



## 新奇 DNA ポリメラーゼ rdxPolA は、 古のミトコンドリア DNA 維持装置の遺産か？

原田 亮<sup>1,2\*</sup>・稲垣 祐司<sup>3</sup>

<sup>1</sup>筑波大学理工情報生命学術院生命地球科学研究群生物学学位プログラム  
(〒 305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1)

<sup>2</sup>ダルハウジー大学医学部生化学分子生物学科  
(5850 College Street, Halifax, Nova Scotia, B3H 4R2, Canada)

<sup>3</sup>筑波大学計算科学研究センター (〒 305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1)

Ryo Harada<sup>1,2\*</sup> and Yuji Inagaki<sup>3</sup>: Is rdxPolA a piece of the ancient system for DNA maintenance in mitochondria? Jpn. J. Phycol. (Sôru) 72: 107–114, July 10, 2024

In eukaryotic cells, there are two genome-containing organelles, mitochondria and plastids, that were derived from an  $\alpha$ -proteobacterium and a cyanobacterium, respectively. In both organelles, the genomes must be maintained by nucleus-encoded, organelle-localized DNA polymerases (DNAPs). Despite DNAPs playing a core role in DNA replication and repair, the evolution of organelle-localized DNAPs has not been fully understood until recently. In particular, the DNAPs originally used in the endosymbiotic bacteria giving rise to mitochondria and plastids had not been discovered. Recently, our comprehensive search for DNAPs in eukaryotes revealed the diversity and distribution of organelle-localized DNAPs, and led to the discovery of rdxPolA, a candidate DNAP that was the direct descendant of the DNAP used in the  $\alpha$ -proteobacterium that gave rise to mitochondria. We here present an overview of organelle-localized DNAPs in eukaryotes and a new evolutionary scenario for the early evolution of mitochondrion-localized DNAPs in light of the discovery of rdxPolA.

*Key Index Words: DNA polymerase, endosymbiosis, last eukaryotic common ancestor, mitochondrion, plastid*

<sup>1</sup>Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan

<sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Medicine, Dalhousie University, 5850 College Street, Halifax, Nova Scotia, B3H 4R2, Canada

<sup>3</sup>Center for Computational Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan

\*Author for correspondence: hrd.ryo.res@gmail.com

### はじめに

ミトコンドリアは、ほぼ全ての真核生物に保存されている細胞内小器官（オルガネラ）であり、酸化的リン酸化による ATP 合成など複数の重要な細胞機能を担う (Roger *et al.* 2017)。ミトコンドリアの起源は、真核生物細胞内に共生した  $\alpha$  プロテオバクテリアもしくはそれに近縁な細菌であったと考えられる。この真核生物と  $\alpha$  プロテオバクテリア関連細菌の共生イベントは、直近の真核生物の共通祖先 (Last Eukaryotic Common Ancestor: LECA) 以前に遡る (Raval *et al.* 2022)。色素体は光合成などを担うオルガネラであり、緑色植物、紅藻、灰色藻から成る一次植物の共通祖先と *Gloeomargarita lithophora* に近縁なシアノバクテリアとの細胞内共生に由来する (Ponce-Toledo *et al.* 2017)。その後の真核生物進化において、複数の異なる従属栄養性系統が、一次植物類のメンバーである単細胞藻を細胞内共生させ葉緑体化することで二次植物が誕生した (Sibbald & Archibald 2020)。二次植物がもつ緑藻あるいは紅藻由来葉緑体は二次色素体と総称される。単系統を形成

する一次植物と異なり、二次植物は真核生物の系統的に離れたグループに分布している。これは、二次色素体の起源となった共生藻の種類が異なることに加え、二次共生が系統的に異なる宿主系統で起こったことが原因である。LECA から垂直的に伝播したミトコンドリアと真核生物の進化上細胞内共生を介して水平的に伝播した色素体は、真核生物の起源と多様化と密接に関連しており、真核生物進化を考えるうえで重要な要素である。

ミトコンドリアと色素体は細菌に起源をもつため、核ゲノムとは異なる細菌型ゲノム (オルガネラゲノム) を保持している。オルガネラゲノムはその起源である自由生活細菌 ( $\alpha$  プロテオバクテリア及びシアノバクテリア) と比較すると大幅に縮退している。そのため、オルガネラの維持や機能に関わるタンパク質のほとんどは、真核生物の核ゲノムにコードされ、核からの転写後、細胞質における翻訳を経てオルガネラに輸送されるオルガネラ局在タンパク質である。かつて共生細菌のゲノムであったオルガネラゲノムにコードされるタ

ンパク質は、当然共生細菌由来である。しかし、核コードオルガネラ局在タンパク質のうち、共生細菌起源と見做すことができるタンパク質の割合は限定的である (Gray 2015)。これは、共生細菌がオルガネラ化しその後の真核生物の進化とともに、オルガネラプロテオームがさまざまな進化的起源をもつタンパク質から構成されるに至ったことを示唆する。

真核生物の細胞内に共生した祖先細菌がどのように現在のオルガネラへと変容していったのかを解明するためには、個々のオルガネラ局在タンパク質の進化を明らかにし、オルガネラプロテオームがどう変遷してきたか全体像を把握する必要がある。例えば、若干の例外を除きオルガネラゲノムには DNA 複製に関わるタンパク質はコードされていない。したがって、核ゲノムコードタンパク質に支配されるオルガネラゲノム複製機構は多様な進化的背景をもつタンパク質で構成されている可能性が高い。しかし、オルガネラの DNA 複製に関わるタンパク質の多様性と進化も不明な点が多く残されている。本稿では、広範な真核生物に対する、核にコードされたオルガネラに局在する DNA 複製関連タンパク質の多様性と進化について、近年我々が報告した成果 (Harada *et al.* 2024) を中心に解説する。

