

種分化後に核に移動した2つのミトコンドリア遺伝子

斎木 穂歌（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】

ミトコンドリアは、好気性細菌の細胞内共生によって獲得された細胞内小器官で、共生細菌に由来する独自の DNA であるミトコンドリアゲノムをもっている。しかし、そのゲノムサイズは、現存する好気性細菌のものとは大きく縮小している。これは、細胞内共生の過程で、共生細菌のゲノムにあった遺伝子の多くが欠失したり、核ゲノムへと移動したりしたことに起因する。そのためミトコンドリアで機能するタンパク質は、ミトコンドリアゲノムと核ゲノムにコードされている。ミトコンドリアゲノムにコードされたタンパク質と異なり、核ゲノムにコードされたミトコンドリア標的タンパク質は、一般的にN末端側に伸長配列をもっている。その配列がミトコンドリアへの輸送シグナルとして働いており、標的の後に成熟タンパク質から切り離される。

細胞内共生における遺伝子の移動や輸送シグナル配列の獲得は、太古の昔に遡る事象で、その過程の詳細を知ることは困難である。しかし、ミトコンドリアゲノムから核ゲノムへの遺伝子の移動は断続的に起こっており、生物間で比較してみるとミトコンドリアゲノムに残っている遺伝子には多様性が見られる。本研究では近縁な生物種間でゲノムを比較することで、種分化が起こった後の最近にミトコンドリアから核ゲノムへと移動した遺伝子の探索を行い、オルガネラ遺伝子の進化過程を推定することを目的とした。

本研究で用いたクロララクニオン藻は、スーパーグループ・リザリアのケルコゾア門に属する原生生物が緑藻を細胞内に取り込むことで葉緑体を獲得した海産の単細胞藻類である。その証拠として、共生緑藻の核の痕跡である「ヌクレオモルフ」が葉緑体に付随している。そのため本藻は、細胞内共生によるオルガネラ進化を研究するうえで、興味深い生物の一つである。これまでにクロララクニオン藻では *Bigelowiella natans*、*Lotharella oceanica*、*Amorphochlora amoebiformis* の三種のミトコンドリアゲノム配列が報告されている。核ゲノムにおいても、*B. natans* に加えて、*A. amoebiformis* での解読が所属研究室の先行研究で行われている。本研究では三種の中で唯一遺伝子導入技術が確立している *A. amoebiformis* において、ミトコンドリアゲノムから核ゲノムへと移動した可能性のある遺伝子を探索した。

【方法】

1) 遺伝子探索

まずは、公開されているクロララクニオン藻三種のミトコンドリアゲノムにコードされている遺伝子の構成を比較することで、*A. amoebiformis* のミトコンドリアゲノムで欠失した遺伝子を探した。次にそれらの遺伝子が核ゲノムへと移動している可能性を検証するために、*A. amoebiformis* のドラフト株ゲノム配列に対して同源性検索を行った。

2) 分子系統解析

NCBI のデータベースから、該当遺伝子のホモログ配列を複数の系統群から収集し、MAFFT と trimAI を用いて配列のアライメントを行い IQ-TREE2 により最尤系統樹を構築した。トポロジーの信頼性は 300 回の Bootstrap 解析によって検証した。

3) 蛍光局在解析

核コードの該当遺伝子から翻訳されるタンパク質がミトコンドリアへ標的されているかを確かめるため、蛍光タンパク質を用いた細胞内局在解析を行った。該当遺伝子に yellow fluorescent protein (YFP) を連結したものを *A. amoebiformis* の細胞内で発現させ、その蛍光局在を共焦点レーザー顕微鏡 LSM510 により観察した。ミトコンドリアの蛍光標識には、既知のミトコンドリア局在タンパク質と cyan fluorescent protein (CFP) の融合タンパク質を用いた。

【結果・考察】

A. amoebiformis と *B. natans*、*L. oceanica* のミトコンドリアゲノムを比較した結果、*A. amoebiformis* のミトコンドリアゲノムから2つの遺伝子が欠失しており、それらの遺伝子に相同な配列は本種の核ゲノム上に存在することがわかった。分子系統解析により、二つの核遺伝子は *B. natans* と *L. oceanica* のミトコンドリア遺伝子に近縁であることが示唆された。興味深いことに、どちらのタンパク質にも N 末端側に伸長した配列が見られなかった一方で、蛍光局在解析の結果、二つの核コードタンパク質はミトコンドリアへと輸送されることが示された。

以上より、*A. amoebiformis* の核ゲノムで見つかった二つの遺伝子は、種分化後にミトコンドリアゲノムから核ゲノムへと移動したものであることがわかった。つまり、クロララクニオン藻において、ミトコンドリアから核への遺伝子移動は現在進行形であると考えられる。実際、*L. oceanica* でも *A. amoebiformis* とは違う二つのミトコンドリア遺伝子が核へと移動していることが先行研究で報告されている。また、移動した核コードタンパク質はN末端側に伸長配列をもたないにも関わらず、ミトコンドリアへと輸送されていることがわかった。おそらく、成熟タンパク質の一部が輸送シグナルとして働いていることが考えられる。これらの結果から、遺伝子移動の初期段階では、従来のミトコンドリア輸送シグナルの獲得はなく、既存の成熟タンパク質の一部を利用している可能性が示唆された。本研究は、オルガネラから核ゲノムへの遺伝子移動の過程や輸送シグナル配列の進化を理解するのに貢献するだろう。

【今後の研究の展望】

今後は、未だミトコンドリアゲノム・核ゲノムが解読されていないクロララクニオン藻や近縁のケルコゾア原生生物のゲノムを解読し、同様の比較・検証を行う予定である。N 末端の伸長配列の獲得なしでのミトコンドリアゲノムから核ゲノムへの遺伝子移動が他のクロララクニオン藻でも起こっているのか、N 末端の伸長配列の獲得を伴う遺伝子移動はないのか、また、タンパク質がミトコンドリアを標的にしない遺伝子移動はあるのか、といった疑問に答えていきたい。