

藻類学最前線



葉緑体ドロボウと細胞内共生の進化

大沼 亮

はじめに「藻類」になるということ

藻類や植物の葉緑体は細胞内共生によって生じたオルガネラである。緑色・紅色・灰色植物類の祖先は遙か 10 億年以上前にシアノバクテリアを細胞内共生させることによって「藻類化」し、緑藻や紅藻がさらに他の真核生物の細胞内に共生（二次共生あるいはそれ以上の高次共生）することによって複数系統の藻類が誕生した。これらの細胞内共生はそれぞれの系統で独立に生じたもので、真核生物宿主の系統になぞらえて考えると、「藻類化」は複数回起こっていることになる (Keeling 2013)。細胞内共生は「藻類」の多様化に不可欠な要素である。

現存の藻類が細胞内共生によって葉緑体を手にしたということは、今や通説となっている。しかしながら、細胞内共生で葉緑体を獲得し、藻類が多様化したのは遙か昔のことである。葉緑体獲得における進化で、光合成生物を取り込んだ宿主細胞がどのように共生藻を使いこなせるようになったか、また、取り込まれた共生藻がどのように宿主細胞に与えられた環境に甘んじるようになったかという進化の過程を類推することは、もはや一つの生物として成立してしまっている「藻類」を対象とする研究では難しいのかもしれない。我々は捕食性の生物が如何に「藻類化」したかという過程を明らかにするため、クリプト藻と一時的な細胞内共生関係を結ぶ渦鞭毛藻類 *Nusuttodinium* spp. を対象に、盗葉緑体の形態やメカニズムについて研究を行ってきた。この度、The ISME journal に *N. aeruginosum* の共生クリプト藻の形態とトランスクリプトームの変化についての論文が出版されたので (Onuma *et al.* 2020)、本稿ではこの論文を中心に *Nusuttodinium aeruginosum* (図 1A) の盗葉緑体現象を紹介し、細胞内共生の進化と盗葉緑体現象について議論したい。なお、本稿では *Nusuttodinium aeruginosum* の盗葉緑体現象に焦点を当てているため、*Nusuttodinium* 属の進化史、盗葉緑体の種内のバリエーションについては高野 (2015) を参照されたい。

***Nusuttodinium* の盗葉緑体現象と *Nusuttodinium* 研究小史**

盗葉緑体現象 (kleptoplasty, kleptoplastidy) とは、もともと葉緑体を持っていない生物が、他の光合成生物の葉緑体を食作用などによって取り込んで、その葉緑体を細胞内に一時的に維持する現象を指す。宿主細胞はその葉緑体を用いて光合成を行うが、やがては葉緑体を消化してしまうため、再度、光合成生物を取り込む必要がある (Schnepf 1992)。このような現象は、真核生物の系統に広く観察される (Johnson 2011)。盗葉緑体現象は、光合成性生物 (の葉緑体) と一時

的な細胞内共生関係を結ぶ現象であるため、捕食栄養性であった段階から、永続的な細胞内共生を確立するまでの中間的な進化段階の生物であるとしばしば言及される (Bodyl 2017)。これが本当に真実であるかはわからないが、現生の「藻類」が誕生したのは、葉緑体を持っていなかった祖先が光合成生物を細胞内に取り込んで共生させたというイベントを経由した可能性が高い以上、盗葉緑体性生物は細胞内共生の過程を推測するには有用であると考えられる。

我々が研究材料として用いている *Nusuttodinium* spp. はクリプト藻の葉緑体を保持する渦鞭毛藻類である。属名の *Nusutto-* は言うまでもなく日本語の「盗人」に由来し、葉緑体を盗む性質にちなんで冠されている (Takano *et al.* 2014)。*Nusuttodinium* 属の設立は 2014 年で比較的新しいものであるが、*Nusuttodinium* に属する種が最初に記載されたのは 1883 年 (原記載は *Gymnodinium aeruginosum*) で、微細藻の中では古くから知られている (Stein 1883)。現在でこそ *Nusuttodinium* 属渦鞭毛藻類がもつ葉緑体は盗まれた葉緑体であると確かめられているが、原記載では形態の記載のみで、葉緑体については記載されていない (Stein 1883)。1950 年に記載された *G. acidotum* (現在は *Nusuttodinium* 属) も葉緑体の色のみで葉緑体の由来の記述はない (Nygaard 1950)。*Nusuttodinium aeruginosum* と *N. acidotum* の電子顕微鏡観察が始められた 1980 年代には、青緑色の葉緑体はクリプト藻に由来するものであると判明したが、それが永続的なものかどうかははっきりしていなかった (Wilcox & Wedemayer 1984, Schnepf *et al.* 1989)。この 2 種が持つ葉緑体は、クリプト藻の葉緑体よりも遥かに大きく、細胞全体に拡大されているという特徴がある。さらに、葉緑体は細胞辺縁に向けて細かく分葉化しており、葉緑体の形状だけに注目すると、クリプト藻のカップ状の葉緑体とは似ても似つかない (図 1C)。ただし、葉緑体の膜構造は 4 重包膜で、チラコイドは 2 重であり、これらはクリプト藻のものと同じである (Wilcox & Wedemayer 1984, Schnepf *et al.* 1989; 図 1B)。葉緑体の他に、クリプト藻の核とヌクレオモルフが観察されていたが、これらは細胞によって持っていたり持っていなかったりという「ゆらぎ」があった (Schnepf *et al.* 1989, Farmer & Roberts 1990)。Schnepf *et al.* (1989) はクリプト藻核の保持にゆらぎがあることに着目し、*N. aeruginosum* の葉緑体は永続的なものではなく、盗葉緑体 (論文の中では "cleptochloroplast" と記載) であろうと考察している。これらの葉緑体がクリプト藻から盗んだものであると確定的になったのは、*N. acidotum* を使ったクリプト藻の捕食実験がなされた 1991 年のことで、

