

## 藻類学最前線



## 光合成をやめた藻類もどき

平川泰久

## はじめに

真核藻類の系統群の中には、二次的に光合成能を喪失したものが知られている。これらの生物は、非光合成藻類 (non-photosynthetic algae) や無色藻類 (colorless algae) と呼ばれているが、本稿では親しみを込めて“藻類もどき”と呼称したい。藻類もどきは、ほとんどの藻類系統で見られ、緑藻や紅藻、クリプト藻、不等毛藻、ユーグレナ藻、渦鞭毛藻やアピコンプレクサ類などで報告がある (図 1) (Hadariová *et al.* 2018)。つまり、光合成能の喪失は、決してレアなイベントではなく、藻類に広く一般的に見られる現象である。藻類の中には、捕食栄養や吸収栄養を行う混合栄養性の種が多く存在しており、それらの仲間が光合成能を失うことで従属栄養性の藻類もどきが生まれたと考えられている (Hadariová *et al.* 2018)。藻類と同様、藻類もどきも自由生活性の種が多いが、絶対寄生性のアピコンプレクサ類や日和見的に感染症を引き起こす *Prototheca* などもある (加納 2016)。

藻類もどきの進化を語るうえで重要なのは、「光合成能の喪失」と「葉緑体の消失」が同義ではないことだ。つまり、藻類もどきの多くは光合成を行わない無色の葉緑体を保持している。それでは、何故、藻類もどきは無色葉緑体を保持し続けるのであろうか？これは葉緑体のもつ光合成以外の役割と関係している。一般的な葉緑体では、様々な代謝物の生合成が行われており、無色葉緑体でも一部の生合成経路が残されていると考えられている。葉緑体の消失には、これらの生合成を細胞質基質や他の場所で行うか、これらの代謝物を細胞外から摂取する、またはこれらの代謝物に対する要求性をなくす必要がある (Gornik *et al.* 2015)。そのため、葉緑体の消失は非常にレアなイベントで、1種のアピコンプレクサ類 (*Cryptosporidium hominis*) と2種の渦鞭毛藻 (*Hematodinium sp.* と *Amoebophrya sp.*) で報告があるだけだ (Xu *et al.* 2004, Gornik *et al.* 2015, Janouškovec *et al.* 2017)。藻類もどきの葉緑体は光合成を行う葉緑体とは異なり、明瞭なチラコイド膜構造を欠いているが、包膜構造は保存されている。無色緑藻の *Prototheca* はデンプン粒が詰まった二重包膜の葉緑体を (Nadakovukaren & McCracken 1977)、アピコンプレクサ類のトキソプラズマ原虫 *Toxoplasma* やマラリア原虫 *Plasmodium* は、小さく縮退した四重包膜の葉緑体 (アピコプラスト) をもつ (Waller & McFadden 2005)。一方で、電子顕微鏡を用いても観察することが難しい無色葉緑体も多く存在する。クロメラ類の *Voromonas pontica* や *Colpodella angusta* では、葉緑体の実体は明らかでないが、トランスクリプトーム解析で推定された葉緑体局在タンパク質から、隠された無色葉緑体の存在が示唆されている (Gile & Slamovits

2014, Janouškovec *et al.* 2015)。本稿では、無色葉緑体のゲノムの進化や推定される機能、最近発見された新奇の藻類もどきに関して概説する。

## 光合成関連遺伝子の喪失

藻類もどきは光化学系複合体をはじめ、様々な光合成に関連する遺伝子を失っており、その葉緑体ゲノムは縮小傾向にある。緑藻を例に見てみると、クロレラ目の藻類もどきである *Prototheca spp.* と *Helicosporidium sp.* は 28 ~ 55 Kb の葉緑体ゲノムをもつが、近縁な緑藻の *Auxenochlorella protothecoides* は 84 Kb, *Chlorella variabilis* は 124 Kb の葉緑体ゲノムをもつ (Severgnini *et al.* 2018)。無色葉緑体のゲノムは一部の機能タンパク質の発現のため、転写や翻訳に関わる遺伝子を保持しているが、クラミドモナス目の *Polytomella spp.* では葉緑体ゲノムが完全に消失している (Smith & Lee 2014)。これは、次世代シーケンスで高いカバー率で解析した結果、全く葉緑体ゲノムの配列断片が検出されないことから明らかにされた。上記の藻類もどきとは逆に、近縁な藻類よりも大きなサイズの葉緑体ゲノムをもつ藻類もどきも例外的に存在する。クラミドモナス目の *Polytoma uvella* は約 230 Kb の葉緑体ゲノムを持つが、これは近縁な