### オルガネラにおける DNA 複製と DNA ポリメラーゼ

DNA ポリメラーゼ (DNAP) は、一本鎖 DNA を鋳型として相補的な新生鎖を複製する酵素であり、ゲノム複製および修復機構の中核である。DNAP は配列の類似性に基づき、系統的に異なる 6 つのファミリーに分類され、オルガネラ局在 DNAP は細菌の DNA ポリメラーゼ I (PolI) に代表されるファミリー A に属する (Filée *et al.* 2002)。一方で、細菌のゲノム複製ではファミリー C に属する DNA ポリメラーゼ III (PolIII) がリーディング鎖を連続的に複製し、ラギング鎖は PolIII によって合成される岡崎フラグメント間のギャップを PolI が埋めることで複製される。ミトコンドリアと色素体の祖先である  $\alpha$  プロテオバクテリアとシアノバクテリアが細胞内共生した直後は、共生細菌のゲノム複製機構は細菌タイプでありファミリー C DNAP が主要な役割を担っていたはずである。しかし、現在のオルガネラではファミリー C DNAP は存在せずファミリー A DNAP のみがゲノム複製を担っている (Moriyama & Sato 2014, Hirakawa & Watanabe 2019)。つまり、真核生物の進化の中でオルガネラのゲノム複製機構の大幅な改変が起こったと考えられる (図 1)。

これまでに真核生物では系統的に異なる 5 種類のファミリー A オルガネラ局在 DNAP が発見されている (Kimura *et al.* 2002, Klingbeil *et al.* 2002, Graziewicz *et al.* 2006, Moriyama *et al.* 2008, 2011, Mukhopadhyay *et al.* 2009, Moriyama & Sato 2014, Janouškovec *et al.* 2015, Hirakawa & Watanabe 2019, Harada *et al.* 2020, Harada & Inagaki 2021)。これらの 5 種類のオルガネラ局在 DNAP は真核生物における系統的分布が異なり、互いに近縁性は見られない。この中で plant and protist organellar DNA polymerase (POP) と呼ば

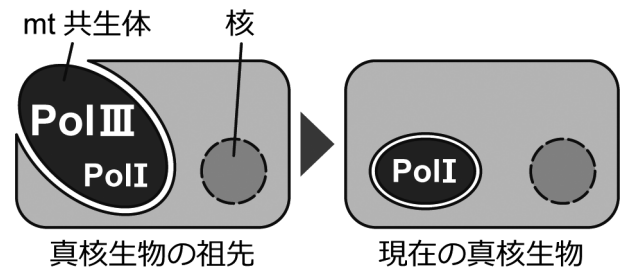


図 1. ミトコンドリア共生と DNAP 進化の概要図。

れる DNAP は広範な真核生物から検出され、系統によってミトコンドリア、色素体、もしくはその両方に局在することが報告されている (Moriyama *et al.* 2011, Hirakawa & Watanabe 2019)。細菌、古細菌、真核生物、ウイルスのもつ既知の DNAP のいずれも、POP に明らかな近縁性を示さず、その起源は不明である (Harada & Inagaki 2021)。一方で、その他の既知のオルガネラ局在 DNAP は系統特異的であり、それぞれ特定の細菌やウイルスの PolI と近縁性をもつ。従って、既知のオルガネラ局在 DNAP は、真核生物がある程度多様化したのち、細菌・ウイルスから特定の真核生物系統へ PolI 遺伝子が水平伝播したことにより成立したと解釈できる。また、いずれの既知のオルガネラ局在 DNAP も  $\alpha$  プロテオバクテリアやシアノバクテリアの PolI とは近縁性がないため、ミトコンドリアと色素体の起源となった細菌共生体もっていた PolI は消失し、系統毎に独立なオルガネラ局在 DNAP が獲得されたと考えざるを得ない。

これまでに広範な真核生物系統に渡ってオルガネラ局在 DNAP を探索した研究はなく、特定の生物種あるいは系統群に関する限定的な知見しかなかった。多くの系統では、どのような DNAP によりオルガネラゲノムが複製されているか不明であり、オルガネラ局在 DNAP の多様性に関する理解は十分ではなかった。実際に Harada *et al.* (2024) 以前には、既知の 5 種類のいずれにも属さないオルガネラ局在 DNAP が一部の生物種から報告されている (Moriyama *et al.* 2008, Reesey 2017, Gray *et al.* 2020)。Harada *et al.* (2024) では、真核生物におけるファミリー A DNAP の包括的な調査を行い、オルガネラ局在 DNAP の多様性と進化の全体像をとらえることが目指された。本稿では Harada *et al.* (2024) で報告された真核生物における DNAP の多様性を概観し、その中でも特に興味深いミトコンドリア共生体の直接的な遺産と思われる DNAP について紹介する。

### オルガネラ局在 DNAP の多様性

Harada *et al.* (2024) では GenBank, SRA, EukProt 等のデータベースから系統的に広範な真核生物のゲノム・トランスクリプトームを取得し、ファミリー A DNAP を探索した (Sayers *et al.* 2021, Richter *et al.* 2022)。得られた DNAP 配列を既知の真核生物 DNAP 配列や多様なバクテリア及びウイルスの DNAP 配列と合わせて、最尤法分子系統解析によって系統関

係を復元した (図 2)。その結果に基づき、真核生物におけるファミリー A DNAP は 11 の新規タイプを含む 17 タイプに分類された (Harada *et al.* 2024)。さらにそれぞれのタイプの細胞内局在について調査したところ、17 タイプ中 12 タイプがオルガネラに局在すると考えられた (図 3)。また新規タイプ毎に系統解析が行われ、多くは真核生物の一部の系統において遺伝子水平転移によって二次的に確立された DNAP であると推測された [詳細は Harada *et al.* (2024) を参照してほしい]。上記の結果は、真核生物のもつファミリー A DNAP はこれまで考えられていたよりも遥かに多様であり、真核生物の異なる系統で独自のオルガネラ局在 DNAP が成立したことが示された。これ以降、それぞれのオルガネラ局在 DNAP の概要について紹介する。

