

藻類学最前線



はらぺこ藻類は失われた過去を取り戻せるか

丸山真一郎

「読みましたよ。ほんと、うまいこと書きよるわあ。」とある研究会でばったり会ったH先生に、開口一番こう言われた。生態学的な注目度は低いが進化的にはとても面白い二次共生藻類の一種における遺伝子導入実験と葉緑体移行シグナル研究の世界的権威であるH先生にお褒め頂いたのは恐悦至極なのだが、どこことなく含みのある、歯に物が挟まったような物言いは少し気になる。その心を聞いてみようとかとも思ったが、何となく言いたいことは分かったような気がしたのでやめにした。H先生が話題にしたのは、我々が最近発表した、一次共生藻類において確認された食作用（ファゴサイトーシス）に関する論文のことである（Maruyama & Kim 2013）。

なにも、「地球上に最初に誕生した植物を発見した！」などと言うつもりはなく、葉緑体の進化と起源に関して、少し面白い知見が得られたので紹介したかったということなのだが、同時に、その意義を説明するためには細胞内共生と葉緑体進化にまつわる複雑な背景をまず説明しなければならず、確かにやや途方もない感はある。だが、その「わかるように説明する」義務こそが、現代の科学者に求められているものなのかもしれない。

また別の学会で会った藻類学者のN先生のコメントはこうだった。

「思ったよりエビデンスが少ない。」

相変わらず鋭い。その話をたまたま出くわした別の藻類学者I先生にしたところ、曰く、

「おれもそう思った。」

こちらも相変わらずである。そういった温かい励ましを頂きつつ、今回の成果はふつつかながら葉緑体進化の理解にある程度の貢献ができたのではないだろうかという印象を持ったのだった。しかし今一度、この「もの喰う藻類」の発見が藻類学に、あるいは生命進化の研究にもたらしたものが何であったのか、自分の中で整理する意味も含めて、研究の経緯から振り返ってみたい。

葉緑体誕生における捕食の意味

私の一番の興味は、植物がどのように誕生したのかということであり、それはつまり葉緑体を生み出した一次共生はどのように起こったのか、ということだった。細胞内共生説によれば、ミトコンドリアと葉緑体はそれぞれ現在のアルファプロテオバクテリアとシアノバクテリアに似た原核生物に由来すると言われているが、それらは「どのように」宿主細胞内へと入っていったのだろうか。手品の見せ物のように、気

づいたらそこにいました、というのでは許されない。科学的手法を用いて、数十億年前に起こった太古の進化イベントをどれだけ客観的に記述できるだろうか。

ちなみにここでは、なぜ「共生」であって「寄生」ではないのか、という問題には深く踏み込まないことにする。両者は主観的な程度の問題というか、生物体がお互いにどれだけの利害を得ていると研究者が見積もるかによって決まる語義的な問題に過ぎないという側面があるし、ミトコンドリアは呼吸、葉緑体は光合成という宿主が持ち得なかった形質獲得に至ったという点で、共生と呼ぶことに問題はないと思えるからだ。

さて、細胞内共生というと太古の地球の化石じみたに思いがすると思われるかもしれないが、現象自体はそれほど珍しいものではなく、現在進行形で起こっている極めて「現代的」なものとも言える。サンゴと褐虫藻の共生や、アメーバや昆虫などの細胞内共生菌など、お茶の間レベルでも聞いたことがあるかもしれない現象の研究も進んでいる。だが、葉緑体が生まれた一次共生は、地球史においてたった一度しか起こらなかったと言われている。その共生は、何か特別な共生だったのだろうか。面白いのは、シアノバクテリアを真核生物が取り込んで最初の植物を生み出した「一次共生」がどのように起こったのかを考えるヒントは、その植物がさらに別の真核生物に取り込まれた「二次共生」という現象から外挿あるいは類推することで生まれた部分が大きいに思われることだ（Cavalier-Smith 1982）。逆に言えば、進化的には比較的新しい二次共生や他の共生現象を基に一次共生のモデルが組み立てられてきたのであり、太古の一次共生を直接知る手がかりはそれほどに得難いものということかもしれない。実際、器官分化した食虫植物などはさておき、単一細胞レベルで食作用能を持つ一次共生植物はこれまでほとんど知られていなかったのだから、葉緑体の起源という概念自体が曖昧模糊としており、議論が錯綜してきたのも頷ける。では、我々は現生の生物から太古の一次共生について何も学ぶ事はないのだろうか。

