

藻類学最前線



瀧下清貴：渦鞭毛藻類の葉緑体の起源および進化をめぐる論争

光合成を行う渦鞭毛藻類の大部分は、ペリディニンと呼ばれる色素を主要カロテノイドとする3重包膜の葉緑体（ペリディンタイプ葉緑体）を有している。しかし、ごく一部の種はペリディンタイプ葉緑体と色素組成、構造が異なる葉緑体を持つことが知られている。例えば、有毒・有害種として有名な *Karenia*, *Karlodinium* および *Takayama* 属の葉緑体は、ペリディニン色素を全く持たず、その代わりにフコキサンチンやその誘導体を主要カロテノイドとして持っている。興味深いことに、これらフコキサンチン誘導体タイプ葉緑体の色素組成はハプト藻類のものと同様である。渦鞭毛藻類の核rDNAの分子系統解析の結果を見ると、ペリディンタイプ葉緑体を有する種は、その系統内で幅広く分布しており、一方、フコキサンチン誘導体タイプ葉緑体を有する種は比較的最近になって派生してきたものであることが示唆されている⁽¹⁾⁽²⁾。このことから、*Karenia*, *Karlodinium* および *Takayama* 属の渦鞭毛藻種は、元々はペリディンタイプの葉緑体を有していたが、進化の過程で「葉緑体置換」によりフコキサンチン誘導体タイプ葉緑体を獲得したと考えられる（図1A）。さらに最近、核にコードされ、細胞質で翻訳された後、葉緑体へ輸送されて光化学系IIで機能する遺伝子 *psbO* の分子系統解析から、ペリディンタイプ葉緑体の起源は2次共生により獲得された紅藻類であり、フコキサンチン誘導体タイプ葉緑体の起源は3次共生により獲得されたハプト藻類である可能性が指摘された⁽³⁾。

ところが、2002年のアメリカ科学アカデミー紀要（PNAS）において、渦鞭毛藻類の葉緑体の起源および進化に関する上

記の仮説を根底からくつがえす論文が発表された⁽⁴⁾。その論文では、2種類の葉緑体ゲノムにコードされる遺伝子、*psaA* と *psbA*（共に光化学系の膜タンパク質）の塩基配列情報に基づいた分子系統解析により、渦鞭毛藻類のペリディンタイプ葉緑体とフコキサンチン誘導体タイプ葉緑体の単系統性が示され、さらに渦鞭毛藻類クレードの姉妹群がハプト藻類であることが示された。上記の系統関係は、共に高いブートストラップ値により支持されていた。この結果から、渦鞭毛藻類のペリディンタイプ葉緑体とフコキサンチン誘導体タイプ葉緑体の起源は同一であり、その起源はハプト藻類であることが示唆されたわけである（図1B）。この論文はPNAS同号のCommentaryにおいて「Continued evolutionary surprises among dinoflagellates」というタイトルで紹介された。タイトル中の「Continued」とは、「渦鞭毛藻類の特殊なForm II型RuBisCOの発見⁽⁵⁾やミニサークル葉緑体ゲノムの発見⁽⁶⁾に続いて」ということを意味している。たしかに、論文で示された *psaA* と *psbA* の分子系統樹は、渦鞭毛藻類の葉緑体の進化に関する、この新しい仮説を強くサポートするように思われたが、それでもなお、この結果に思わず首をかしげてしまった研究者は多かったのではなかろうか？

そして今年になり、この論文の問題点を明確に指摘した論文が発表された⁽⁷⁾。Inagaki *et al.* はまず、*psbA* のDNAレベル（コドンの1番目と2番目の塩基配列情報を採用）での分子系統樹ではペリディンタイプ葉緑体およびフコキサンチン誘導体タイプ葉緑体とハプト藻類の葉緑体の近縁性が強く示唆されるものの（図2A）、アミノ酸レベルでの分子系統樹