### 色素体局在 DNAP

今のところ 5 タイプの DNAP が色素体に局在することが判明した。一次色素体の起源となったシアノバクテリア共生体に直接由来する色素体局在 DNAP が存在するならば、色素体に最も近縁であると考えられるシアノバクテリア *G. lithophora* の PolII に明らかな近縁性をもたずである (Ponce-Toledo *et al.* 2017)。しかし、現在のところそのような色素体局在 DNAP は発見されていない。一次植物の色素体ゲノムの複製維持には POP が使われている (Hirakawa & Watanabe 2019)。従って一次共生が起こり現存の一次植物類の多様化が起こる前に、祖先的 DNAP (おそらく PolII) から POP への置換が起こったと考えられる。

先行研究で知られていた通り、色素体をもつ系統の多くはミトコンドリアと色素体に両局在する、もしくは色素体のみ局在する POP をもっている (Hirakawa & Watanabe 2019, Harada *et al.* 2024)。しかし、色素体ゲノムの複製維持に POP を含む複数タイプの DNAP を使用する系統も存在する。紅藻由来二次色素体をもつアピコンプレクサ類とその近縁系統では、POP ではなく細菌の PolII に起源をもつ plastid replication and repair enzyme complex (PREX) が色素体に局在する (Seow *et al.* 2005, Mukhopadhyay *et al.* 2009, Hirakawa & Watanabe 2019, Harada *et al.* 2024)。紅藻類と灰色藻類は、両局在 POP とともに Rhodothermales に属する細菌に由来する色素体局在 DNAP として rgPolA をもつ (Moriyama *et al.* 2008, Harada *et al.* 2024)。Moriyama *et al.* (2008) により rgPolA は紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の色素体局在 DNAP として報告されていたが、Harada *et al.* (2024) ではこの DNAP は紅藻類だけでなく灰色藻類にも分布していることが判明した。ユーグレナ類は、細胞内共生したピラミモナス緑藻を葉緑体化したことが分かっている (Turmel *et al.* 2009)。興味深いことに、ユーグレナ類の二次葉緑体にはその緑藻共生体から獲得したと考えられる eugPolA が局在する (Novák Vanclová *et al.* 2020, Harada *et al.* 2024)。クリプト藻類は 2 種類の POP をもち、それぞれミトコンドリアと紅藻共生体の残存核 (ヌクレオモルフ) に局在する (Hirakawa

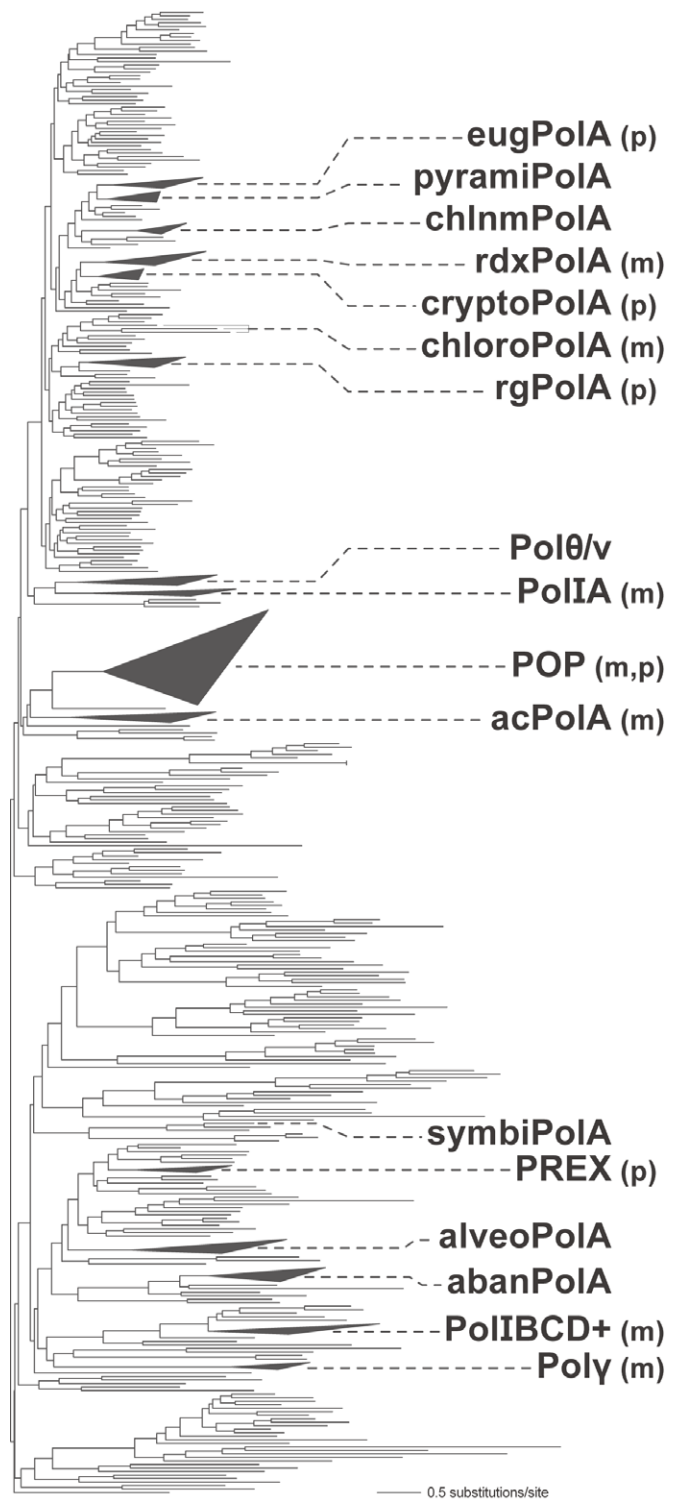


図 2. ファミリー A DNAP の最尤系統樹。Harada & Inagaki (2023) 及び Harada *et al.* (2024) を参考に 422 配列 364 アミノ酸残基から構成されるアライメントを IQ-TREE (Minh *et al.* 2020) を用いて LG+C60+F+G モデルで解析した。真核生物のもつ DNAP タイプは三角で表され、オルガネラ局在が判明しているあるいは予想される場合は括弧内に、“m” (ミトコンドリア局在) あるいは “p” (色素体局在) で表した。