「もの喰う藻類」の研究史

ブラシノ藻類は、葉緑体進化の非常に初期に分岐した一連の系統群で、緑藻類、そしておそらく緑色植物全体で見ても側系統的な系統分布を示す藻類の総称である。時に「原始的」とさえ称されるその特徴的な容姿や生活スタイルから、藻類学者たちの興味を引いてきたが、陸上への進出を遂げたストレプト植物たちと、身近な種を多く含むUTCクレードと呼

ばれる「メジャーな」緑藻類たちに挟まれて研究対象としては肩身の狭い思いをしてきたようだ。だが、この仲間に「もの喰う」藻類がいるのではないかという報告はかなり前からあった。

筆者の知の中で、その草分けとも言えるのが Parke & Adams (1961) の論文で、プラシノ藻の一種 *Halosphaera viridis* により、黒鉛の碎片や小さな渦鞭毛藻まで細胞内に取り込まれることが示されていたのだ。その中で著者らは「取り込みは（中略）細胞が健康な状態にあるときには観察されなかった」（筆者意訳、以下同）と記している。培養液をあまりきれいではないかもしれない容器に入れたまま高温の部屋に置き忘れたとき、つまり極端なストレス状態に置いた場合にのみ、不健康そうな細胞で取り込みが見られたというのだ。しかし、この偶然の発見も、あまりに特殊な条件であったためか、深く議論される機会は多くなかったようだ。

また別のプラシノ藻 *Cymbomonas tetramitiformis* を単離し、電子顕微鏡観察の結果から「食胞は細胞内によく見られる構造であった」と主張する Throndsen と、概ねそれに賛同しつつも、詳細な電子顕微鏡観察にも関わらず食作用が観察されなかったため「*Cymbomonas* が捕食能を持つかどうかは未だ不明である」と控えめな主張をする Moestrup らの報告がある (Throndsen 1988, Moestrup *et al.* 2003)。Moestrup らはおそらく捕食に関わるとされるダクト（食道）と液胞（食胞）は緑色植物の祖先形質だろうと考えていたようだが、同様の考えは O' Kelly (1992) でも議論されており、実際に現在でも捕食しているかどうかはともかく、食作用の装置としては分岐の深いプラシノ藻に保存的であると一部の藻類研究者には受け入れられるようになったようだ。

そして Moestrup らによる論文が出版されたのと同じ年、Bell と Laybourn-Parry による衝撃的な報告が、南極観測基地での実験から生まれた。著者らは南極の湖に棲むプラシノ藻 *Pyramimonas gelidicola* を用いた実験により「多いときには 47% の *P. gelidicola* が細胞内に蛍光標識した餌生物を取り込んだ」と報告している (Bell & Laybourn-Parry 2003)。これは驚くべき結果である。それまでは、上述した先行研究は非常に例外的なものであり、緑藻は食作用を持たないというのが一般的な考え方であったし、それは現在でも多くの支持を得ていると言えるだろう。そのことは Cavalier-Smith (2013) で「植物は最初の葉緑体としてシアノバクテリアを隷属化した後、腹部の繊毛翼と細胞溝を用いた食作用機構の両方を失った」と記されていることから窺える。要するに、Bell & Laybourn-Parry (2003) の結果がそれほど画期的だったにも関わらず、広く受け入れられたとは言えなかった訳だが、その背景には、どんな問題があったのか。

一つには、この著者らが「蛍光物質を取り込んだ」と記した藻類の写真を提示しなかったことが挙げられるだろう。蛍光顕微鏡レベルでの観察において、蛍光ビーズや蛍光標識した細菌が細胞の表面に付着した場合と細胞内に入った場合を