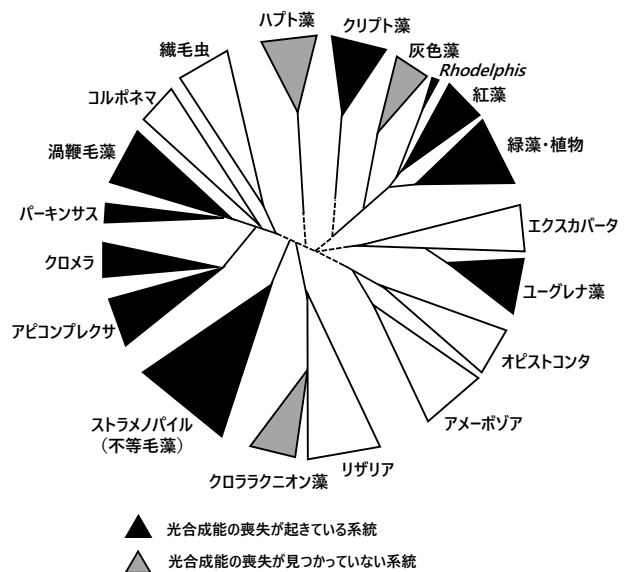


図 1. 藻類もどきを含む系統群の概略図。二次的な光合成能喪失が見られる系統群を黒塗りの三角、光合成能喪失が確認されていない系統群を灰色の三角で示す。この図は Hadariová *et al.* (2018) を基に作成。

*Chlamydomonas* 属の葉緑体ゲノムよりも大きい (Figueroa-Martinez *et al.* 2017)。しかし、*P. uvella* の葉緑体ゲノムも光合成関連遺伝子を失っており、ゲノムサイズが大きい理由は遺伝子をコードしない非コード領域の拡張だと考えられている。光合成能の喪失に伴う葉緑体ゲノムの縮小、または消失は、緑藻系統に限ったことではなく、多様な藻類もどきに普遍的に見られる現象である (Hadariová *et al.* 2018)。

興味深いことに藻類もどきの中には、一部の光合成関連遺伝子を残しているものが知られている。無色緑藻の *Prototheca* spp. や無色クリプト藻の *Cryptomonas paramecium*, 無色珪藻の *Nitzschia* sp. NIES-3581 は、ATP 合成酵素のサブユニットを核ゲノムと葉緑体ゲノムにコードしており (Donaher *et al.* 2009, 神川 2015, Kamikawa *et al.* 2015, Suzuki *et al.* 2018), 無色ユーグレナ藻の *Euglena longa* や無色ディクティオカ藻綱の *Pteridomonas danica* と *Ciliophrys infusionum* は、炭素固定酵素 RubisCO の遺伝子 (RbcS と RbcL) を持つ (Gockel *et al.* 2000, Sekiguchi *et al.* 2002)。ごく最近、サンゴに寄生するアピコンプレクサ類として発見された Coralicolids は、葉緑体ゲノム中にクロロフィル合成関連遺伝子 (*chlL*, *chlN*, *chlB*, *acsF*) を保持している (Kwong *et al.* 2019)。これらの残存する光合成関連遺伝子が光合成に関与していないことは明白であるが、無色葉緑体でどのような機能をもつのかは不明であり、今後の実験的な機能解析が待たれる。