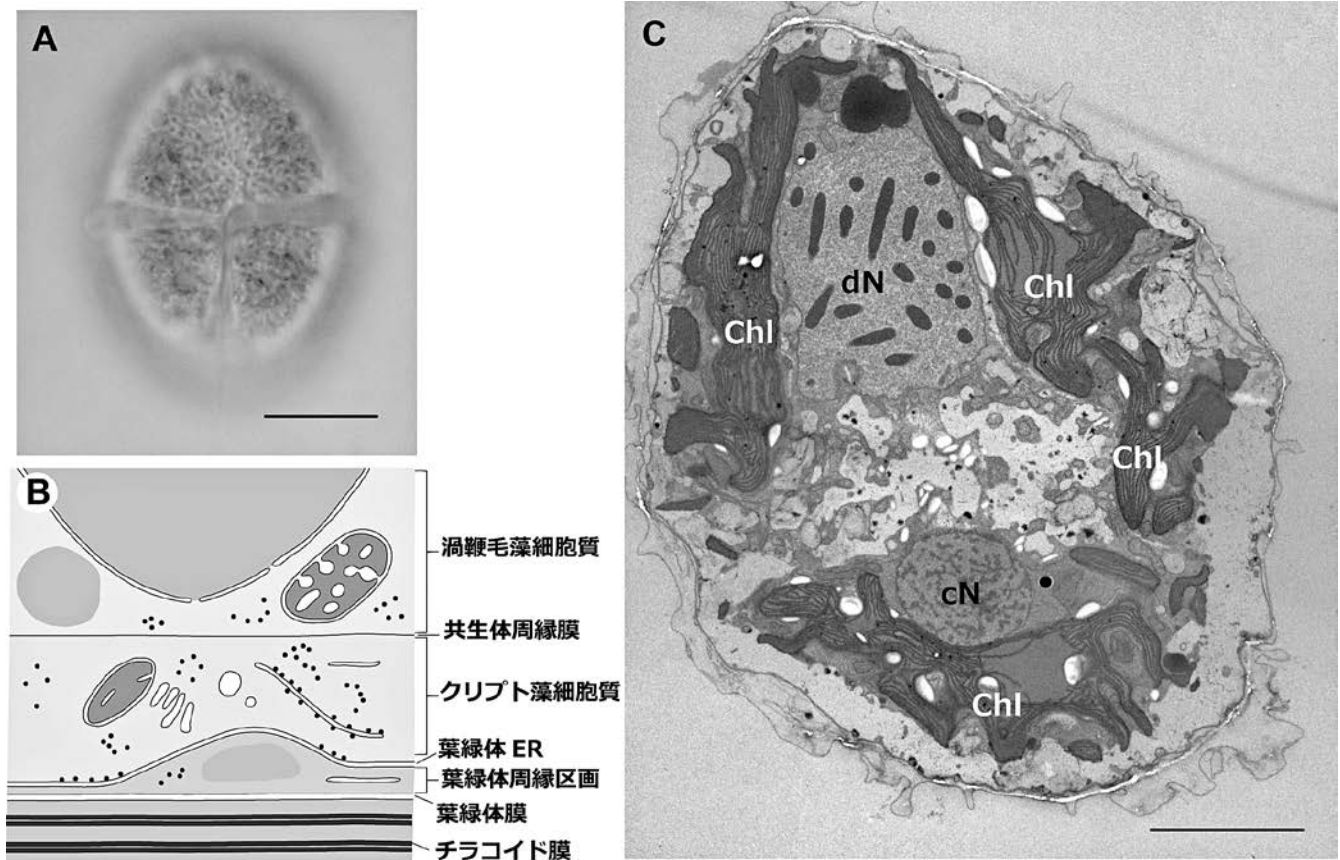


図1. 渦鞭毛藻 *Nusuttodinium aeruginosum* とその盗葉緑体。A, *Nusuttodinium aeruginosum* の光学顕微鏡写真。Bar = 10 μm 。B, 盗葉緑体周縁の膜構造。図は Schnepf *et al.* (1989) を改変; *Nusuttodinium aeruginosum* の透過型電子顕微鏡写真。Chl, cN, dN はそれぞれ盗葉緑体, クリプト藻核, 渦鞭毛藻核を示す。盗葉緑体は細胞辺縁で分葉化している。Bar = 5 μm 。

この渦鞭毛藻は *Chroomonas* 属のクリプト藻を捕食することで葉緑体を得ていることが確かめられ、クリプト藻との共培養株として9ヶ月間維持されたとの記録がある (Fields & Rhodes 1991)。この論文では培養株を用いての形態観察はされていないが、盗葉緑体生物研究において、培養株の確立がブレイクスルーになりうると強く認識させられる報告である。

Nusuttodinium aeruginosum の盗葉緑体の拡大にはクリプト藻の核が重要である

私が研究生活を始めた当時、手元には *Nusuttodinium* 属渦鞭毛藻類の培養株がなかったため、当該渦鞭毛藻の採集と培養株の作成から着手した。堀口健雄教授の研究室 (北海道大学理学院) に大学院生として所属していたときに、*N. aeruginosum* の培養株の作成を成功することができたため、なぜクリプト藻の葉緑体と *Nusuttodinium* 細胞内の葉緑体に大きな形態の違いがあるのかを透過型電子顕微鏡観察で明らかにしようと試みた。*Nusuttodinium aeruginosum* はクリプト藻を与えずに培養すると、やがては葉緑体を完全に消化してしまい、無色化する。この方法で無色化した *Nusuttodinium* 細胞を作り、1細胞のクリプト藻を食べさせて、その後