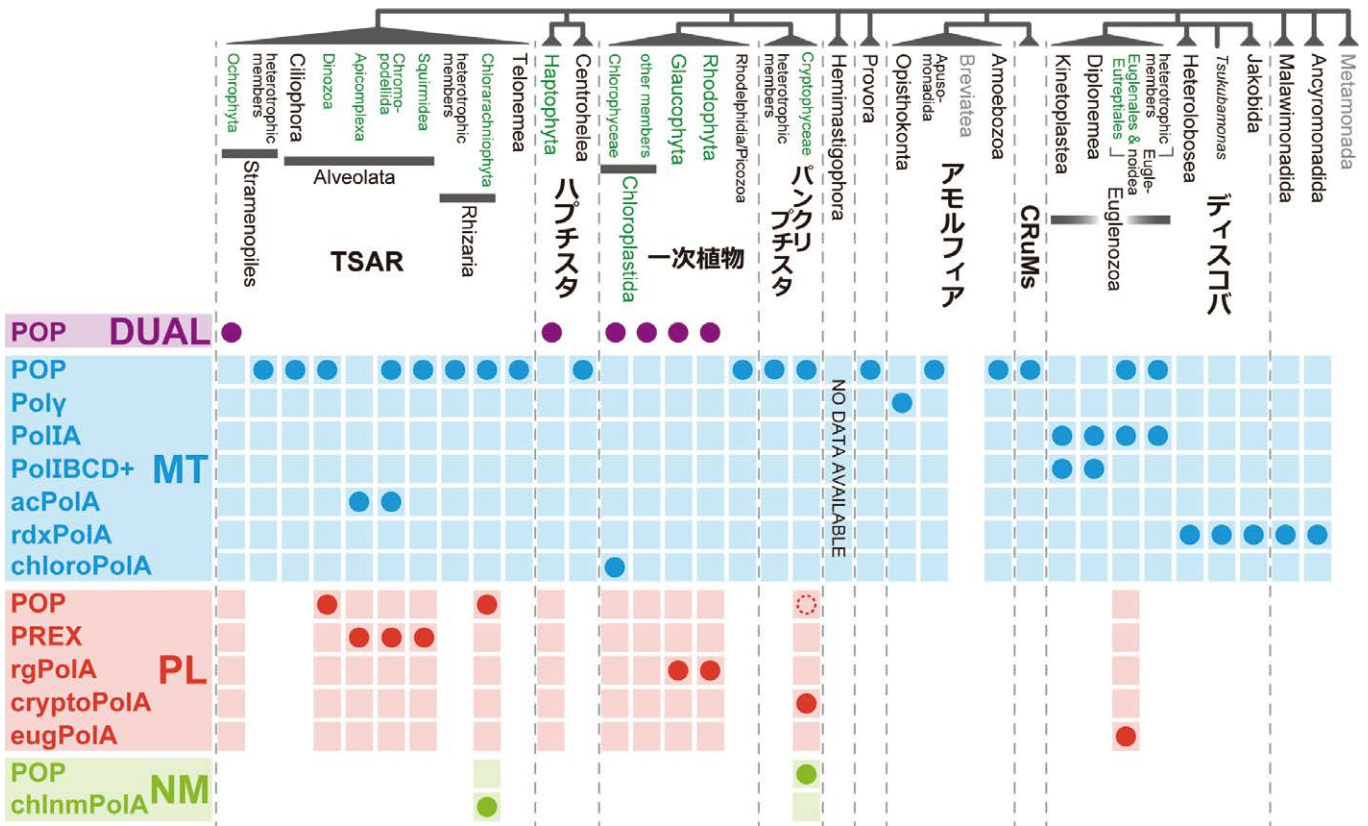


図3. オルガネラ局在 DNAP の多様性と分布. 図上部は真核生物の代表的な系統とその系統関係を、図下部は真核系統ごとに検出されるオルガネラ局在 DNAP の有無を示した. 単一の POP がミトコンドリアと色素体に両局在 (DUAL) している場合は紫の丸で、複数の POP がミトコンドリア (MT) や色素体 (PL) に局在している場合は青と赤の丸で個別に示した. POP 以外の DNAP の有無については、ミトコンドリア局在 (MT) の場合は青、色素体局在 (PL) の場合は赤、ヌクレオモルフ局在 (NM) の場合は緑の丸で示した.