### 光合成能の喪失回数

細胞内共生により葉緑体の獲得が何回起こったのかは、未だ解決を見ていない。最近のレビューでは、十回以上の独立した共生イベントが推定されているものもある (Oborník 2019)。一方、光合成能の喪失は何回起こっているのだろうか？全ての種が藻類もどきであるアピコンプレクサ類では、その共通祖先で一度、光合成能が失われたと考えられる (Janouškovec *et al.* 2015)。一方、不等毛藻や渦鞭毛藻では、分子系統樹上で光合成種と非光合成種がモザイク状に位置しており、複数回の独立な光合成能の喪失が想定されている (Janouškovec *et al.* 2017, Dorrell *et al.* 2019)。クロレラ目においても、無色の *Prototheca* と *Helicosporidium* は光合成種の *Auxenochlorella protothecoides* と共に単系統群を形成するが、*A. protothecoides* がクレードの内部で分岐することから、*Prototheca* と *Helicosporidium* は側系統群になる (Suzuki *et al.* 2018)。この系統樹から推定すると、*Prototheca* 属内で最低3回の光合成能喪失が独立に起きたことになる。各系統群で、しかも近縁な属内で複数回の光合成能喪失が見られることから、葉緑体獲得よりも光合成能喪失の頻度の方が高いことは、容易に想像がつく。しかし、その回数を答えることはとても難しい。前回の藻類学最前線で紹介されたクリプト藻に近縁な *Goniomonas* のように、葉緑体獲得の前に分岐した生物なのか、または葉緑体を二次的に失った生物なのか紛らわしい生物もあり (白鳥 2019)、光合成能の喪失回数を明らかにするには、ま

だまだ時間がかかりそうだ。

### 無色葉緑体の機能推定

近年、多様な藻類もどきにおいてゲノム解読やトランスクリプトーム解析が進められ、既知の葉緑体タンパク質との配列相同性や N 末端に存在する輸送シグナル配列を基に、無色葉緑体に局在するタンパク質が推定されている。また一部のタンパク質においては、GFP タグや抗体を用いた局在解析も行われている。これらの解析を基に予測された無色葉緑体の機能について少し紹介する。緑藻系統の *Prototheca* や *Helicosporidium* の無色葉緑体では、糖代謝に関わる不完全なカルビン・ベンソン回路 (炭素固定酵素 RubisCO を欠くため) やデンブリン合成経路、イソプレノイドやヘム、鉄硫黄クラスター、アミノ酸、脂肪酸の生合成に関わる経路が保存されていると予測されている (Pombert *et al.* 2014, Suzuki *et al.* 2018)。つまり、いくつかの重要な代謝物の生合成を行い、外部から取り込む炭水化物より合成したデンブリンを貯蔵する場として機能していると考えられる。無色の珪藻の *Nitzschia* sp. NIES-3581 でも同様に、不完全なカルビン・ベンソン酸回路、ヘムや鉄硫黄クラスター、アミノ酸、脂肪酸の生合成に関わる経路が予測されている (Kamikawa *et al.* 2017)。しかし、イソプレノイドの前駆体であるイソペンテニルピロリン酸 (IPP) の生合成に関わる非メバロン酸経路は見つかっておらず、その代わり、メバロン酸経路で機能する細胞質タンパク質をもつ。光合成を行う珪藻が葉緑体の非メバロン酸経路と細胞質のメバロン酸経路の両方を持つことから、*Nitzschia* sp. NIES-3581 はその片方を失ったと考えられている (Kamikawa *et al.* 2017)。珪藻以外の不等毛藻系統でも複数種の藻類もどきで解析が行われており、*Spumella* sp. NIES-1846 の無色葉緑体では、*Nitzschia* sp. NIES-3581 で見られた不完全なカルビン・ベンソン回路やアミノ酸と脂肪酸の生合成経路も失われており、ヘムと鉄硫黄クラスターの生合成が残存する機能だと考えられている (Dorrell *et al.* 2019)。ミゾゾア系統のアピコンプレクサ類 (*Toxoplasma* や *Plasmodium*)、無色渦鞭毛藻 (*Oxyrrhis marina*, *Noctiluca scintillans*, *Dinophysis acuminata*)、それらに近縁な藻類もどき (*Perkinsus marinus* や *Voromonas pontica*) のもつ無色葉緑体では、イソプレノイドと鉄硫黄クラスターの生合成に関わるタンパク質が共通して見つかっている (Janouškovec *et al.* 2017)。興味深いことに、ミゾゾア系統と不等毛植物系統では、イソプレノイドの生合成において異なる進化の方向性を示している。先にも述べたように、不等毛植物系統の藻類もどきは細胞質のメバロン酸経路を保持しているが、葉緑体の非メバロン酸経路を失っている。対照的に、ミゾゾア系統の藻類もどきは葉緑体の非メバロン酸経路をもつが、細胞質のメバロン酸経路は欠いている。上記のように多様な藻類もどきでは、系統群間や系統群内で無色葉緑体の機能に違いが見られ、鉄硫黄クラスターの生合成が全体に広く保存された機能のようだ。