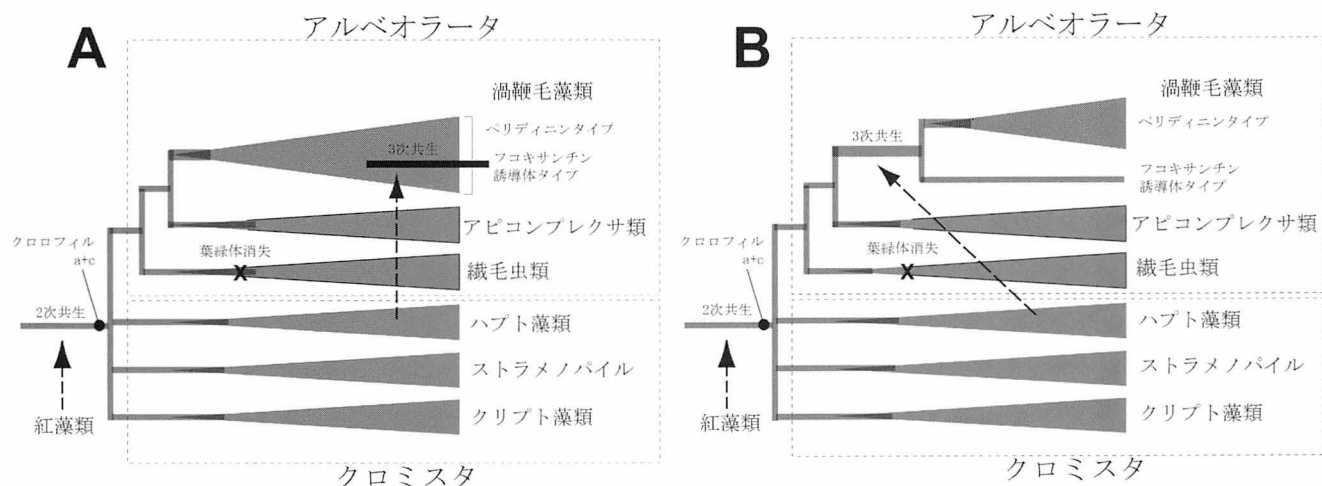
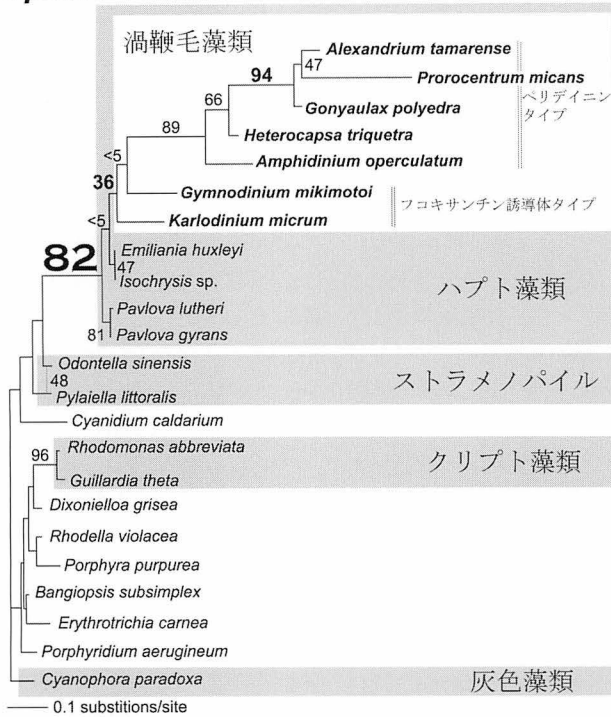


図1. (A) 渦鞭毛藻類の葉緑体の進化に関する従来の仮説：ペリディンタイプ葉緑体の起源は紅藻類であり、渦鞭毛藻類の一部の系統でハプト藻類の取込み（葉緑体置換）が起こり、フコキサンチン誘導体タイプ葉緑体が誕生した。(B) Yoon *et al.*⁽⁴⁾の仮説：渦鞭毛藻類の進化の初期段階でハプト藻類の取込みが起こり、まずフコキサンチン誘導体タイプ葉緑体が誕生し、その後、このタイプの葉緑体がペリディンタイプ葉緑体へと進化した。文献(7)を改編。