の変化を観察するという手法をとった。*Nusuttodinium aeruginosum* はクリプト藻をまるごと取り込むため、葉緑体と核、ヌクレオモルフなどが細胞内に観察される (Onuma & Horiguchi 2013)。その後、細胞内に取り込まれた葉緑体は徐々に拡大されていくが、この間、*Nusuttodinium* 細胞は細胞分裂をしない。葉緑体はクリプト藻取り込み後約72時間で *Nusuttodinium* 細胞の全体に行き渡るほどに拡大され、最終的には元のサイズの20倍以上になる (Onuma & Horiguchi 2015)。この間、不思議なことに、*Nusuttodinium* 細胞内に取り込まれたクリプト藻のヌクレオモルフはクリプト藻核の周りに移動し、分裂を繰り返して複数個に増加する。葉緑体を拡大させた *Nusuttodinium* 細胞は、取り込み後120時間ほどで初めて細胞分裂を行うが、自身の細胞分裂と同調して葉緑体も分裂させ、両方の娘細胞に受け継ぐことが明らかとなった (図2)。その際、クリプト藻核は *Nusuttodinium* 細胞と同調して分裂せず、片方の娘細胞のみに受け継がれる。一方で、*Nusuttodinium* 細胞内で分裂・増加したヌクレオモルフは両方の娘細胞に受け継がれるが、数は等分されることがわかった。野外サンプルを用いて行われた上記の形態観察で、クリプト藻核とヌクレオモルフがあったりなかったりす

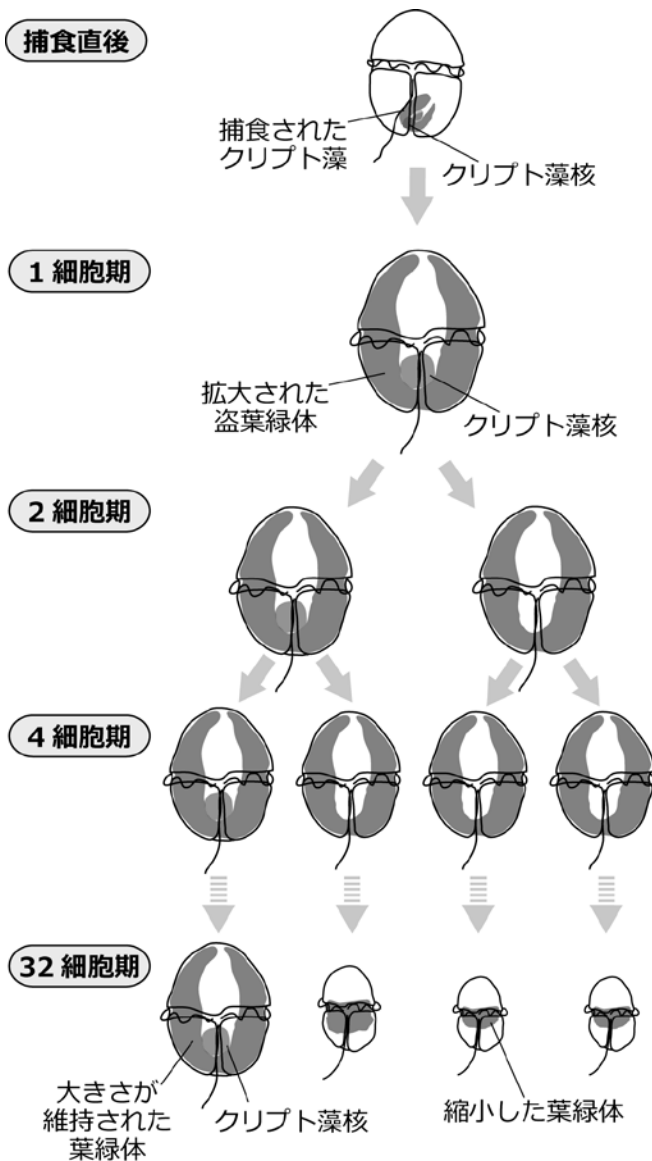


図2. *Nusuttodinium aeruginosum* の盗葉緑体の形態変化。

る「ゆらぎ」の原因はこのクリプト藻核の不分裂と片側娘細胞にのみ受け継がれていく分配様式、及びヌクレオモルフの不均等分配にあると思われる。さらに *Nusuttodinium* 細胞の細胞分裂ごとに盗葉緑体とクリプト藻核の分配を追跡していくと、クリプト藻核はやはりただ1つの細胞にしか受け継がれず、この細胞が常に細胞全体に渡る葉緑体を維持していることがわかった。対して、クリプト藻核を失った細胞の葉緑体は縮小化していく一方で、中には葉緑体を消化してしまう細胞も現れた (Onuma & Horiguchi 2015)。このことから、盗葉緑体の拡大にはクリプト藻核が必要で、一度核を失うと葉緑体の拡大を伴わない分裂を繰り返すために、葉緑体が縮退していくと推察された(図2)。それと同時に、葉緑体の維持・拡大にはクリプト藻核の遺伝子群が使われている可能性が強く示唆された。

Nusuttodinium aeruginosum のトランスクリプトーム解析に向けて

上記で *N. aeruginosum* の細胞内のクリプト藻核に転写活性があると示唆された。しかしながら、実際のところ、どのようなクリプト藻遺伝子群が発現し、それらがどのように変化しているのかは形態観察では明らかにできない。私が国立遺伝学研究所の宮城島進也教授の研究室(共生細胞進化研究室)にポスドクとして異動してから、盗葉緑体現象のメカニズムを明らかにすべく、トランスクリプトーム解析や種々の培養実験に取り組んできた。トランスクリプトーム解析には、細胞内に発現している転写物(mRNA)を逆転写した後、それらの配列を次世代シーケンサー(NGS)によって網羅的に取得するRNA-seqを用いることにした。RNA-seqで出力された膨大な数のリードを参照配列にマッピングし、リードの数をFPKMなどの補正を用いて比較することで、遺伝子間の相対的な発現量を推定できる。異なる培養条件や異なる発生ステージ間で遺伝子ごとにリード数の比較をすれば、その条件間のトランスクリプトームの変動を捉えることができる。NGSを使った解析が普及してきた現在、トランスクリプトーム解析は、Novogene Co., Ltd. や株式会社マクロジェン・ジャパンの提供する真核生物用のmRNA-seq解析サービスを利用することで、藻体から抽出したtotal RNAを送付すればraw readのデータが返されるという、非常にお手軽な手法になっている。我々は、このNGSを使ったトランスクリプトーム解析によって *Nusuttodinium* 細胞内の共生クリプト藻の役割を明らかにしようと試みた。