## 紅藻系統で発見された藻類もどき

ごく最近（私がペンをとる数週間前）、紅藻系統から新規の藻類もどきが報告されたので、それについて最後に紹介する。Gawryluk *et al.* (2019) は淡水湖とサンゴ礁の砂よりバクテリアを捕食する従属栄養性の原生物を単離し、それぞれ *Rhodolphis limneticus* と *Rhodolphis marinus* と命名した。両種は二本の不等長鞭毛をもち、256 遺伝子を用いた分子系統解析の結果、驚くことに紅藻と姉妹群の関係にあることが示された。電子顕微鏡観察では、*Rhodolphis* の細胞内に葉緑体様の構造は確認されなかったが、ゲノムとトランスクリプトームの解析から鉄硫黄クラスターとヘムの生合成に関与する葉緑体局在のタンパク質が予測され、二次的に光合成能を喪失した無色葉緑体をもつことが示唆されている。*Rhodolphis* がもつ“捕食能”と“鞭毛”の二つの特徴は、アーケプラスチダの進化を考えると非常に興味深い。緑藻、紅藻、灰色藻を含むアーケプラスチダの共通祖先は、シアノバクテリアを細胞内共生、つまり捕食することで葉緑体を獲得したと考えられる。しかし、現存するアーケプラスチダの中で捕食栄養を行うものはほとんど知られておらず（丸山 2013）、*Rhodolphis* はとても貴重な例である。さらに、*Rhodolphis* は紅藻が失ってしまった鞭毛や鞭毛関連遺伝子を保持していた。この論文では、*Rhodolphis* と紅藻の共通祖先は二本の鞭毛をもち、捕食と光合成を行う混合栄養性の藻類であったこと、捕食栄養の喪失はアーケプラスチダの共通祖先で起きたのではなく、各系統群が分岐した後に収斂的に起こったことなどが考察されている（Gawryluk *et al.* 2019）。

## まとめ

二次的に光合成を喪失した藻類もどきは非常に多様で、ゲノム解読やトランスクリプトーム解析が行われていないものや、そもそも培養すらできていなものも存在する。さらに環境中には、隠れた藻類もどきが、まだまだ存在しており、発見されるのを今か今かと待っているのではないだろうか。今後も藻類もどきの研究から目が離せない。

## 引用文献

Donaher, N., Tanifuji, G., Onodera N. T. *et al.* 2009. The complete plastid genome sequence of the secondarily nonphotosynthetic alga *Cryptomonas paramecium*: reduction, compaction, and accelerated evolutionary rate. *Genome Biol. Evol.* 1: 439–448.

Dorrell, R. G., Azuma, T., Nomura, M. *et al.* 2019. Principles of plastid reductive evolution illuminated by nonphotosynthetic chrysophytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 116: 6914–6923.

Figuroa-Martinez, F., Nedelcu, A. M., Smith, D. R. & Reyes-Prieto, A. 2017. The plastid genome of *Polytoma uvella* is the largest known among colorless algae and plants and reflects contrasting evolutionary paths to nonphotosynthetic lifestyles. *Plant Physiol.* 173: 932–943

Gawryluk, R. M. R., Tikhonenkov, D. V., Hehenberger, E., Husnik, F., Mylnikov, A. P. & Keeling, P. J. 2019. Non-photosynthetic predators are sister to red algae. *Nature* 572: 240–243.

Gile, G. H. & Slamovits, C. H. 2014. Transcriptomic analysis reveals evidence for a cryptic plastid in the colpodellid *Voromonas pontica*, a close relative of chromerids and apicomplexan parasites. *PLoS One* 9: e96258.