A *psbA* — DNA



B *PsbA* — Protein

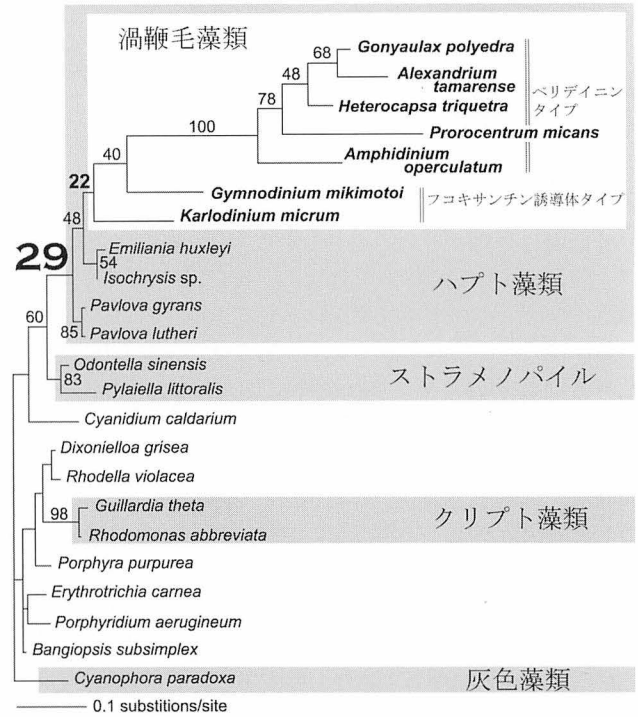


図2. (A) *psbA* のコドン1番目と2番目の塩基配列情報に基づいて得られた最尤系統樹。(B) *psbA* の塩基配列から推測されるアミノ酸配列情報に基づいて得られた最尤系統樹。分岐点にある数字はブートストラップ値。DNA レベルとアミノ酸レベルの解析で、渦鞭毛藻類とハプト藻類の単系統性の信頼度を示すブートストラップ値が大きく異なっている。文献 (7) を改編。

では、その近縁性がほとんどサポートされない (図2B) ことに注目した。Inagaki *et al.* がコドン3番目の塩基を解析から除いた理由は、コドン3番目の塩基置換の多くはアミノ酸置換を引き起こさない同義置換であり、塩基置換の飽和が起こっている可能性が高く、コドン使用頻度の偏りの影響も受けやすいからである。一方、コドンの1番目と2番目の塩基置換はアミノ酸置換を引き起こす非同義置換が多く、塩基置換の飽和が起こりにくい。したがって、コドンの1番目と2番目の塩基配列情報を用いて得られる系統樹とアミノ酸情報から得られる系統樹は一致する場合が多い。Inagaki *et al.* は *psbA* の DNA レベルでの解析でコドンの1番目と2番目の塩基配列情報だけを採用しているにも関わらず、渦鞭毛藻類とハプト藻類の単系統性の信頼度において、アミノ酸レベルでの解析結果と食い違いが起こる理由として、コドンの1番目と2番目でも同義置換が起こりうるロイシン (TTR or CTN)、セリン (AGY or TCN)、アルギニン (AGR or CGN) におけるコドンの使用頻度のばらつき (偏り) による影響を考えた。実際、様々な光合成生物由来 *psbA* のロイシン、セリン、アルギニンのコドン使用頻度を調べた結果、ハプト藻類とペリディニオンタイプの渦鞭毛藻類の一部 (*Heterocapsa* spp. と *Amphidinium* spp.) の *psbA* におけるこれら3つのアミノ酸のコドン使用パターンが酷似しており、かつ他の光合成生物のもの、その傾向が大きく異なることが明らかにされた (図3)。このことから、*psbA* の DNA レベルでの分子系統解析でハプト藻類の葉緑体と渦鞭毛藻類のペリディニオンタイプの葉緑体の近縁性がサポートされるのは、ロイシン、セリン、アルギ

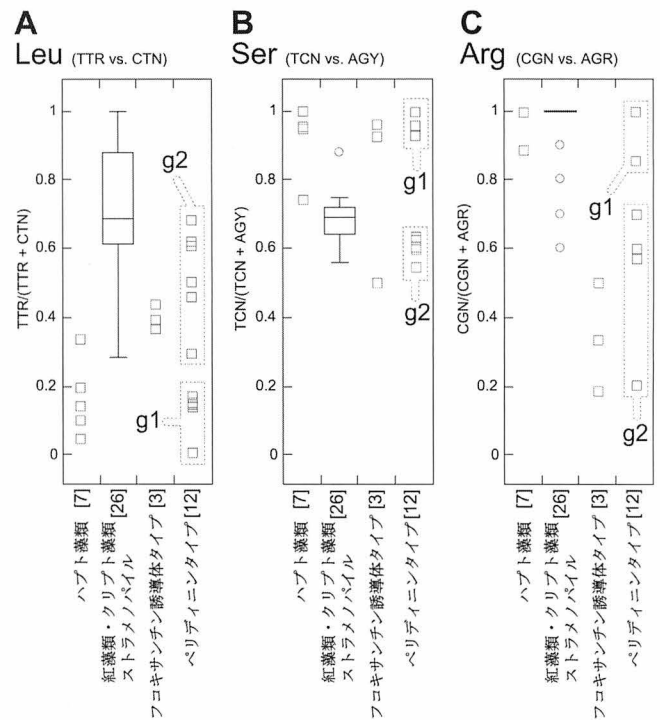


図3. *psbA* におけるロイシン (Leu) (A)、セリン (Ser) (B)、アルギニン (Arg) (C) のコドン使用頻度パターン：ペリディニオンタイプ渦鞭毛藻類の一部 (g1) とハプト藻類のパターンが類似している。文献 (7) を改編。

