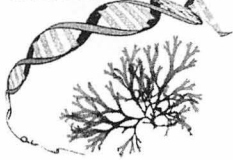


藻類学最前線



前田太郎：藻類からウミウシへ光合成遺伝子が移動？

ウミウシ類は海産の巻き貝の仲間であるが、そのいくつかの種では、藻類を食べてその葉緑体を自らの細胞内に取り込み一時的に光合成を行うことが知られている。この現象は、盗葉緑体（クレプトプラスト）などと呼ばれ、かつて本コーナーでも紹介された（石田 2001）。昨年、そのウミウシの一種 *Elysia chlorotica* の核ゲノムに食藻由来の光合成関連遺伝子の存在が確認され、ウミウシの核と藻類の核の間で、遺伝子の水平伝播が起きていることが示唆された（Rumpho *et al.* 2008）。本稿では、この論文を含めて、近年のウミウシ類の盗葉緑体現象に関する研究について紹介したい。

ウミウシ類とは、腹足綱（巻貝類）の旧分類体系において後鰓亜綱に分類されていた生物のうち、貝殻が退化的傾向を示すものを指す（図1）。近縁なものに、クリオネやカタツムリなどがある（図1）。その中でも、盗葉緑体現象を示すウミウシ類は、すべてが囊舌目（Sacoglossa）に属している。このグループは、ウミウシとしては変わった摂食方法を持つ分類群で、ハネモやイワズタなど多核囊状細胞からなる大型藻類の細胞壁に歯で穴を開け、細胞内容物を吸引して摂食を行う。この食性のためにその歯は単列の尖った形状になっており、また細胞壁に穴を開ける際の支えとなるように、使用済みの歯が舌囊と呼ばれる袋状の組織に貯められている。この歯（歯“舌”）と舌“囊”の特徴により囊舌目と呼ばれる（平野 2000）（図2）。

ウミウシ類における盗葉緑体現象は、川口四郎と弥益輝文によって初めて発見された（Kawaguti & Yamasu 1965）。川口と弥益は電子顕微鏡による詳細な観察により、食藻であるミル（*Codium fragile*）の葉緑体が本邦産クロミドリガ

イ（*Elysia atroviridis*）の細胞内に直接取り込まれていることを示した（Kawaguti & Yamasu 1965）。その後、囊舌目に属する他の種を用いた同位体元素の取り込み実験から、この葉緑体が光合成能を保持し、その生産物がウミウシの糖合成や窒素同化に使われていることが示された（Rumpho *et al.* 2007, Teugels *et al.* 2008）。通常、葉緑体は独自のゲノムを持つものの、葉緑体が機能するために必要な遺伝子のほとんどは藻類核ゲノムにコードされており、葉緑体のみでその能力を維持することは出来ない。しかしウミウシの細胞内には食藻由来の核が観察されず、したがって、その状態で光合成能を含めた葉緑体の機能をどのようにして保持しているのか長年にわたって注目されてきた。しかし、盗葉緑体現象に関する分子レベルでの機構は未だほとんどわかっていない（Rumpho *et al.* 2007）。

近年、ウミウシ類の盗葉緑体現象に対する分子生物学的アプローチは、主に不等毛藻類であるフシナシミドロ（*Vaucheria litorea*）を食べ、その葉緑体を保持する大西洋産の *Elysia chlorotica* を用いて行われてきた。この種の細胞内では葉緑体ゲノムにコードされる光合成関連遺伝子が転写および翻訳レベルで8~9ヶ月にわたって発現していること、さらには一般的に藻類核ゲノムにコードされ葉緑体で機能するタンパク質（以下“核コード葉緑体タンパク質”と記す。たとえば FCP: fucoxanthin-chlorophyll *a/c* binding protein など）も少なくとも8ヶ月間存在し続けており、*fcp* 遺伝子はウミウシ細胞内に DNA, RNA レベルでも存在していることが示されてきた（Green *et al.* 2000, Pierce *et al.* 2003, Rumpho *et al.* 2007, Pierce *et al.* 2007）。また原核

