオン藻の間で近縁性が示された。つまり、ストラメノパイルとリザリアの共通祖先でミトコンドリア局在のPGMとPGKが存在していた可能性がある。一方、ENとPKに関しては、ストラメノパイルとクロララクニオン藻の間でミトコンドリア局在の配列に近縁性はなく、独立に進化してきたものと考えられる。つまり、ミトコンドリアで働く解糖系の一部は、各生物群で独立に進化した可能性を示唆した。

【引用文献】

- [1] Melania et al. 2017. *BMC Plant Biology*, 17; 241
- [2] Nakamura et al. 2012. *PLOS ONE*, 7; 12