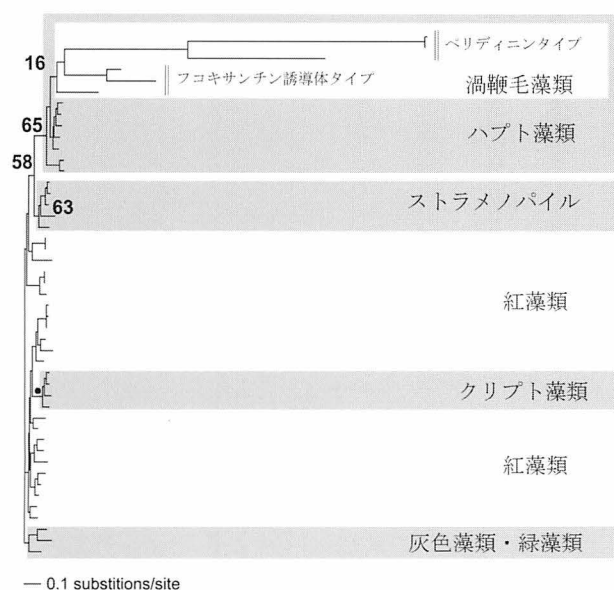
ニンのコドン使用頻度の類似性から導かれるartifactのためであり、本当の進化のストーリーを反映していない可能性に気付いた Inagaki *et al.* は、ロイシン、セリン、アルギニンに相当する座位をアラインメントから省いた場合、あるいはロイシン、セリン、アルギニンに相当する座位をある一つのコドンに設定した場合等々、DNA レベルでの系統樹がどの様に変化するかを調べた。いずれの解析においても予想どおり、ハプト藻類の葉緑体とフコキサンチン誘導体タイプ葉緑体の近縁性は維持されるものの、ハプト藻類の葉緑体とペリディンタイプ葉緑体の近縁性はもはや支持されなくなった。つまり、ロイシン、セリン、アルギニンのコドン使用頻度の偏りに由来する artifact のため、葉緑体遺伝子 *psbA* の DNA レベルでの分子系統解析では、ハプト藻類の葉緑体とペリディンタイプ葉緑体の近縁性が強く支持されることが明確になった。同様の artifact は他のタンパク質をコードする遺伝子の分子系統解析でも起こりうると Inagaki *et al.* は述べている（論文中では詳しく述べられていないが、*psaA* にもロイシン、セリン、アルギニンのコドン使用頻度に偏りがあるらしい）。

上記の解析結果から、オリジナルの *psaA* と *psbA* の連結データの解析結果もロイシン、セリン、アルギニンのコドン使用頻度の偏りの影響を受けている可能性が高いと考えた Inagaki *et al.* は、その連結データを再解析した。新たな DNA レベルでの分子系統解析では、渦鞭毛藻類の葉緑体遺伝子が非常に速い進化速度を持つことを考慮し、複雑な（より現実の配列進化に近い）モデルを取り入れた最尤法を採用した（ちなみにオリジナルの解析では、LogDet distance 法が採用されたが、Inagaki *et al.* はこの方法が、*psaA* と *psbA* の連結データセットに対して不適切であることを指摘している）。

結果として得られた系統樹では、渦鞭毛藻類のペリディンタイプ葉緑体とフコキサンチン誘導体タイプ葉緑体が単系統になり、そのクレードがハプト藻類の葉緑体と姉妹群にはなるものの、2002年のPNASで発表された結果とは異なり、そのブートストラップ値によるサポートはほとんどなかった（図4A）。さらに、アミノ酸レベルでの最尤法による分子系統解析では、系統樹全体のトポロジーは大きく変わり、ブートストラップ値によるサポートは低いものの、ペリディンタイプ葉緑体とストラメノパイル生物群（褐藻類や珪藻類等が含まれる）の葉緑体が、フコキサンチン誘導体タイプ葉緑体とハプト藻類の葉緑体がそれぞれクレードを形成した（図4B）。近年、様々なタンパク質の分子系統解析の結果から、渦鞭毛藻類を含めたアルベオラータ生物群とストラメノパイル生物群が近縁であること、さらにはこれらの生物群の一部が有する葉緑体の起源が共通の紅藻類であること（いわゆる chromalveolata 仮説）が指摘され始めている⁽⁸⁾⁽⁹⁾。したがって、今回の *psaA* と *psbA* のアミノ酸レベルでの解析で、ペリディンタイプ葉緑体とストラメノパイル生物群の葉緑体が形成するクレードは、この chromalveolata 仮説を反映している可能性もある。いずれにしても、Inagaki *et al.* の葉緑体遺伝子の再解析により、渦鞭毛藻類のペリディンタイプ葉緑体とフコキサンチン誘導体タイプ葉緑体の起源は同一であり、その起源はハプト藻類であるとする仮説は、2年前に発表された当初ほどの説得力はなくなったと言えるだろう。