RNA-seqがお手軽になったとは言え、RNA-seqは転写物の配列をmRNA量依存的に片っ端からシーケンシングする手法であるため、このデータを用いたトランスクリプトーム解析には培養条件や細胞の状態の違いが如実に反映される可能性がある。したがって、どのような細胞からRNAを抽出したかが重要になるため、まずは *N. aeruginosum* とクリプト藻の培養条件の検討を行った。我々が形態観察を行った *N. aeruginosum* の株にはバクテリアがコンタミしており、混入バクテリアが *N. aeruginosum* やクリプト藻に何らかの影響を及ぼす可能性があった。このような状況を避けるため、マイクロペッティングによる無菌株作出を行った。幾度となく単離を繰り返した結果、培養株の作出に成功したが、次は *N. aeruginosum* と食べられていないクリプト藻の細胞を効率的に分ける方法を考える必要があった。 *Nusuttodinium* spp. はクリプト藻と二員培養で維持されるが、一緒にいるクリプト藻を食べ尽くしてしまうことはほとんどない。このため、常に取り込まれていないクリプト藻細胞が培養株中に存在する。生物としては賢い生存戦略を取っているように見えるが、実験者にとっては煩わしい性質である。このような状況でRNAを抽出してしまうと、それが *Nusuttodinium* 細胞内の共生クリプト藻から由来するものなのか、それとも取り込まれていないクリプト藻に由来するものなのかの区別が不可能となる。そのため、我々は食品保存用のポリプロピレン製容器の蓋と

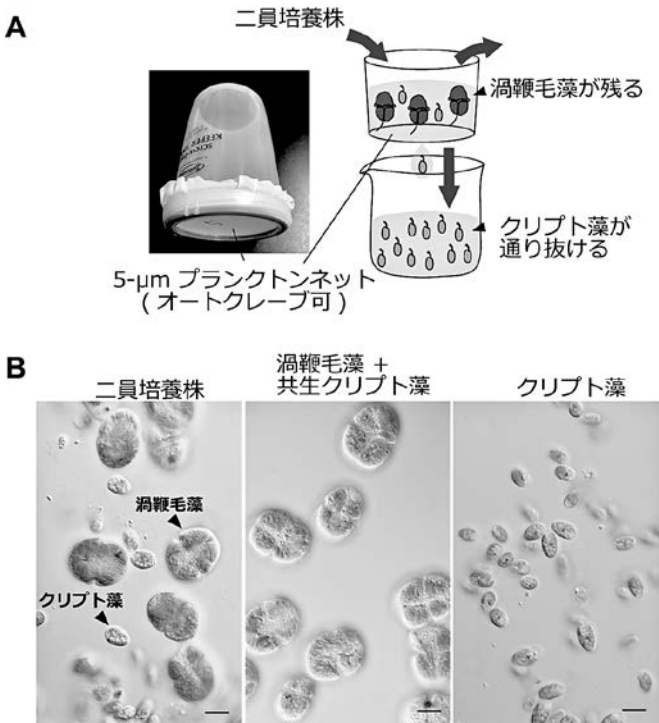


図3. *Nusuttodinium aeruginosum* とクリプト藻のトランスクリプトーム解析法. A, *Nusuttodinium aeruginosum* とクリプト藻を分けるために用いたプランクトンネットフィルター (左) とフィルトレーション法 (右). プランクトンネット上に残った *N. aeruginosum* + 共生クリプト藻を解析に用いた. B, *Nusuttodinium aeruginosum* とクリプト藻の二員培養 (左), クリプト藻取り込んで維持している *N. aeruginosum* (中央), 取り込まれる前のクリプト藻 (右) の写真. Bar = 10 μm .

底をくり抜き、蓋と身の上に 5 μm のプランクトンネットを挟み込むことでフィルターを作成し、*N. aeruginosum* とクリプト藻の細胞を分ける手法を考案した (図3)。フィルター付き容器に共培養株を流し込むと、細胞の大きい *N. aeruginosum* はプランクトンネット上に残り、取り込まれていないクリプト藻はプランクトンネットを通り抜けるので、*N. aeruginosum* と取り込まれていないクリプト藻を効率的に分けることが可能となった。このようにしてトランスクリプトーム解析に向けての準備を整えた。

クリプト藻は共生を機に劇的な変化を遂げる

上記で確立した株と方法を用いて、*Nusuttodinium* 細胞内のクリプト藻核がどのように盗葉緑体の維持に関わるかを明らかにすべく、トランスクリプトーム解析を行った。盗葉緑体現象には光合成が密接に関係していることは予想できたため、明暗のトランスクリプトーム比較もできるように培養条件を設定した。*N. aeruginosum* + 共生クリプト藻と取り込まれる前のクリプト藻 (自由生活クリプト藻) を明暗条件で培養し、暗期と明期のクリプト藻のトランスクリプトームを比較した。このとき、暗期で 24 時間培養したクリプト藻細胞から取得したトランスクリプトームを暗期のトランスクリプトーム、その