Gockel, G., Hachtel, W. & Melkonian, M. 2000. Complete gene map of the plastid genome of the nonphotosynthetic Euglenoid flagellate *Astasia longa*. *Protist* 151: 347–351.

Gornik, S. G., Febrimarsa, Cassin, A. M. *et al.* 2015. Endosymbiosis undone by stepwise elimination of the plastid in a parasitic dinoflagellate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112: 5767–5772.

Hadariová, L., Vesteg, M., Hampl, V. & Krajčovič, J. 2018. Reductive evolution of chloroplasts in non-photosynthetic plants, algae and protists. *Curr. Genet.* 64: 365–387.

Janouškovec, J., Gavelis, G. S., Burki, F. *et al.* 2017. Major transitions in dinoflagellate evolution unveiled by phylotranscriptomics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114: E171–E180.

Janouškovec, J., Tikhonenkov, D. V., Burki, F., Howe, A. T., Kolísko, M., Mylnikov, A. P. & Keeling, P. J. 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.

神川龍馬 2015. *Nitzschia*. 光合成やめるってよ. 藻類 63: 196–200.

Kamikawa, R., Moog, D., Zauner, S. *et al.* 2017. A non-photosynthetic diatom reveals early steps of reductive evolution in plastids. *Mol. Biol. Evol.* 34: 2355–2366.

Kamikawa, R., Tanifuji, G., Ishikawa, S. A. *et al.* 2015. Proposal of a twin arginine translocator system-mediated constraint against loss of ATP synthase genes from nonphotosynthetic plastid. *Mol. Biol. Evol.* 32: 2598–2604.

加納壘 2016. *Prototheca* による動物の感染症について. 藻類 64: 140–143.

Kwong, W. K., del Campo, J., Mathur, V., Vermeij, M. J. A. & Keeling, P. J. 2019. A widespread coral-infecting apicomplexan with chlorophyll biosynthesis genes. *Nature* 568: 103–107.

丸山真一郎 2013. はらべこ藻類は失われた過去を取り戻せるのか. 藻類 61: 154–158.

Nadakavukaren, M. J. & McCracken, D. A. 1977. An ultrastructural survey of the genus *Prototheca* with special reference to plastids. *Mycopathologia* 61: 117–119.

Obornik, M. 2019. Endosymbiotic evolution of algae, secondary heterotrophy and parasitism. *Biomolecules* 9: 266.

Pombert, J.-F., Blouin, N. A., Lane, C., Boucias, D. & Keeling, P. J. 2014. A lack of parasitic reduction in the obligate parasitic green alga *Helicosporidium*. *PLoS Genet.* 10: e1004355.

Sekiguchi, H., Moriya, M., Nakayama, T. & Inouye, I. 2002. Vestigial chloroplasts in heterotrophic stramenopiles *Pteridomonas danica* and *Ciliophrys infusionum* (Dictyochophyceae). *Protist* 153: 157–167.

Severgnini, M., Lazzari, B., Capra, E. *et al.* 2018. Genome sequencing of *Prototheca zopfii* genotypes 1 and 2 provides evidence of a severe reduction in organellar genomes. *Sci. Rep.* 8: 14637.

白鳥峻志 2019. 従属栄養性クリプト藻 *Goniomonas avonlea* のゲノム解析から明らかになる紅藻由来の二次共生の進化. 藻類 67: 77–80.

Smith, D. R. & Lee, R. W. 2014. A plastid without a genome: evidence from the nonphotosynthetic green algal genus *Polytomella*. *Plant Physiol.* 164: 1812–1819.

Suzuki, S., Endoh, R., Manabe, R., Ohkuma, M. & Hirakawa, Y. 2018. Multiple losses of photosynthesis and convergent reductive genome evolution in the colourless green algae *Prototheca*. *Sci. Rep.* 8: 940.

Waller, R. F. & McFadden, G. I. 2005. The apicoplast: a review of the derived plastid of apicomplexan parasites. *Curr. Issues Mol. Biol.* 7: 57–79.

Xu, P., Widmer, G., Wang, Y. *et al.* 2004. The genome of *Cryptosporidium hominis*. *Nature* 431: 1107–1112.