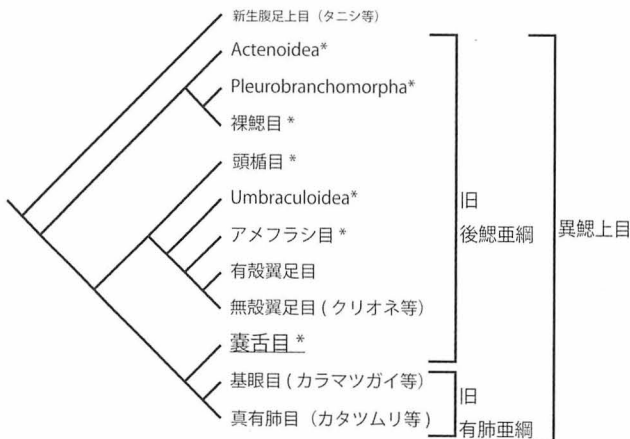


図1 異鰓上目内の系統樹 Klussmann-Kolb *et al.* 2008 を参考に作成。
* は一般にウミウシと呼ばれる分類群を示す。

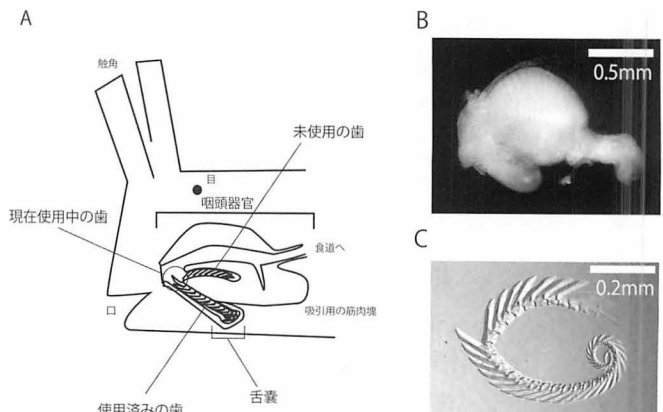


図2 囊舌目ウミウシの摂食器官の構造 A. 咽頭部縦断面図。B. 咽頭器官。C. 歯舌の光学顕微鏡像。(B, Cの写真は熊谷香葉子氏の提供による)

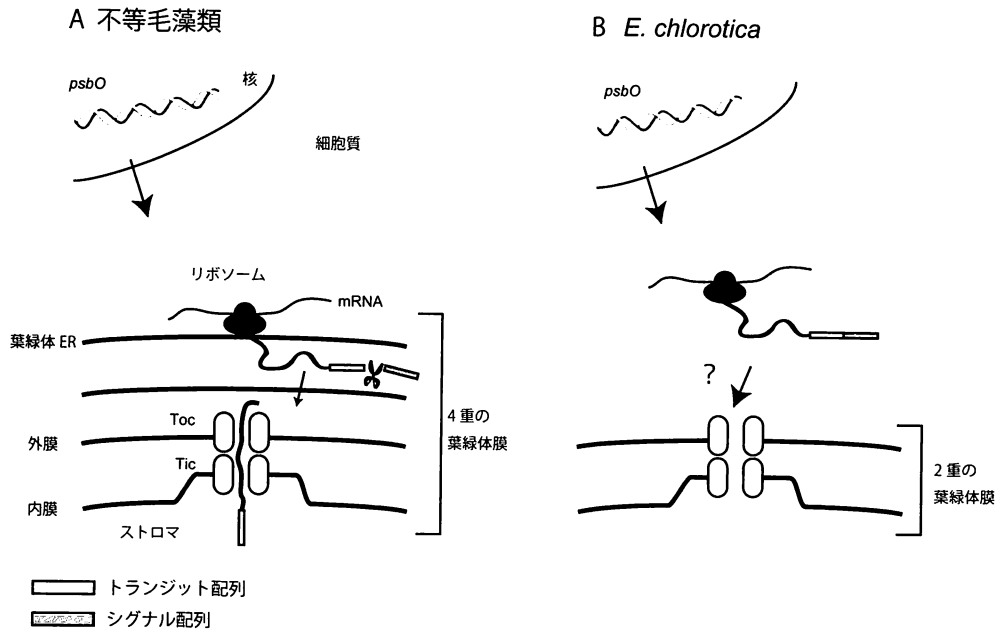


図3 核コード葉緑体タンパク質が葉緑体に輸送される経路 A. 不等毛藻類では、核コード葉緑体タンパク質 (PsbO) のシグナル配列が葉緑体 ER をターゲティングし、シグナル配列が切断された後、トランジット配列が内側の葉緑体 2 重膜をターゲティングする (Toc, Tic チャンネルによって認識される)。B. *E. chlorotica* 細胞内の葉緑体には葉緑体 ER が存在せず 2 重膜であるが、PsbO にはシグナル配列が存在する。