後明期に移して 1, 6, 12 時間培養した細胞のトランスクリプトームを明期のトランスクリプトームとした。まずは取り込まれる前と *N. aeruginosum* に取り込まれた後では何かがどう変わるのかを明らかにするため、共生クリプト藻と自由生活クリプト藻のデータをそれぞれ統合し、両者を比較した。その結果、形態観察で示唆されていたように、共生クリプト藻核は転写活性を維持しており、取り込まれる前よりも代謝・翻訳・DNA 合成に関する遺伝子群の転写量が相対的に増加することが明らかとなった。加えて、光化学系のタンパク質、クロロフィル合成に関連する酵素、光合成によって発生する活性酸素に対処する酵素の遺伝子群の転写量も上昇することがわかった。対して、アクチン、チューブリン等の細胞運動に関連する遺伝子群、及び M 期特異的タンパク質の遺伝子の転写量が取り込まれる前よりも相対的に低下することが示された (Onuma *et al.* 2020)。このことから、*Nusuttodinium* 細胞内のクリプト藻は、細胞分裂や運動が停止し、光合成や光合成産物の代謝、葉緑体の製造に特化した「マシーン」のように変化していると予想される。次に、自由生活クリプト藻で明暗に応じて発現変動する遺伝子群を検出し、それらの遺伝子群の発現パターンが、共生クリプト藻ではどのように変化するかを比較した。その結果、自由生活クリプト藻では明暗の切り替えに即座に反応して転写を変化させていた遺伝子群の多くが、共生クリプト藻では明暗の切り替えに反応しなくなることを明らかとなった。特に、多くの光合成関連遺伝子群の転写量は、自由生活クリプト藻において明期に上昇し、暗期に低下するというパターンを見せるが、共生クリプト藻では暗期でも明期と変わらないほどの転写量で、明暗に関わらず常に高発現するパターンへと変わっていた。なぜこのような発現パターンになるのかは不明であるが、*Nusuttodinium* 細胞内のクリプト藻は取り込まれる前に持っていた細胞外皮構造や眼点、鞭毛等を失うので、外界の刺激に対する応答ができなくなっている可能性があることも要因のひとつと考えられる。

上記の解析では DNA 合成に関する遺伝子群の発現上昇が認められたため、クリプト藻核が取り込み後どのように変化していくかを細胞学的な観察とゲノムの qPCR によって検証した。*Nusuttodinium* 細胞に取り込まれたクリプト藻核は徐々にサイズが大きくなっていく。蛍光染色によって核の輝度を定量すると、取り込み後 12 日には元の 10 倍以上になることが明らかになった (Onuma *et al.* 2020; 図4)。qPCR でもクリプト藻核の DNA 量が増加していることが確認された。前述の通り、クリプト藻核は *Nusuttodinium* 細胞内で分裂しなくなる。その状況で DNA 複製が起こることは、すなわちクリプト藻核が多倍体になっていることを意味している。ちなみに、ヌクレオモルフの DNA 量も *Nusuttodinium* 細胞内で増加することが明らかとなり、このことは形態観察で示されたヌクレオモルフの個数の増加とも合致していると思われる。ここで気になることは、クリプト藻核の多倍体化とトランスクリプトームの変化に関連性があるのかという点である。NGS によ