どれくらい正確に区別できるだろうかと想像してみると、一般読者が著者らの計数した細胞数の表を見て、その生物学的なモデルまで完全には納得し難かった理由が推し量られる。しかし、個人的にはそうしたデータの不足を基に著者らの仕事を批判するのには抵抗がある。南極観測基地という、限られた資材と時間の中で効率的に結果を出さねばならない状況を鑑みても、著者らの成果は特筆に値する。特に生態学研究者にとって、緑藻の食作用は、単なる一次生産者の生理活動以上の意味を持つこともあり、かなり重要な知見として位置づけられたようだ。もちろんその一方で、細胞レベルでのデータが無いということが、多くの生物学者研究者にとって説得力に欠く理由であったとしても、十分理解できる。

そして、研究の状況も、我々の一次共生に関わる食作用の理解も大きな進展を見せないまま、それから 10 年近くが経った。

生き物をよく見るということ

筆者がカナダのダルハウジー大学で研究生活を送っていた頃、米自然史博物館に職を得て引越し準備を始めていた同僚で、今回の論文の共著者でもある Eunsoo Kim 博士が「プリマスの株保存施設から面白い藻類株を取り寄せたのだが、もし興味があれば育ててみないか」と声をかけてくれた。*Cymbomonas* sp. というプラシノ藻で、エサを食べる能力があるという報告がかつてあり、葉緑体の起源とも関係あるかもしれないという話は聞いたことがあったので、当時、一次共生の起源に興味があるとか言いつつ何も貢献できずに悶々とした日々を送っていた自分には、渡りに船という感があり、二つ返事で引き受けた。周囲では「引越しのどさくさで株の管理を押し付けられただけなんじゃないの」みたいな雰囲気漂っていなくもなかったのかもしれないが、自分にはそうは思えなかった。むしろその瞬間、月並みな言葉で言えば、自分のセレンディピティ的な運が試されているような気がしたのだった。

早速育ててみると、これがまたひどく繊細な藻類で、これまで育てたどの藻類株よりも物理的衝撃や環境変動に弱いことが分った。低速遠心や短時間の室温放置はもちろんのこと、ずっと同じ条件で培養を続けているつもりなのにすぐに調子が悪くなるなど、とにかく生育が不安定なのだ。特に遠心力に弱いというのが問題で、Kim 博士が手法を確立するまでは満足に電子顕微鏡観察のための固定もできなかった。

とにかく藻体の機嫌のいい時を見計らって細胞を固定し、透過型電子顕微鏡観察に供してみたところ、驚いたことに、というか半ば予想してはいたのだが、食作用などは全く観察されなかった。これは Kim 博士の過去のデータとも一致しており、道の遠さを痛感させられた。しかし、面白いことに、この *Cymbomonas* の液胞には時折黒い塊のような物体が観察され、それが Throndsen (1988) で「餌生物」の電子顕微鏡写真として報告されているものによく似ていた。どう見てもこの黒い物体は生物体には見えなかったが、「これ