今回の渦鞭毛藻類の葉緑体の起源および進化に関する一連の論争は、我々に一つの教訓を与えているように思う。分子系統解析によって得られた一つの結果が、他の分子系統解析の結果、あるいは分子系統解析以外の結果と異なった場合、そこに何らかの深刻な artifact が潜んでいないか注意深く見

A *psaA+psbA* — DNA



B *PsaA+PsbA* — Protein

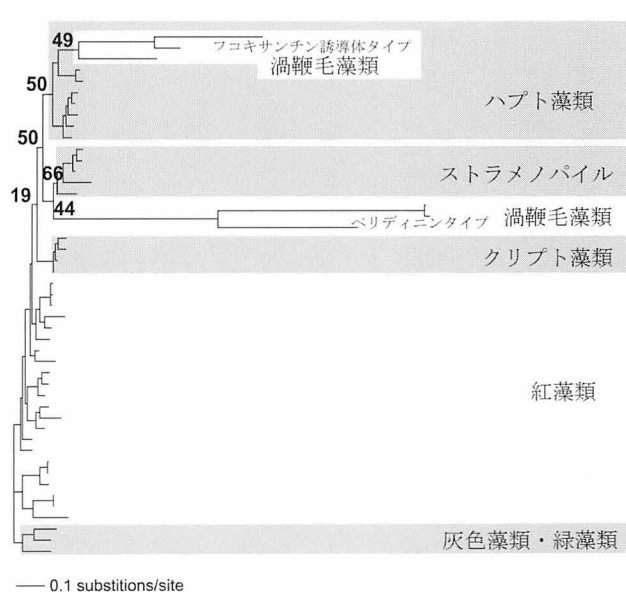


図4. (A) *psaA* と *psbA* の塩基配列の連結データに基づいた最尤系統樹。(B) *psaA* と *psbA* の塩基配列から推測されるアミノ酸配列の連結データに基づいた最尤系統樹。分岐点にある数字はブートストラップ値。文献(7)を改編。

つめ直す必要がある。実際の遺伝子の分子進化プロセスを完全にモデル化することは（少なくとも現段階では）不可能である以上、得られるすべての分子系統解析結果には多かれ少なかれ artifact が含まれているのだということを、常に留意しなければならない。

参考文献

- (1) Tengs, T., Dahlberg, O.J., Shalchian-Tabrizi, K., Klaveness, D., Rudi, K., Delwiche, C.F. & Jakobsen, K.S. 2000. *Mol. Biol. Evol.* 17: 718-729.
- (2) Saldarriaga, J.F., Taylor, F.J., Keeling, P.J. & Cavalier-Smith, T. 2001. *J. Mol. Evol.* 53: 204-213.
- (3) Ishida, K. & Green, B.R. 2002. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 9294-9299.
- (4) Yoon, H.S., Hackett, J.D. & Bhattacharya, D. 2002. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 11724-11729.
- (5) Morse, D., Salois, P., Markovic, P. & Hastings, J.W. 1995. *Science* 268: 1622-1624.
- (6) Zhang, Z., Green, B.R. & Cavalier-Smith, T. 1999. *Nature* 400: 155-159.
- (7) Inagaki, Y., Simpson, A.G.B., Dacks, J.B. & Roger, A.J. 2004. *Syst. Biol.* 53: 582-593.
- (8) Baldauf, S.L., Roger, A.J., Wenk-Siefert, I. & Doolittle, W.F. 2000. *Science* 290: 972-977.
- (9) Dacks, J.B., Marinets, A., Doolittle, W.F., Cavalier-Smith, T. & Logsdon, Jr. J.M. 2002. *Mol. Biol. Evol.* 19: 830-840.

(海洋研究開発機構)