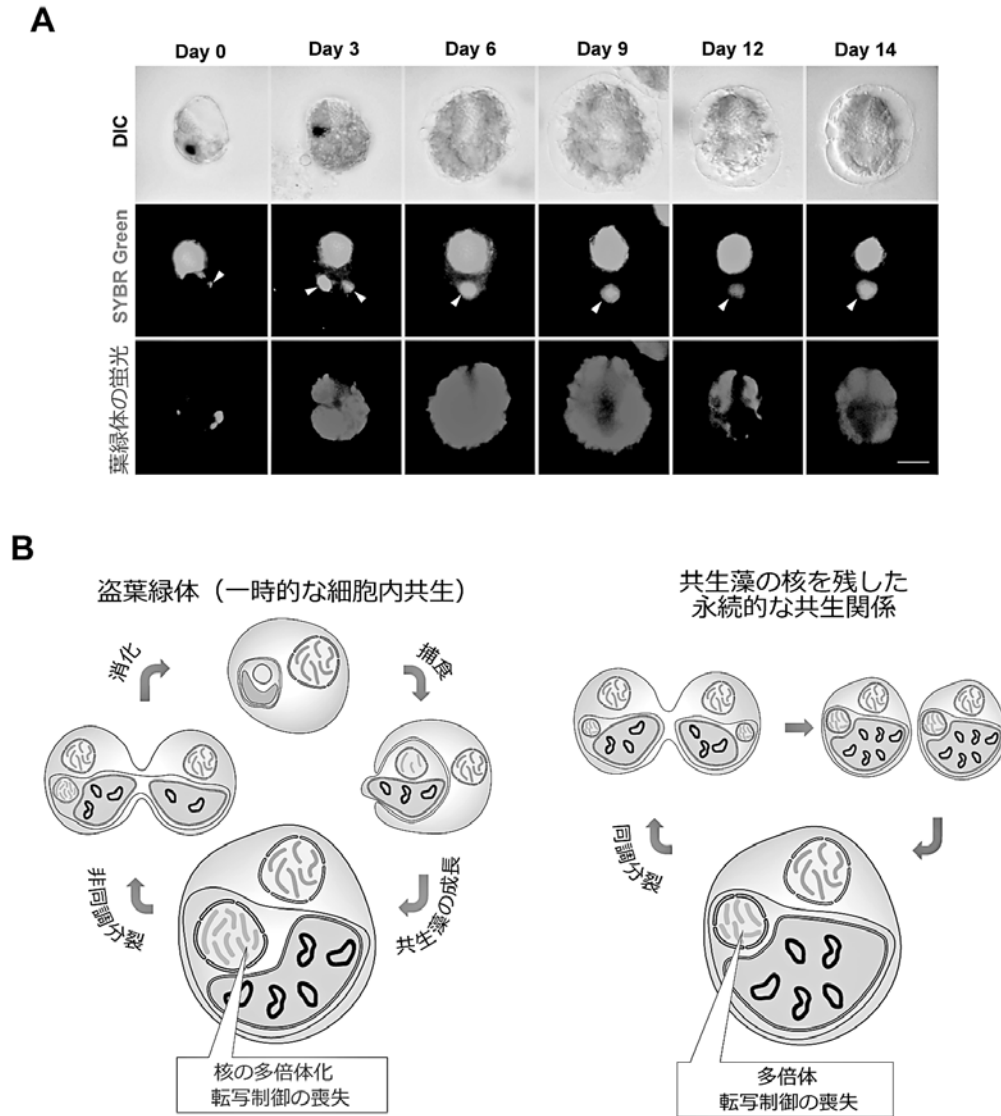


図4. Onuma *et al.* (2020) で得られた結果の一部。A, *Nusuttodinium aeruginosum* に取り込まれた後のクリプト藻核（中段；矢尻）と葉緑体（下段）の変化。 *Nusuttodinium aeruginosum* に取り込まれたクリプト藻核と葉緑体は徐々に拡大する。 Bar = 10 μ m。 B, 本研究の結果の概略図。 *Nusuttodinium aeruginosum* に見られる盗葉緑体現象では、取り込まれた藻類核の多倍体化と転写制御能の喪失が起こる（左）。葉緑体とその起源となった細胞の縮退核をもつ一部の藻類は、葉緑体と縮退核を自身の細胞分裂に同調させることで、永続的な共生関係を維持している。その縮退核は多倍体化しており、環境変動に応じた転写制御が無くなっていることが知られている（右）。

るトランスクリプトーム解析で検出される発現変動は、「細胞全体の mRNA に対しての当該 mRNA レベルの比の変動」を検出している。NGS で RNA-seq を行った時点で、全サンプルに外部標準を入れて補正しない限り、サンプル間の mRNA の絶対量の変化を見ることはできないはずである。我々は、mRNA の絶対量の変化を明らかにするため、自由生活クリプト藻と取り込まれた直後のクリプト藻、及び取り込まれてから 6、12 日後の共生クリプト藻のクリプト藻核 1 つあたりの転写物の量を RT-qPCR によって定量・推定した。トランスクリプトーム解析で発現上昇すると示された光化学系、カルビンサイクル、活性酸素除去に関連する遺伝子群の mRNA レベルは、取り込まれる前よりも取り込まれた直後にわずかに

に上昇し、その後 30 ~ 40 倍ほどまでに上昇していくと推定された。対して、トランスクリプトーム解析で発現が抑制されると検出されたアクチンやチューブリンは、取り込み直後に mRNA レベルが低下し、その後上昇に転ずるが取り込まれる前の 2 ~ 3 倍程度にしか上昇しないことが明らかになった (Onuma *et al.* 2020)。これらのことから、核の多倍体化に伴って mRNA レベルが増加していくが、遺伝子によって著しく発現が増加するものと若干の増加にとどまるものの「増加率の差」が、時間を経過とともに mRNA 全体の比に反映されてゆき、結果としてトランスクリプトーム解析での発現上昇、発現抑制の検出につながったものと推測される。なぜ遺伝子によってこのような差が生まれるのかは現在のところ

不明である。

***Nusuttodinium aeruginosum* はクリプト藻に依存している**

上記の結果は、*Nusuttodinium aeruginosum* がクリプト藻を都合のいいように使い捨てしているような「奴隷化」を連想させる。しかしながら、*Nusuttodinium aeruginosum* にとってクリプト藻はなくてはならない存在で、クリプト藻に自身の生存を握られていると考えられる結果も得られた。*Nusuttodinium aeruginosum* を至適光強度 ($10 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で培養すると、クリプト藻核の有無に関わらず *N. aeruginosum* は生存できるが、クリプト藻核を失った細胞は強光下 ($200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で速やかに死滅することが明らかになった (Onuma *et al.* 2020)。自由生活クリプト藻は $200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ でも増殖可能であるため、*N. aeruginosum* が強光に対処できないと考えられる。トランスクリプトーム解析では活性酸素消去系の遺伝子群が共生クリプト藻で発現上昇することが示されたが、上記の培養実験と併せて考えると、クリプト藻核の遺伝子群は光合成酸化ストレスへの対応も果たしていることが示唆された。このように、クリプト藻核は光合成による酸化ストレスを生じる強光条件下で宿主渦鞭毛藻の生存を支えていることが明らかとなった。*Nusuttodinium aeruginosum* は遊泳性であるため、野外の環境中で強い光が当たる場合は、その場から速やかに退避して新しいクリプト藻を取り込むことである程度対処できると思われる。しかしながら、野外の *N. aeruginosum* が共生相手として選んでいるクリプト藻はどうやらある特定のクリプト藻のみのもので、強い選好性があると考えられる (Onuma & Horiguchi 2016)。今の所、本種が盗葉緑体を止めて何でも食べる捕食性に切り替わることは観察されていないので、*N. aeruginosum* が生き残っていくためには、共生相手にふさわしい特定のクリプト藻を取り込むことができるか、すなわちそのクリプト藻が同じ場所にいるかどうかが大問題になってくることが予想される。こう考えると、*N. aeruginosum* は種としての存続をクリプト藻に握られている“綱渡り”のような生活を送っていると考えられる。