& Watanabe 2019, Harada *et al.* 2024). また、クリプト藻類は POP に加えて  $\alpha$  プロテオバクテリア PolII に由来する cryptoPolA が色素体に局在することも明らかになっている。

### ミトコンドリア局在 DNAP

これまでの研究により、ミトコンドリアに局在する DNAP は 7 タイプが知られている。多くの真核生物系統はミトコンドリア局在 DNAP として POP をもっている (Moriyama & Sato 2014, Hirakawa & Watanabe 2019)。オピストコンタに特異的なミトコンドリア局在 DNAP は Poly であり、オピストコンタの共通祖先で二次的に獲得されたと考えられる (Graziewicz *et al.* 2006)。また、Poly に明らかな近縁性を示す DNAP は発見されていないが、T-odd (T3 や T7) バクテリアオフアーチの PolI が起源であると提案されている (Filée *et al.* 2002)。アピコンプレキサ類とその近縁系統は、ミトコンドリア局在 DNAP として acPolA をもつ (起源は不明) (Reesey 2017, Harada *et al.* 2024)。ディスコバの一部であるユーグレノゾアは系統的に異なる 3 タイプのミトコンドリア局在 DNAP である PolIA, PolIIBCDD+, POP をもつ (Klingbeil *et al.* 2002, Harada *et al.* 2020)。PolIA はユーグレノゾアに広く分布しており、真核生物が普遍的にもつ核局在 DNAP で

ある Pol $\theta$  に起源をもつ (Harada *et al.* 2020)。PolIIBCDD+ は系統的に近縁な複数のミトコンドリア局在 DNAP から構成されており、ユーグレノゾアの中でもキネトプラスチダ類とディプロネマ類に特有である。まだ確証は得られていないが、PolIIBCDD+ に属する DNAP はユーグレナ類にも分布している可能性がある (Harada & Inagaki 2023)。PolIIBCDD+ はカウドウイルス目 Autographivirus の PolII に起源をもち、キネトプラスチダ類とディプロネマ類の共通祖先 (あるいはユーグレノゾアの共通祖先) において LGT (lateral gene transfer) によって獲得され、その祖先 DNAP は複数回の遺伝子重複を経て多様化したと考えられる (Harada & Inagaki 2021)。ユーグレナ類はミトコンドリア局在 DNAP として PolIA に加えて POP をもつ。

rdxPolA は上述した多くの DNAP と異なり、POP ほどではないが真核生物内で広い分布を示す (Harada *et al.* 2024)。rdxPolA はユーグレノゾアを除くディスコバ、マラウィモナス類、アンキロモナス類から検出されたミトコンドリア局在 DNAP である。これら 3 系統はお互いに近縁でなく、色素体をもたない単細胞従属栄養系統である。rdxPolA とそれに近縁なファミリー A DNAP を用いた系統解析では rdxPolA は  $\alpha$  プロテオバクテリアの PolII と近縁性を示した (図 4)。

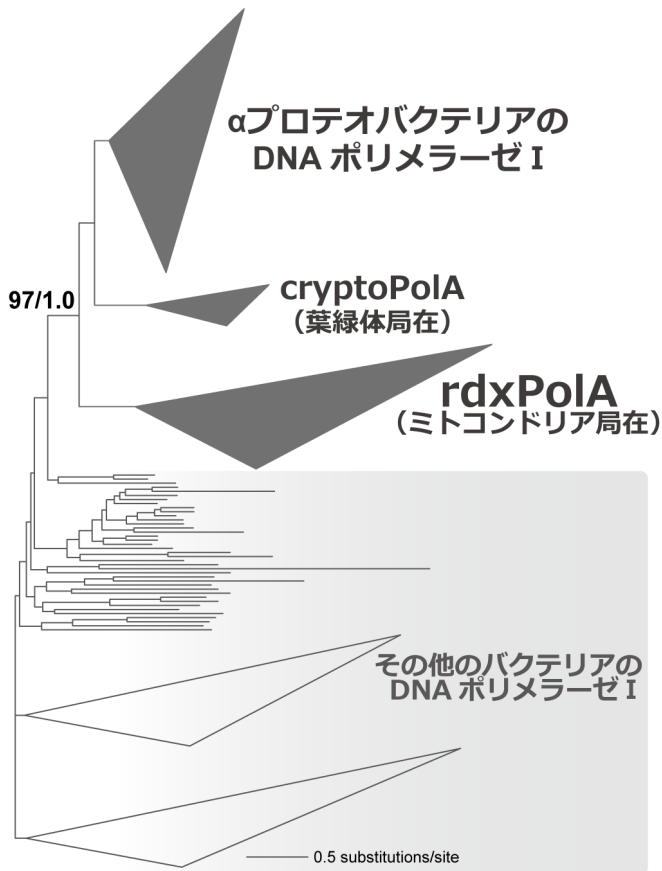


図 4. rdxPolA とそれに近縁なファミリー A DNAP の最尤系統樹. IQ-TREE を用いて LG+C60+F+R10 モデルで解析した、229 配列 782 アミノ酸残基から構成されるアライメントに基づく最尤系統樹 (Harada *et al.* (2024) を参考に作成). rdxPolA と  $\alpha$ プロテオバクテリアの PolI の近縁性を示す枝は最尤法 PMSF ブーストストラップ解析及びベイズ法系統解析において高い統計的支持を受けた.

rdxPolA と同様に cryptopolA も  $\alpha$ プロテオバクテリアと近縁性を示したが、cryptopolA をもつクリプト藻類と rdxPolA をもつ 3 系統は、真核生物系統樹において互いに近縁ではなく、cryptopolA は色素体局在である。これらの相違点から、Harada *et al.* (2024) では rdxPolA と cryptopolA は独立に  $\alpha$ プロテオバクテリアの PolI から確立されたと解釈されている。つまり、rdxPolA は唯一の  $\alpha$ プロテオバクテリアの PolI に起源をもつミトコンドリア局在 DNAP である。rdxPolA はミトコンドリアの起源となった  $\alpha$ プロテオバクテリア共生体もっていた PolI の直系の子孫 DNAP であり、LECA 以前から受け継がれてきた祖先的ミトコンドリア局在 DNAP だとする提案が Harada *et al.* (2024) ではなされた。

### 真核生物初期進化と 2 つの祖先的ミトコンドリア局在 DNAP : POP と rdxPolA

ここまでの研究で、真核生物におけるオルガネラ局在 DNAP の多様性と起源がある程度明らかになった。オルガネラ局在 DNAP の多くのタイプは真核生物の一部の系統に限定的で