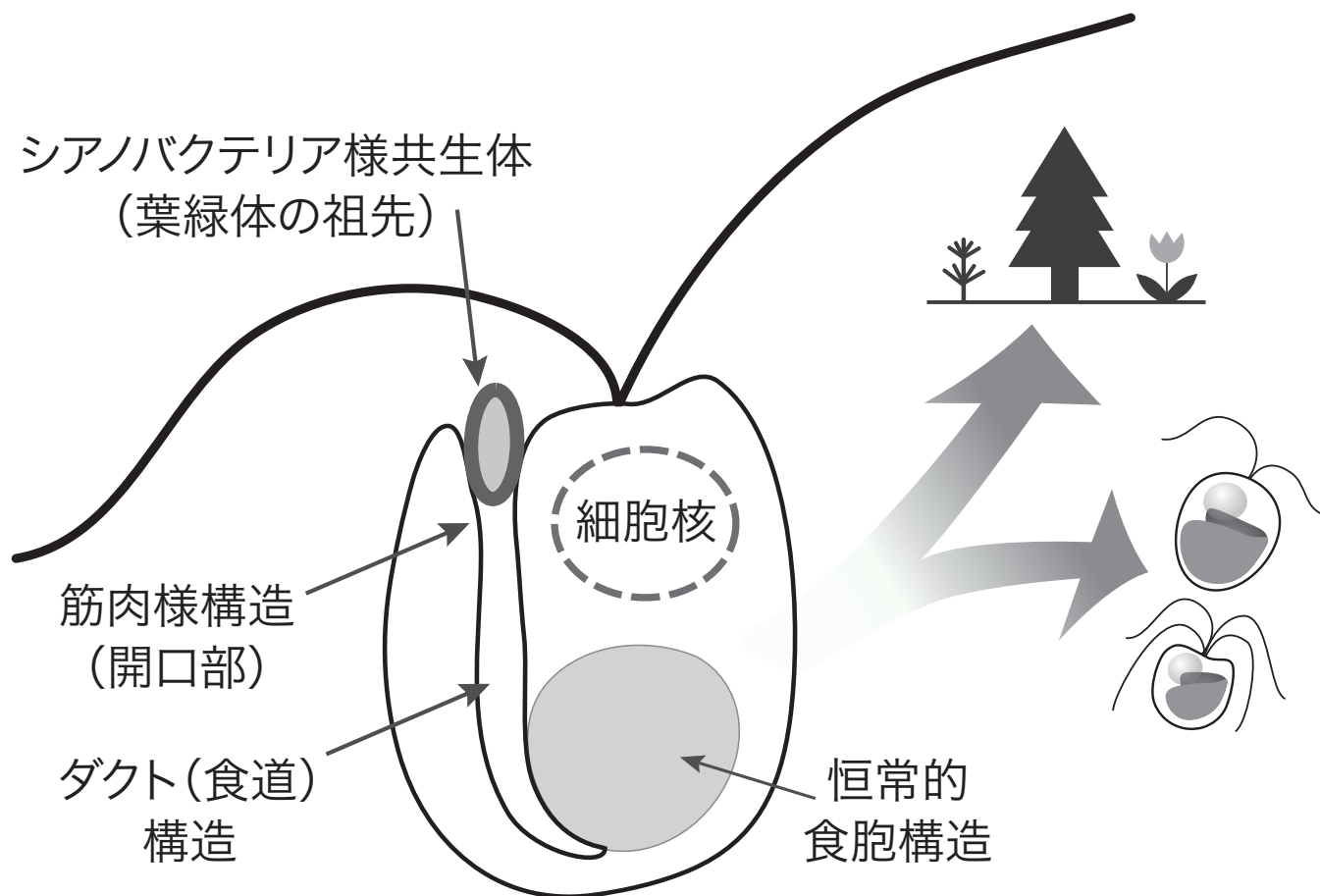


図1. 祖先的緑色植物による捕食機構と葉緑体獲得のモデル

最初に誕生した植物の祖先は(1)恒常的な食道・食胞構造を持ち(2)鞭毛基部の開口部から餌生物を取り込み(3)葉緑体獲得後も混合栄養様式の生態を維持していたと考えられる。Maruyama & Kim (2013)より作図。

だけで Throndsen が間違っていたなどとは言えない。例えば、彼がたまたま運悪くこれに似た写真を選んで論文に載せてしまったのであって、本当は他にたくさんいい写真を持っていたのかもしれない」という Kim 博士の言葉もあったので、もう少しよく見てみることにした。もっとよく見て、Throndsen が 20 年以上前に見たものは何だったのか、そして Moestrup らが見つけれなかったものが何だったのかを見極めよう、と思ったのだ。

まずやってみたのは、*Cymbomonas* を暗黒下で培養してることだった。光合成ができない条件なら、おなかがすいて培地中のバクテリアをバクバク食べ始めたりしないだろうか。もし全く光が無くてでも生育できるのであれば、それだけで従属栄養生活を営んでいる証拠と言えるのではないかと考えたのだが、実際にはそんな単純には事は運ばず、その条件では藻体は死滅してしまった。しかし、死に向かいつつある細胞を何とか電子顕微鏡で観察してみると、形態は著しく歪んでしまっていたが、液胞の中に何やらバクテリアらしき細胞が観察されたのだ。何となく良い感触を得たものの、明らかに正常な形態とは言えない写真を睨みつけていても埒があ