型の転写を阻害する物質 (クロラムフェニコール) によって“核コード葉緑体タンパク質”の発現は抑制されず、それらが真核型の転写を受けていることが示唆された (Green *et al.* 2000, Pierce *et al.* 2007)。また *E. chlorotica* の DNA から藻類核由来の ITS-rDNA 領域は PCR 増幅されなかったことから、ウミウシの細胞内には藻類の核は“コンタミネーション”していないと判断された (Green *et al.* 2000)。以上の間接的状況証拠から、葉緑体の機能に必要な少なくともいくつかの遺伝子は藻類の核ゲノムからウミウシの核ゲノムへ水平伝播した可能性が提示されてきた (Rumpho *et al.* 2007)。

そこで、Rumpho らはフシナシミドロの葉緑体ゲノムの解読と、ウミウシの卵における光合成関連遺伝子の発現解析により、遺伝子の水平伝播が起きていることをより直接的に示そうとした (Rumpho *et al.* 2008)。

まず、フシナシミドロの葉緑体ゲノムサイズ、および、そこに存在する遺伝子レパートリーは、他の葉緑体のもと概ね変わらず、以前に *E. chlorotica* より DNA, RNA レベルで検出された *fcp* 遺伝子、また以下に示す光化学系 II の構成タンパク質をコードする *psbO* 遺伝子はフシナシミドロの葉緑体ゲノム上には存在しないことが確認された。

ウミウシ類に取り込まれた葉緑体は世代を超えて垂直伝播することはないと考えられている (孵化後に摂食によって葉緑体を獲得する)。そこで、次に葉緑体や藻類の核を含まない孵化直前の卵を用いて解析を行った結果、*E. chlorotica*

の卵には核コード葉緑体タンパク質遺伝子である *psbO* が DNA レベルでも RNA レベルでも存在することが示された。さらに、フシナシミドロと *E. chlorotica* の卵から得られた *psbO* のそれぞれの 3' 側の非翻訳領域を解析した結果、その配列は両者間で異なっていた (ちなみに *E. chlorotica* のミトコンドリアゲノム中にも、核コード葉緑体タンパク質遺伝子は存在しないことが確認されている)。以上のことから、Rumpho らは、*psbO* を含めた核コード葉緑体タンパク質遺伝子は *E. chlorotica* の核ゲノムに水平伝播しており、それが盗み取った葉緑体の機能維持に重要な役割を果たしているのではないかと結論づけている。

このような遺伝子の水平伝播が実際に起こっていることを考慮した場合、いくつかの疑問点が浮かび上がってくる。嚢舌目ウミウシに取り込まれた葉緑体は、その消化管上皮細胞にのみ局在しており、他の組織では観察されていない。したがって、藻類核ゲノム由来の遺伝子が、どのようにウミウシの生殖系列細胞に取り込まれ、結果として垂直伝播するに至ったか、そのメカニズムに興味を持たれる。また、ウミウシ核ゲノムに存在する葉緑体タンパク質遺伝子が翻訳後、どのようにして葉緑体へ輸送されるかも興味深い事柄である。1 次共生由来する藻類では、核コード葉緑体タンパク質は N 末端側に 2 重包膜葉緑体をターゲティングするためのトランジット配列が付加されている (Gutensoh *et al.* 2006)。そして、2 次共生由来で 4 重包膜の葉緑体を持つ不等毛藻類では、トランジット配列のさらに N 末端側に葉緑体 ER を

ターゲティングするためのシグナル配列が付加されている (Kilian & Kroth 2003) (図3)。一方, *E. chlorotica* の細胞内に存在するフシナシミドロ由来の葉緑体には葉緑体 ER が存在せずに 2 重膜となっている (Mujer *et al.* 1996)。ところが, *E. chlorotica* から得られた *PsbO* には葉緑体 ER ターゲティングのためのシグナル配列が付加されたままである (図3)。このような状態で, 本当に核コード葉緑体タンパク質の正確な輸送は起きるのであろうか? フシナシミドロと *E. chlorotica* から得られた *psbO* の塩基配列は, 翻訳領域においてほぼ完全に一致しており, これは, 遺伝子の水平伝播が起こってから間もないことを示すが, はたして, そのような短期間に核コード葉緑体タンパク質の (複雑な?) 輸送系を確立できるのかどうか? という点についても疑問が残る。