り、真核生物の多様化が起こった後に獲得された「新しい」DNAP である。それに対し、近縁とは考えにくい複数の系統に分布する DNAP は POP と rdxPolA の 2 種類だけである。これまで、その分布の広さから POP が LECA ですでに確立されていたミトコンドリア局在 DNAP であると提案されていた (Moriyama *et al.* 2011)。しかし、ミトコンドリア共生体に由来する可能性がある rdxPolA の発見により、真核生物の初期進化段階におけるミトコンドリア局在 DNAP の進化シナリオを再考したい。

まず、真核生物において POP と rdxPolA がどのように分布しているかを把握するためには、rdxPolA をもつ系統 (rdxPolA 系統) と POP をもつ系統 (POP 系統) の正確な系統関係を知る必要がある。近年、広範な真核生物に保存されている 300 を超える遺伝子を用いた大規模分子系統解析において、真核生物はディアフォレティケス、アモルフィアと CRuMs の姉妹群、ディスコバ、メタモナス類、マラウィモナス類、アンキロモナス類の 6 つの大きなクレードに収斂する (Brown *et al.* 2018, Lax *et al.* 2018, Yazaki *et al.* 2020, Tice *et al.* 2021, Yazaki *et al.* 2022)。これまでに判明したミトコンドリア局在 DNAP の分布から、6 系統のそれぞれの共通祖先がミトコンドリア局在 DNAP としてどの DNAP を用いていたか推測すると、ディスコバ、マラウィモナス類、アンキロモナス類は rdxPolA、ディアフォレティケスとアモルフィア + CRuMs は POP、メタモナス類はミトコンドリアゲノムを失っているためミトコンドリア局在 DNAP をもたないと考えられる。これらの 6 系統の系統関係は、系統解析に用いる遺伝子や生物種に依存して先行研究ごとに異なるため、現在も議論の余地が残っている。従って、6 系統の近縁関係により現在の rdxPolA と POP の分布を説明する進化シナリオは 2 パターン考えられる。

まず rdxPolA 系統 (ディスコバ、マラウィモナス類、アンキロモナス類) と POP 系統 (ディアフォレティケスとアモルフィア + CRuMs) が真核生物系統樹上で混在せず、お互いに排他的な分布を示す場合を想定する。この場合、rdxPolA と POP のどちらか一方が LECA に存在し、真核生物の進化の中でもう一方の DNAP への置換が一度だけ起こったと考えられる。例えば、POP 系統であるディアフォレティケスとアモルフィア + CRuMs が単系統を形成した場合のミトコンドリア局在 DNAP 進化シナリオは図 5 右のようになる。このシナリオではミトコンドリア共生体の PolI を起源とする rdxPolA が祖先的であると仮定している。rdxPolA は、メタモナス類では消失し、ディアフォレティケスとアモルフィア + CRuMs の共通祖先において POP に置換されたことで現在のミトコンドリア局在 DNAP の分布が成立する。

もう一方のパターンとして、真核生物系統樹上で rdxPolA 系統と POP 系統がどちらも排他的に分布しない可能性を考えよう。rdxPolA と POP が真核生物の系統樹上で混在する場合、まず LECA では POP と rdxPolA の共存を仮定する必要がある。これは rdxPolA 系統と POP 系統のそれぞれの共通祖先が LECA まで、あるいは LECA に近い真核生物系統樹の枝まで

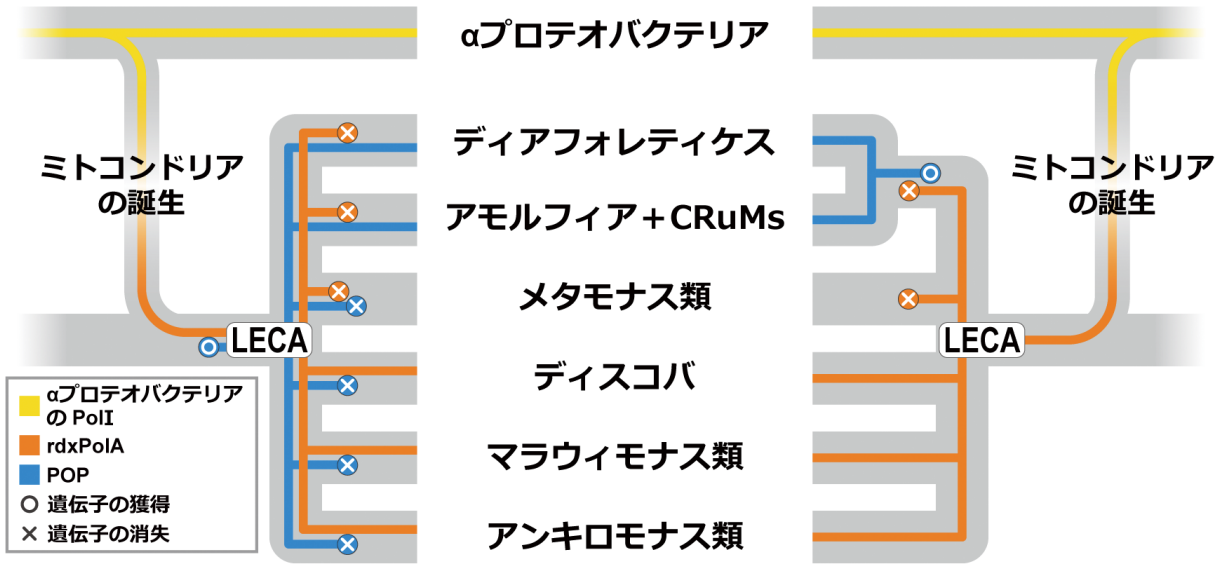


図5. 真核生物初期進化におけるミトコンドリア局在 DNAP の進化シナリオ. 2つの主要なミトコンドリア局在 DNAP である POP と rdxPolA が、どのようにして現在の分布になったのかを示す2つのシナリオ. オレンジ、青、黄色の線はそれぞれ、rdxPolA、POP、 $\alpha$ プロテオバクテリアの PolI の進化の軌跡を表す. (右) POP をもつ系統であるディアフォレティケスとアモルフィア + CRuMs が単系統になる場合、rdxPolA から POP への置換が一度起こったシンプルなシナリオが考えられる. (左) POP 系統と rdxPolA 系統が真核生物系統樹で混在している場合、真核生物の共通祖先である LECA の時点で rdxPolA と POP の両方が確立されており、系統ごとに消失が起こったと考えられる.

