

光合成関連遺伝子から探る緑色渦鞭毛藻 TGD 株の共生藻痕跡核ゲノムの特徴

藤代 彩花 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 中山 卓郎 (筑波大学 生命環境系)

【背景と目的】

葉緑体は、シアノバクテリアと真核生物の細胞内共生（一次共生）によって獲得された。また、一次共生により誕生した植物がさらに別の真核生物と細胞内共生進化を起し、様々な系統の真核生物が光合成能力を獲得した。この真核生物同士の細胞内共生進化は、二次共生と呼ばれる。

二次共生に由来する光合成生物では、多くの系統で共生藻の核は失われ、葉緑体のみが保持されている。一方、二次共生由来のクリプト藻とクロララクニオン藻は、葉緑体に加え、共生藻痕跡核（ヌクレオモルフ、以降 Nm）を持つ。よって、クリプト藻やクロララクニオン藻は二次共生の中間段階にあると考えられている。しかし、近年の研究から、これらの Nm ゲノムは進化の中間段階ではなく、既に進化が完了した状態にあるという見方も示されている。

近年、Sarai et al. (2020)¹ より、Nm を持つ新たな生物として、渦鞭毛藻 TGD 株（以降、TGD）が報告された。同研究¹から、TGD は緑藻（ペディノ藻）に由来する葉緑体を持ち、その Nm ゲノムには、既知の Nm ゲノムからは既に消失している遺伝子を含め、未だに多くの遺伝子が存在することが示唆されている。よって、TGD の Nm ゲノムの縮小進化は現在も進行中である可能性が示唆されている。しかし、TGD の Nm ゲノムに関する知見は主に RNA-seq データを根拠としており、Nm ゲノム配列は得られていなかった。よって、TGD の Nm ゲノムを直接調査した研究はこれまで行われておらず、本藻の Nm ゲノムの特徴や、そこにコードされる遺伝子の実態は不明なままである。

そこで本研究では、TGD の Nm ゲノム配列を探索し、得られた Nm ゲノム配列から TGD の Nm ゲノムコード遺伝子の特徴を調査した。具体的には、TGD の Nm ゲノム候補配列の抽出と一部遺伝子についてのアノテーションを行い、既知の Nm ゲノムや自由生活性のペディノ藻の核ゲノムと比較した。さらに、RNA エディティングが TGD の Nm ゲノムから発見されたため、TGD の Nm ゲノムにおける RNA エディティングの調査も行った。

【方法】

Nm ゲノムコンティグの抽出

先行研究¹の知見に基づいて得られた「Nm ゲノムコード遺伝子候補」の塩基配列をクエリとして、研究室内で作成されていた TGD のゲノムアセンブリに対して相同性検索を行うことで Nm ゲノムコンティグの抽出を行なった。相同性検索結果を精査し、identity が 90 以上かつ Bits score が 100 以上のヒットが 1 つ以上存在するコンティグを Nm ゲノムコンティグと判断した。

Nm ゲノム遺伝子のアノテーションとペディノ藻遺伝子との比較

既知の Nm ゲノムからは光合成関連遺伝子が消失しているのに対し、TGD の Nm ゲノムには複数残存していることが示唆されていた¹。よって本研究では、Nm ゲノム上の光合成関連遺伝子に着目して構造アノテーションを行なった。先行研究で得られた「Nm コード光合成関連遺伝子候補」をクエリとした相同性検索

を実施し、Nm ゲノムコンティグにコードされる遺伝子を探索した。検出された Nm ゲノム遺伝子については、手動による構造アノテーションを行い、遺伝子モデルを決定し、CDS 長、イントロン数、イントロン平均長を算出した。

今回アノテーションを行った Nm ゲノム遺伝子について、自由生活性ペディノ藻 *Pedinomonas minor* のゲノム情報から相同遺伝子を探索した。検出された *P. minor* の相同配列に対してそれぞれ CDS 長、イントロン数、イントロン平均長を算出し、TGD の光合成関連遺伝子と比較した。

Nm ゲノムにおける RNA エディティングの探索

TGD の RNA-seq リードを TGD ゲノムコンティグにマッピングしたデータをもとに、BCFtools を用いて、TGD の転写物と Nm ゲノムコンティグで相違が見られる座位を特定した。その後、Nm ゲノム遺伝子について、エディティング数およびエディティングの頻度（エディティングの数 / CDS 長）を算出した。

【結果と考察】

TGD の Nm ゲノムコンティグは 28 個存在し、その総塩基長は 1.80 Mbp と、クリプト藻の Nm ゲノムの総塩基長（約 0.45~0.87 Mbp）や、クロララクニオン藻の Nm ゲノムの総塩基長（約 0.33~1 Mbp）を上回った。TGD の光合成関連遺伝子は、宿主核ゲノムと Nm ゲノムで合わせて 109 個存在すると予想されているが、本研究では、そのうち 24 個が Nm ゲノムコンティグに存在することが示された。

TGD の Nm ゲノムコード光合成関連遺伝子と *P. minor* の相同配列の比較では、CDS 長において 2 つのゲノム間で大きな違いはほとんど見られなかった。一方、イントロン平均長では顕著な違いが見られ、*P. minor* では平均 231 bp なのに対し TGD では平均 93 bp と、*P. minor* の半分以下であった。既知の Nm ゲノムにおいて、クリプト藻はイントロンがほとんどなく、クロララクニオン藻はイントロン長が 18~23 nt であることが知られているが、今回 TGD の Nm ゲノム遺伝子に見られたイントロンはこれよりも顕著に長い。

上記の結果は、TGD では二次共生に伴い Nm ゲノムの縮退が進行しているが、既知の Nm ゲノムよりは縮退が進んでおらず、TGD が Nm ゲノム縮退の中間段階にあることを示唆する。

TGD の Nm ゲノムにおける RNA エディティングの調査では、1 つの遺伝子を除いてすべての Nm ゲノム遺伝子で RNA エディティングが確認された。特に、U から C への置換と A から G への置換が多数を占め、コード領域の 100 から 1000 bp に 1 つの頻度で RNA エディティングが起きていることが示唆された。

今後は、Nm ゲノムコンティグ全体でアノテーションを行い、同様に比較解析や RNA エディティングの調査を行う予定である。

【参考文献】

1. Sarai et al. (2020). *Proc Natl Acad Sci USA*, 117, 5364-5375