さらに, フシナシミドロの葉緑体と *E. chlorotica* で保持されているフシナシミドロの葉緑体は, 異なったタンパク質構成を持つことが示されている (Green *et al.* 2000)。したがって, 盗葉緑体現象では, 藻類中の intact な葉緑体を完全再現しているわけではないようである。以上のことを鑑みると, ウミウシ類における長期にわたる盗葉緑体の保持を, 藻類核ゲノムからの遺伝子の水平伝播だけで説明するには無理があるのかもしれない。藻類核由来遺伝子の水平伝播以外に, 何か未知のメカニズムが働いている可能性も今後検討していく必要があるだろう。

嚢舌目ウミウシにおいては, 2 重膜の葉緑体をもつ緑藻類が一般的な食藻であり, 緑藻食のウミウシ類でも, 緑藻由来の葉緑体が数ヶ月にわたって光合成能力を保持することが知られている (Evertsen *et al.* 2007)。今後, これら他の嚢舌目ウミウシにおいても, 遺伝子水平伝播や核コード葉緑体タンパク質輸送の問題を含めて研究を進めることが, ウミウシ類における盗葉緑体現象の全容解明のためには必須であると考える。

引用文献

Evertsen, J., Burghardt, I., Johnsen, G. & Wagele, H. 2007. Retention of functional chloroplasts in some sacoglossans from the Indo-Pacific and Mediterranean. *Mar. Biol.* 151: 2159-2166.

Green, B. J., Li, W. Y., Manhart, J. R., Fox, T. C., Summer, E. J., Kennedy, R. A., Pierce, S. K. & Rumpho, M. E. 2000.

Mollusc-algal chloroplast endosymbiosis. Photosynthesis, thylakoid protein maintenance, and chloroplast gene expression continue for many months in the absence of the algal nucleus. *Plant Physiol.* 124: 331-342.

Gutensohn, M., Fan, E., Frielingsdorf, S., Hanner, P., Hou, B., Hust, B. & Klosgen, R. B. 2006. Toc, Tic, Tat et al.: structure and function of protein transport machineries in chloroplasts. *J. Plant Physiol.* 163: 333-347.

平野義明 2000. ウミウシ学 海の宝石 その謎を探る. 東海大学出版会. 東京.

石田健一郎 2001. 一生使える使い捨て葉緑体—ウミウシのクレプトクロプラスト—. *藻類* 49: 14-15.

Kawaguti, S. & Yamasu, T. 1965. Electron microscopy on the symbiosis between an elysiid gastropod and chloroplasts of a green alga. *Biol. J. Okayama Univ.* 11: 57-65.

Kilian, O. & Kroth, P. G. 2003. Evolution of protein targeting into “complex” plastids: The “secretory transport hypothesis”. *Plant Biol.* 5: 350-358.

Klussmann-Kolb, A., Dinapoli, A., Kuhn, K., Streit, B. & Albrecht, C. 2008. From sea to land and beyond - New insights into the evolution of euthyneuran Gastropoda (Mollusca). *BMC Evol. Biol.* 8: 57.

Mujer, C. V., Andrews, D. L., Manhart, J. R., Pierce, S. K. & Rumpho, M. E. 1996. Chloroplast genes are expressed during intracellular symbiotic association of *Vaucheria litorea* plastids with the sea slug *Elysia chlorotica*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 12333-12338.

Pierce, S. K., Curtis, N. E., Hanten, J. J., Boerner, S. L. & Schwartz, J. A. 2007. Transfer, integration and expression of functional nuclear genes between multicellular species. *Symbiosis* 43: 57-64.

Pierce, S. K., Massey, S. E., Hanten, J. J. & Curtis, N. E., 2003. Horizontal transfer of functional nuclear genes between multicellular organisms. *Biol. Bull.* 204: 237-240.

Rumpho, E. M., Farahad, P. D., Manhart, J. R. & Lee, J. 2007. The Kleptoplast. In: Wise, R. R. & Hooper, J. K., (eds.) *The structure and function of plastids*, pp. 451-473. Springer, Netherlands.

Rumpho, E. M., Worful, J., Lee, J., Kannan, K., Tyler, M., Bhattacharya, D., Moustafa, A. & Manhart, J. 2008. Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene *psbO* to the photosynthetic sea slug *Elysia chlorotica*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 17867-17871.

Teugels, B., Bouillon, S., Veuger, B., Middelburg, J. J. & Koedam, N. 2008. Kleptoplasts mediate nitrogen acquisition in the sea slug *Elysia viridis*. *Aquat. Biol.* 4: 15-21.