核ドロボウは永続的な共生体獲得の途中か？

我々は、*Nusuttodinium aeruginosum* の盗葉緑体現象では、クリプト藻核の多倍体化が起こること、クリプト藻の明暗に応じた転写制御が喪失することを明らかにした。*Nusuttodinium aeruginosum* によく似た盗葉緑体現象を示す生物に織毛虫 *Mesodinium rubrum* が挙げられる。*Mesodinium rubrum* はクリプト藻 *Teleaulax amphioxeia* や *Geminigera cryophila* から葉緑体を盗む生物であるが、クリプト藻核も細胞内に取り込み、その核には転写活性があることが示されていた (Johnson *et al.* 2007)。*Nusuttodinium aeruginosum* と同様に、クリプト藻核は *Mesodinium* 細胞内では分裂することができず、片側の娘細胞だけに受け継がれていくが、ひとたびクリプト藻核を失うと光合成活性の低下を招き、葉緑体の分

裂もできなくなる (Johnson *et al.* 2007, Kim *et al.* 2017)。*Mesodinium rubrum* が維持するクリプト藻核は、宿主細胞の中央に位置し、元のクリプト藻よりも直径が4倍ほどに大きくなっているようである (Kim *et al.* 2017)。すなわち、このクリプト藻核も多倍体化している可能性がある。さらに最近、査読前の論文であるので今後の展開が気になるところではあるが、bioRxivに *Mesodinium rubrum* のクリプト藻核でも明暗の発現調節がなくなることが報告された (Altenburger *et al.* 2020)。このように、*Mesodinium* の盗葉緑体現象は *Nusuttodinium aeruginosum* のものと類似する点が非常に多い。取り込まれた生物がクリプト藻であることは共通しているので、細胞外皮を剥がされたクリプト藻が一様にそのような状態になってしまうという、クリプト藻類自体の潜在性が上記2つの盗葉緑体生物の類似性につながっているのかもしれないが、渦鞭毛藻の *Nusuttodinium* と織毛虫の *Mesodinium* では盗葉緑体の進化的起源が異なるので、両者の比較に価値があるのは間違いがない。

さらに、*Nusuttodinium* や *Mesodinium* に見られる共生藻核の変化は、クリプト藻類やクロララクニオン藻類の共生藻核の名残、ヌクレオモルフとも類似している点がある。クリプト藻類とクロララクニオン藻類はそれぞれ紅藻、緑藻に由来する共生藻を永続的に保持しており、共生藻核は縮退的なゲノムとともにヌクレオモルフとして残存している (Curtis *et al.* 2012)。クリプト藻 *Guillardia theta* とクロララクニオン藻 *Bigelowiella natans* の宿主核は両方とも単相であるが、ヌクレオモルフは2倍体 (クリプト藻) と4倍体 (クロララクニオン藻) である (Hirakawa & Ishida 2014)。*Guillardia theta* のヌクレオモルフには細胞周期関連遺伝子群が残っているが、それらは細胞周期依存的な発現パターンを示さず、常に発現している (Onuma *et al.* 2017)。*Bigelowiella natans* のヌクレオモルフでも、ほとんどすべての遺伝子で明暗周期依存的な発現調節がされていない (Suzuki *et al.* 2016)。さらに、葉緑体やミトコンドリア、その他の共生現象でも、ゲノムの多倍体化 (Bendich 1987, Komaki & Ishikawa 1999) と発現制御の喪失 (Yagi & Shiina 2014) は共通する現象である。つまり、これらの現象は、*Nusuttodinium* や *Mesodinium* に見られるように、永続的な共生関係を確立する前から起こりうる現象であると示唆される。

上記はすべて、共生藻核を残すことが永続的な共生確立への道であると言わんばかりの考察であるが、すべての盗葉緑体生物が光合成生物の核を残す方向に進化しているとも限らない。*Dinophysis* spp. は *Mesodinium rubrum* が保持している盗葉緑体を横取りし、その葉緑体を2ヶ月ほど保持できる。*Dinophysis* の細胞内には葉緑体以外の外来オルガネラは観察されず、クリプト藻核は *Mesodinium* の細胞内容物と共に取り込み直後に消化される (Kim *et al.* 2012)。トランスクリプトーム解析から、*Dinophysis* の核には葉緑体維持に使われている可能性のある遺伝子群が複数コードされていることが明らかとなっている (Wisecaver & Hackett 2010, Hongo *et al.*

2019)。これらが本当に葉緑体維持に関わっているかは詳細な解析が必要であるが、共生藻の核も盗む方向に進化するのではなく、予め重要な遺伝子を宿主核への遺伝子転移によって準備しておくという進化の方向もあると考えられる。

現存の藻類は、宿主の系統、共生藻の系統、それらの細胞内構造に多様性がある。盗葉緑体生物にも系統的、細胞構造的な多様性があり、生物ごとに様々な手法で葉緑体を盗んで維持している。これらは、永続的な共生確立までの進化が必ずしも画一的ではなく、多様性に富んだ進化の上で、それぞれが「藻類化」を遂げたと考えられる。しかし、多様性に富んでいるということは、決して不都合なことではなく、むしろ多様性を比較することによって共生確立に至る大切な要素を抽出できると考えられる。今後も *Nusuttodinium* 属の盗葉緑体現象を中心として研究を続け、藻類の多様性を生み出した原動力、細胞内共生の共通原理を明らかにする研究に邁進する所存である。