遡るためである。その後の真核生物の進化において、系統ごとに2つのDNAPのうち片方が二次的に消失したということになる(図5左)。

では実際の大規模系統解析において、rdxPolA 系統と POP 系統はどのように分布しているだろうか。これまでに行われた真核生物系統解析では rdxPolA 系統もしくは POP 系統が単系統を形成する樹形が復元されたことはない (Brown *et al.* 2018, Lax *et al.* 2018, Yazaki *et al.* 2020, Tice *et al.* 2021, Yazaki *et al.* 2022)。Harada *et al.* (2024) では 340 遺伝子からなる真核生物系統解析用アライメントを作成し、真核生物初期進化関係を推測している。結果として得られた無根系統樹はメタモナス類の位置に関わらず、rdxPolA 系統もしくは POP 系統の単系統性を復元しなかった(図6)。さらに、rdxPolA 系統または POP 系統が単系統になる樹形が復元される可能性を統計的に検証したが、どちらも棄却された。したがって、現時点では rdxPolA 系統と POP 系統はどちらも単系統を形成するとは考えにくい。この大規模系統解析結果をミトコンドリア局在 DNAP の進化へと演繹すると、LECA の時点で rdxPolA と POP の両方が存在し、真核生物の初期進化過程では rdxPolA と POP が混在していたという図5左に示す第2のシナリオが支持される。このシナリオが正しいのであれば、今後の真核生物の配列情報の蓄積に伴って、系統ごとの二次的な消失が起こる前に分岐した rdxPolA と POP の両方を保持する種や、POP 系統に属するけれども rdxPolA をもつ種、あるいはその逆の種が発見される可能性がある。

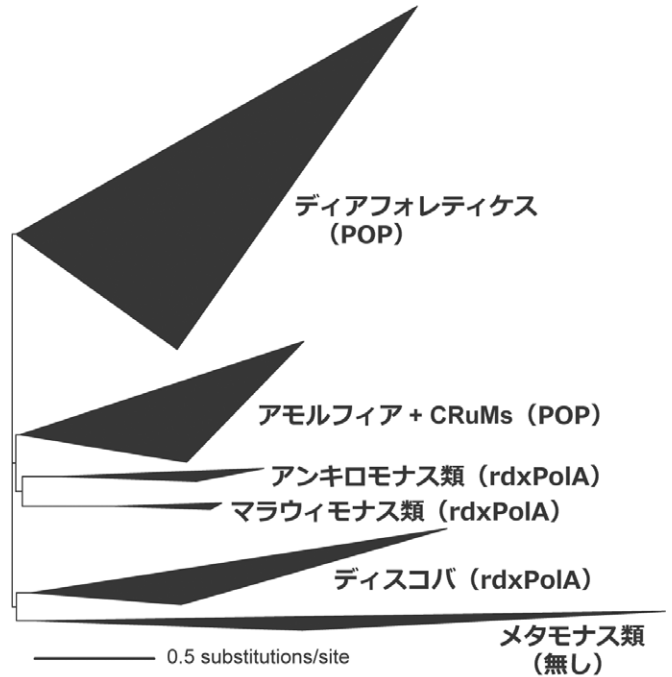


図6. 340 遺伝子に基づく真核生物の最尤系統樹. IQ-TREE を用いて LG+C60+F+G モデルで解析した、97 生物種 116,499 アミノ酸残基から構成されるアライメントに基づく最尤系統樹 (Harada *et al.* (2024) を参考に作成)。

## さいごに

本稿では、Harada *et al.* (2024) の成果を中心にファミリー A DNAP の多様性について紹介した。12 種類のオルガネラ局在 DNAP は真核生物の系統ごとに異なる分布を示す。特に興味深いのは、ミトコンドリア共生体に直接由来し、「古の DNAP」であると考えられる rdxPolA である。真核生物進化の初期段階では POP と rdxPolA の 2 タイプのミトコンドリア局在 DNAP が混在していたことが推定されている。オルガネラ局在 DNAP は真核生物の系統ごとに独立に消失と獲得が起こっており、オルガネラプロテオームのモザイク的進化の典型的な例といえる。rdxPolA の発見によって LECA 時点でのミトコンドリア局在 DNAP についての仮説が提唱されたが、今後もこの仮説を検証する必要がある。ただし、依然としてミトコンドリア共生体が DNA 複製に用いていた PolIII がいつ消失したかは不明なままである。また、DNAP だけでなく DNA 複製に関わるタンパク質群についても DNAP と同様に複雑な進化が起きている可能性が高い。今後は PolIII やその他の DNA 複製関連タンパク質の多様性を調査することが、オルガネラにおける DNA 複製機構の進化の全容を解明するために必要なピースである。

## 謝辞

本研究は日本学術振興会科研費 19H03280, 23K27226, 22KJ0401 および海外特別研究員事業の助成を受けたものである。本研究は、情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所が有する遺伝研スーパーコンピュータシステムを利用した。