かないので、所属研究室の John M. Archibald 教授に相談してみると、「死にかけの細胞をいくつ見てもそこから何か言うのは難しいから、もう少し穏やかな条件で試してみたら?」という助言をもらうことができた。考えてみれば当たり前のことなのだが、行き詰まっている人間にとって外からの視点は何にも代え難いものである。しかしそれを試すための装置がない。早速お隣の Andrew Roger 研究室に行ってインキュベーターに蛍光灯と培養株を入れさせてもらい、以前よりも短時間の弱い光を照射して培養してみたところ、食事の藻類を見つけたのだ。つまり、細胞形態も安定で、液胞の中にバクテリアの細胞が比較的再現性良く観察される条件を見いだす事に成功したのだった。

その後も藻体の機嫌に振り回されながらも、何とか電子顕微鏡や蛍光顕微鏡を用いた観察を続けた結果、非生物的な粒子も食作用で取り込まれること、取り込みに関わると考えられるダクト(食道)と液胞(食胞)は、鞭毛基部の開口部から細胞外空間とひとつつながりになっていること、実際に消化途中であると考えられる餌のバクテリア細胞が食胞内に見いだされることなどが分ってきた (Maruyama & Kim 2013)。

葉緑体の起源推論における問題点：時間スケールとホモプラシー

我々の論文を紹介した Raven (2013) は、*Cymbomonas* の持つ食道・食胞構造の起源について二つの可能性を提案している。一つは我々が提示した仮説と同様に、*Cymbomonas* の食作用機構は、構造的類似性から他のプラシノ藻にも保存されている構造と相同と考えられ、そしてそれは植物において祖先的な構造であり、進化の過程で殆どの一次共生植物が食作用を二次的に失い光合成に依存した独立栄養生活へと移っていったという考えだ。つまり、最初の植物は（１）恒常的な食道・食胞構造をもち（２）鞭毛基部の開口部から捕食を行い、（３）葉緑体を獲得した後も混合栄養性の生活を続けていたが（図 1）、その後の進化の過程で、それこそ Laura Katz 博士の言うように「ほとんどの藻類は怠け癖がついて、太陽の下でゴロゴロしてばかりいるようになった」のかもしれない (Marshall 2013)。一方で、もう一つの仮説、つまり植物の祖先は定説通り一旦食作用を失ったが、その後に遺伝子水平伝達によってプラシノ藻の祖先種においてのみ再度獲得されたという説も考察に値する。詰まる所、食作用は一部のプラシノ藻だけが失わずに保持した形質なのか、一部のもののだけが再獲得した形質なのか、という進化学にはお決まりの「祖先形質 VS 派生形質」問題と言えなくもない。ここで問題を単純にするために、まず食作用が「緑色植物にとって」祖先形質かどうか、を考えよう。この場合注意すべきは、仮説設定の前にどのような前提を置くかという点である。

水平伝達に関して言えば、どれだけの遺伝子が水平伝達に関与したと考えるべきなのか。複数の独立な水平伝達が必要だったと考えるなら、この食作用再獲得が起こる確率は非常に小さいと言えるかもしれない。逆に、例えば水平伝達してきた遺伝子はたった一つだけであり、それが引き金となって既に祖先種が持っていた原基的な構造が食作用に使われるようになった、ということもできるかもしれないが、その場合でも、その原基的な構造がかつては何に使われていたのかという疑問が残る。それがもし、葉緑体獲得前の植物の祖先が持っていた補食装置だったなら、その原基的構造は結局祖先形質ということになるだろう。

また、形質の喪失が起こる頻度は、どれだけ正確に推測可能なのだろうか。我々が、「食作用という形質が失われる」というイベントが稀にしか起こらないと考えた場合は、緑色植物の祖先においてまさにその稀なイベントが偶々起こったとすれば、水平伝達説は尤もらしい説明を与えてくれるだろう。逆に喪失が頻繁に起こると仮定した場合は、そもそも水平伝達を考えなくても説明できてしまう。また形質の喪失頻度が時間的に一定である保証はない。これは思ったより複雑な問題のようだ。ここで、Troost らが行ったような数理モデル解析が重要な鍵となりうる (Troost *et al.* 2005)。この著者らのモデルでは、混合栄養性の生活様式が維持されるか失われるかは、周囲の環境因子よりも食作用装置の維持コストなど内在的な因子が大きく関わるという。そうだとすれば、