引用文献

- Altenburger, A., Cai, H., Li, Q. *et al.* 2020. Limits to the cellular control of sequestered cryptophyte prey in the marine ciliate *Mesodinium rubrum*. bioRxiv: doi.org/10.1101/2020.07.14.202424
- Bendich, A. J. 1987. Why do chloroplasts and mitochondria contain so many copies of their genome? *BioEssays* 6: 279–282.
- Bodył, A. 2017. Did some red alga-derived plastids evolve via kleptoplastidy? A hypothesis. *Biol. Rev.* 93: 201–222.
- Curtis, B. A., Tanifuji, G., Burki, F. *et al.* 2012. Algal genomes reveal evolutionary mosaicism and the fate of nucleomorphs. *Nature* 492: 59–65.
- Farmer, M. A. & Roberts, K. R. 1990. Organelle loss in the endosymbiont of *Gymnodinium acidotum* (Dinophyceae). *Protoplasma* 153: 178–185.
- Fields, S. D. & Rhodes, R. G. 1991. Ingestion and retention of *Chroomonas* spp. (Cryptophyceae) by *Gymnodinium acidotum* (Dinophyceae). *J. Phycol.* 27: 525–529.
- Hirakawa, Y. & Ishida, K. 2014. Polyploidy of endosymbiotically derived genomes in complex algae. *Genome Biol. Evol.* 6: 974–980.
- Hongo, Y., Yabuki, A., Fujikura, K. & Nagai, S. 2019. Genes functioned in kleptoplastids of *Dinophysis* are derived from haptophytes rather than from cryptophytes. *Sci. Rep.* 9: 1–11.
- Johnson, M. D. 2011. The acquisition of phototrophy: Adaptive strategies of hosting endosymbionts and organelles. *Photosynth. Res.* 107: 117–132.
- Johnson, M. D., Oldach, D., Delwiche, C. F. & Stoecker, D. K. 2007. Retention of transcriptionally active cryptophyte nuclei by the ciliate *Myrionecta rubra*. *Nature* 445: 426–428.
- Keeling, P. J. 2013. The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64: 583–607.
- Kim, M., Drumm, K., Daugbjerg, N. & Hansen, P. J. 2017. Dynamics of sequestered cryptophyte nuclei in *Mesodinium rubrum* during starvation and refeeding. *Front. Microbiol.* 8: 1–14.
- Kim, M., Nam, S. W., Shin, W., Coats, D. W. & Park, M. G. 2012. *Dinophysis caudata* (dinophyceae) sequesters and retains plastids from the mixotrophic ciliate prey *Mesodinium rubrum*. *J. Phycol.* 48: 569–579.
- Komaki, K. & Ishikawa, H. 1999. Intracellular bacterial symbionts of aphids possess many genomic copies per bacterium. *J. Mol. Evol.* 48: 717–722.
- Nygaard, G. 1950. Hydrobiological studies on some Danish ponds and lakes. Part 2. *Kongel. Danske Vidensk. Selsk. Biol. Skr.* 7: 1–293.
- Onuma, R., Hirooka, S., Kanesaki, Y., Fujiwara, T., Yoshikawa, H. & Miyagishima, S. 2020. Changes in the transcriptome, ploidy, and optimal light intensity of a cryptomonad upon integration into a kleptoplastic dinoflagellate. *ISME J.* 14: 2407–2423.
- Onuma, R. & Horiguchi, T. 2013. Morphological transition in kleptochloroplasts after ingestion in the dinoflagellates *Amphidinium poecilochroum* and *Gymnodinium aeruginosum* (Dinophyceae). *Protist* 164: 622–642.
- Onuma, R. & Horiguchi, T. 2015. Kleptochloroplast enlargement, karyoklepty and the distribution of the cryptomonad nucleus in *Nusuttodinium* (= *Gymnodinium*) *aeruginosum* (Dinophyceae). *Protist* 166: 177–195.
- Onuma, R. & Horiguchi, T. 2016. Specificity of *Chroomonas* (Cryptophyceae) as a source of kleptochloroplast for *Nusuttodinium aeruginosum* (Dinophyceae). *Phycol. Res.* 64: 35–43.
- Onuma, R., Mishra, N. & Miyagishima, S. 2017. Regulation of chloroplast and nucleomorph replication by the cell cycle in the cryptophyte *Guillardia theta*. *Sci. Rep.* 7: 1–12.
- Schnepf, E. 1992. Nutritional strategies in dinoflagellates: A review with emphasis on cell biological aspects. *Eur. J. Protistol.* 28: 3–24.
- Schnepf, E., Winter, S. & Mollenhauer, D. 1989. *Gymnodinium aeruginosum* (Dinophyta): A blue-green dinoflagellate with a vestigial, anucleate, cryptophycean endosymbiont. *Plant Syst. Evol.* 164: 75–91.
- Stein, F. 1883. Der Organismus der Infusionsthiere nach eigenen Forschungen in systematischer Reihenfolge bearbeitet. III. Abtheilung. II. Hälfte. Die Naturgeschichte der arthrodelen Flagellaten. Einleitung und Erklärung der Abbildungen. Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Suzuki, S., Ishida, K. & Hirakawa, Y. 2016. Diurnal transcriptional regulation of endosymbiotically derived genes in the chlorarachniophyte *Bigelowiella natans*. *Genome Biol. Evol.* 8: 2672–2682.
- 高野義人 2015. 渦鞭毛藻類と葉緑体～ *Nusuttodinium* の目指すもの. *藻類* 63: 10–14.
- Takano, Y., Yamaguchi, H., Inouye, I., Moestrup, Ø. & Horiguchi, T. 2014. Phylogeny of five species of *Nusuttodinium* gen. nov. (Dinophyceae), a genus of unarmoured kleptoplastidic dinoflagellates. *Protist* 165: 759–778.
- Wilcox, L. W. & Wedemayer, G. J. 1984. *Gymnodinium acidotum* Nygaard (Pyrrophyta), a dinoflagellate with an endosymbiotic cryptomonad. *J. Phycol.* 20: 236–242.
- Wisecaver, J. H. & Hackett, J. D. 2010. Transcriptome analysis reveals nuclear-encoded proteins for the maintenance of temporary plastids in the dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. *BMC Genomics* 11: 366
- Yagi, Y. & Shiina, T. 2014. Recent advances in the study of chloroplast gene expression and its evolution. *Front. Plant Sci.* 5: 1–7.

(遺伝研・遺伝形質)