## 参考文献

- Brown, M. W., Heiss, A. A., Kamikawa, R. *et al.* 2018. Phylogenomics places orphan protistan lineages in a novel eukaryotic super-group. *Genome Biol. Evol.* 10: 427–433. doi.org/10.1093/gbe/evy014
- Filée, J., Forterre, P., Sen-Lin, T. & Laurent, J. 2002. Evolution of DNA polymerase families: evidences for multiple gene exchange between cellular and viral proteins. *J. Mol. Evol.* 54: 763–773. doi.org/10.1007/s00239-001-0078-x
- Gray, M. W. 2015. Mosaic nature of the mitochondrial proteome: Implications for the origin and evolution of mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112: 10133–10138. doi.org/10.1073/pnas.1421379112
- Gray, M. W., Burger, G., Derelle, R. *et al.* 2020. The draft nuclear genome sequence and predicted mitochondrial proteome of *Andalucia godoyi*, a protist with the most gene-rich and bacteria-like mitochondrial genome. *BMC Biology* 18: 22. doi.org/10.1186/s12915-020-0741-6
- Graziewicz, M. A., Longley, M. J. & Copeland, W. C. 2006. DNA polymerase  $\gamma$  in mitochondrial DNA replication and repair. *Chem. Rev.* 106: 383–405. doi.org/10.1021/cr040463d
- Harada, R., Hirakawa, Y., Yabuki, A. *et al.* 2020. Inventory and evolution of mitochondrion-localized family A DNA polymerases in Euglenozoa. *Pathogens* 9: 257. doi.org/10.3390/pathogens9040257
- Harada, R., Hirakawa, Y., Yabuki, A. *et al.* 2024. Encyclopedia of family A DNA polymerases localized in organelles: evolutionary contribution of bacteria including the proto-mitochondrion. *Mol. Biol. Evol.* 41: msae014. doi.org/10.1093/molbev/msae014
- Harada, R. & Inagaki, Y. 2021. Phage origin of mitochondrion-localized family A DNA polymerases in kinetoplastids and diplomonads. *Genome Biol. Evol.* 13: evab003. doi.org/10.1093/gbe/evab003
- Harada, R. & Inagaki, Y. 2023. Gleaning Euglenozoa-specific DNA polymerases in public single-cell transcriptome data. *Protist* 174: 125997. doi.org/10.1016/j.protis.2023.125997
- Hirakawa, Y. & Watanabe, A. 2019. Organellar DNA polymerases in complex plastid-bearing algae. *Biomolecules* 9: 140. doi.org/10.3390/biom9040140
- Janoušková, J., Tikhonenkov, D. V., Burki, F. *et al.* 2015. Factors mediating plastid dependency and the origins of parasitism in apicomplexans and their close relatives. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112: 10200–10207. doi.org/10.1073/pnas.1423790112
- Kimura, S., Uchiyama, Y., Kasai, N. *et al.* 2002. A novel DNA polymerase homologous to *Escherichia coli* DNA polymerase I from a higher plant, rice (*Oryza sativa* L.). *Nucleic Acids Res.* 30: 1585–1592. doi.org/10.1093/nar/30.7.1585
- Klingbeil, M. M., Motyka, S. A. & Englund, P. T. 2002. Multiple mitochondrial DNA polymerases in *Trypanosoma brucei*. *Molecular Cell* 10: 175–186. doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00571-3
- Lax, G., Eglit, Y., Eme, L., Bertrand, E. M., Roger, A. J. & Simpson, A. G. B. 2018. Hemimastigophora is a novel supra-kingdom-level lineage of eukaryotes. *Nature* 564: 410–414. doi.org/10.1038/s41586-018-0708-8
- Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O. *et al.* 2020. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Mol. Biol. Evol.* 37: 1530–1534. doi.org/10.1093/molbev/msaa015
- Moriyama, T. & Sato, N. 2014. Enzymes involved in organellar DNA replication in photosynthetic eukaryotes. *Front. Plant Sci.* 5: 480. doi.org/10.3389/fpls.2014.00480
- Moriyama, T., Terasawa, K., Fujiwara, M. & Sato, N. 2008. Purification and characterization of organellar DNA polymerases in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *FEBS J.* 275: 2899–2918. doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06426.x
- Moriyama, T., Terasawa, K. & Sato, N. 2011. Conservation of POPs, the plant organellar DNA polymerases, in eukaryotes. *Protist* 162: 177–187. doi.org/10.1016/j.protis.2010.06.001
- Mukhopadhyay, A., Chen, C.Y., Doering, C., Henriquez, F. L., Roberts, C. W. & Barrett, M. P. 2009. The *Toxoplasma gondii* plastid replication and repair enzyme complex, PREX. *Parasitology* 136: 747–755. doi.org/10.1017/S0031182009006027
- Novák Vančlová, A. M. G., Zoltner, M., Kelly, S. *et al.* 2020. Metabolic quirks and the colourful history of the *Euglena gracilis* secondary plastid. *New Phytol.* 225: 1578–1592. doi.org/10.1111/nph.16237
- Ponce-Toledo, R. I., Deschamps, P., López-García, P., Zivanovic, Y., Benzerara, K. & Moreira, D. 2017. An early-branching freshwater cyanobacterium at the origin of plastids. *Curr. Biol.* 27: 386–391. doi.org/10.1016/j.cub.2016.11.056
- Raval, P. K., Garg, S. G. & Gould, S. B. 2022. Endosymbiotic selective pressure at the origin of eukaryotic cell biology. *eLife* 11: e81033. doi.org/10.7554/eLife.81033
- Reese, E. 2017. Characterization of the mitochondrial DNA polymerase in *Plasmodium falciparum*. Drexel University. doi.org/10.17918/etd-7529
- Richter, D. J., Berney, C., Strasser, J. F. H. *et al.* 2022. EukProt: a database of genome-scale predicted proteins across the diversity of eukaryotes. *Peer Community J.* 2: e56. doi.org/10.24072/pcjournal.173
- Roger, A. J., Muñoz-Gómez, S. A. & Kamikawa, R. 2017. The origin and diversification of mitochondria. *Curr. Biol.* 27: R1177–R1192. doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.015