食作用喪失の起こりやすさは系統ごとによりかなり異なり得ることを意味する。

これらの疑問に答えるには、究極的には食作用に関わる遺伝子をきちんと同定していく必要があるだろう。逆に、関与する遺伝子が皆目検討も付かない時点で水平伝達を議論するのは尚早ということなのかもしれない。とはいえ、観察された構造が一次共生のモデルと良く合致することや、プラシノ藻類の系統的位置を考え合わせると、祖先形質仮説に現時点では分があると言ってよいのではないだろうか。

以前、シアノバクテリアを餌として食べさせたことはあるかと聞かれたことがある。確かに、プラシノ藻が現生のシアノバクテリアを餌として食べてくれば、話題性もあるしキャッチーで面白いと思う。いつか試してみたいとも思っている。だが、「現生の」シアノバクテリアを食べるということと、葉緑体の起源推論とを結びつけることには、注意が必要だろう。それは例えば、葉緑体の「起源を知るため」に *Paulinella* を研究するというように似ている。*Paulinella* 属の中にはシアノバクテリアを取り込んでオルガネラ（と呼んで差し支えなければ）に進化させた種があるが (Nowack & Melkonian 2010)、この有色体 (chromatophore) と呼ばれる光合成オルガネラの獲得は、植物の葉緑体獲得とは独立起源で時間スケールも全く異なる、言わばホモプラシーであると言えよう。それはある種の珪藻に見られる Spheroid body という共生シアノバクテリア由来のオルガネラ然りである。あるいは例えば、アメーバに共生する新たなアルファプロテオバクテリアが見つかったとしても、ミトコンドリアの起源に関する我々の理解にどれほど貢献できるのかは分からない、というのにも似ている。それらは原核生物を細胞内共生させるという無数の進化の試みの中で、たまたま門レベルで同じ部類に入るバクテリアを共生させて細胞内に維持するようになったということに過ぎないのかもしれない。

ホモプラシーは起源の推定にそれほど寄与しない、と言われることがある。蝶の翅と鳥の羽の比べたところでどれほど意味があるか疑問だ、と言われることもある。個人的には、蝶の翅と鳥の羽の比較には意味があるし、面白いと思う。だがそれは、鳥が爬虫類からどのように進化して来たのかという問題とはかなり離れたところでしか意味を持たないのではない、という気もしている。例えば両者の羽原基の発生に同じ遺伝子が関わっているという知見が得られれば、いわゆる EvoDevo 的な意味で面白いが、それはあくまで時間スケールも生物学的な意義も全く異なる話としての面白さなのではないだろうか。そういう意味では、今回の我々の研究でも「何を食べたか」よりも「どうやって食べたか」という構造的側面の解析の方が重要な貢献だったと言えるかもしれない。

葉緑体の起源にどれだけ迫れるのか

これまでは、*Cymbomonas* の持つ食作用機構が緑色植物の祖先形質ではないかという議論を展開してきた。もしそれ

が正しかったとしても、それは植物全体としての祖先形質なのかどうか、という更なる問題がある。一次共生植物（緑色植物・紅藻・灰色藻）が単一起源という仮説は広く受け入れられているが、これらが単系統か非単系統（いわば側系統的）かという点では未だ議論が続いている（Maruyama & Archibald 2012）。いずれの場合でも、ブラシノ藻の食作用機構が全ての植物にとって祖先的形質であると言えるのだろうか。

我々としては、その可能性はかなり高いと考えているが、実証的にこの疑問に答えるためには、結局は先に述べた「食作用は緑色植物にとって祖先的か」という問題と同じところに立ち戻ることになる。一つには食作用に関わる遺伝子のEvoDevo的相同性を明確に示すこと、もう一つは食作用という形質の喪失頻度を適切に推論することだ。食作用に関わる遺伝子の保存性については、全真核生物をゲノム規模で調べた Yutin *et al.* (2009) による相同遺伝子の解析があるが、食作用には細胞骨格や endomembrane システムなど、元々真核生物に普遍的な機能に関わる遺伝子も多く、そこから食作用の進化だけを抽出して語るのは難しい。タンパク質の局在や生化学レベルでの研究が必須だろう。一方の形質喪失については、やはり Troost *et al.* (2005) のような数理モデル解析の展開が重要な意味を持つのではないだろうか。例えば、鞭毛すら失った紅藻にどんな喪失頻度を仮定すればいいのか、こうした茫漠たる疑問に理論的アプローチが功を奏するかもしれない。

「一羽の燕が夏をもたらすのではない」というドイツの諺があるという。我々の研究は、太古の失われた時間を取り戻すための、たった一歩の前進に過ぎないかもしれない。行く手には、未だ幾多の壁が立ちはだかっているかのように思えることもある。だがそうすることでしか、前には進めない、というか、過去には戻れないのだろう。別の見方をすれば、我々研究者は言わば一羽の燕であって、ただひたすら陸地を目指して飛ぶしかないのかもしれない。夏はいつでも、次の燕が来るのを待っているのだ。

註

文中における引用文献からの抜粋、および Kim 博士、Archibald 教授のコメントは全て著者の責任において和訳したものです。

引用文献

- Bell, E. M. & Laybourn-Parry, J. 2003. Mixotrophy in the Antarctic phytoflagellate, *Pyramimonas gelidicola* (Chlorophyta, Prasinophyceae). *J. Phycol.* 39: 644–649.
- Cavalier-Smith, T. 1982. The origins of plastids. *Biol. J. Linn. Soc.* 17: 289–306.
- Cavalier-Smith, T. 2013. Early evolution of eukaryote feeding modes, cell structural diversity, and classification of the protozoan phyla Loukozoa, Sulcozoa, and Choanozoa. *Eur. J. Protistol.* 49: 115–179.
- Marshall, M. 2013. Hungry algae may explain how plants became green. *New Scientist* 10 (<http://www.newscientist.com/article/mg21829204.100-hungry-algae-may-explain-how-plants-became-green.html>).
- Maruyama, S. & Archibald, J. M. 2012. Endosymbiosis, gene transfer and algal cell evolution. In: Heimann, K. & Katsaros, C. (eds) *Advances in Algal Cell Biology*. pp. 21–42. De Gruyter, Berlin.
- Maruyama, S. & Kim, E. 2013. A modern descendant of early green algal phagotrophs. *Curr. Biol.* 23: 1081–1084.
- Moestrup, Ø., Inouye, I. & Hori, T. 2003. Ultrastructural studies on *Cymbomonas tetramitiformis* (Prasinophyceae). I. General structure, scale microstructure, and ontogeny. *Can. J. Bot.* 81: 657–671.
- Nowack, E. C. M. & Melkonian, M. 2010. Endosymbiotic associations within protists. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 365: 699–712.
- O’Kelly, C. J. 1992. Flagellar apparatus architecture and the phylogeny of “green” algae: Chlorophytes, Euglenoids, Glaucophytes. In: Menzel, D. (eds) *The Cytoskeleton of the Algae*. pp. 315–345. CRC Press, Boca Raton.
- Parke, M. & Adams, I. 1961. The *Pyramimonas*-like motile stage of *Halosphaera viridis* Schmitz. *Bull. Res. Council. Israel, Sect. D.* 10D: 94–100.
- Raven, J. A. 2013. Cells inside Cells: Symbiosis and Continuing Phagotrophy. *Curr. Biol.* 23: R530–R531.
- Thronsdon, J. 1988. *Cymbomonas* Schiller (Prasinophyceae) reinvestigated by light and electron microscopy. *Arch. Protistenk.* 136: 327–336.
- Troost, T. A., Kooi, B. W. & Kooijman, S. A. L. M. 2005. When do mixotrophs specialize? Adaptive dynamics theory applied to a dynamic energy budget model. *Math. Biosci.* 193: 159–182.
- Yutin, N., Wolf, M. Y., Wolf, Y. I. & Koonin, E. V. 2009. The origins of phagocytosis and eukaryogenesis. *Biol. Direct* 4: 9.

(基礎生物学研究所)