

ムカデ寄生虫に葉緑体の痕跡を発見！ ～進化過程で失われた光合成機能～

マラリア原虫やトキソプラズマ原虫などのアピコンプレクサ門に属する病原寄生虫は、葉緑体を持ち、光合成を行っていた藻類の仲間から進化したと考えられています。実際、アピコンプレクサ門寄生虫の多くは、その細胞内に、光合成能を欠失した痕跡的葉緑体を持っています。無脊椎動物に感染するグレガリナもアピコンプレクサ門に属し、痕跡的葉緑体を持つ可能性が指摘されていました。しかし、実験室内での培養ができないため、ゲノムのトランスクリプトーム解析を行うことが難しく、その葉緑体進化はよく分かっていませんでした。

本研究では、筑波大学構内にてセシジアカムカデ、長野県にてキシヤヤスデ、パラオ共和国にてヤケヤスデを採取し、それぞれの消化管中からグレガリナを単離してトランスクリプトームデータを取得しました。これを用いて、系統的位置を高精度に推測するための大規模分子系統解析と、葉緑体内部で機能すると考えられる酵素の探索を行いました。

その結果、ムカデ寄生グレガリナのトランスクリプトームデータ中に、葉緑体内部で働く酵素の塩基配列を発見しました。一方、2種のヤスデ寄生グレガリナからは、葉緑体機能に関わる酵素の塩基配列は一切検出されませんでした。また、大規模分子系統解析では、痕跡的葉緑体が残存する複数のグレガリナ系統が、葉緑体構造が欠失したと考えられる系統の中で、バラバラに位置しました。このことから、グレガリナの進化過程において、痕跡的葉緑体の欠失は、独立に複数回（少なくとも3回）起こったことが示唆されました。

研究代表者

筑波大学計算科学研究センター

稲垣 祐司 教授

研究の背景

アピコンプレクサ門に属するマラリア原虫やトキソプラズマ原虫は、その祖先が葉緑体を持つ真核生物の系統であることから、光合成能力を失った葉緑体（痕跡的葉緑体）を細胞内に有しています。これらは、ヒトや家畜に深刻な病原性を持つため、医学・獣医学的な側面から研究が盛んに行われてきました。また、アピコンプレクサ門には、病原性寄生虫だけでなく、広範な無脊椎動物に感染するグレガリナも所属しています。グレガリナは古くからその存在を知られていましたが、病原性寄生虫に比べると研究は進んでいませんでした。近年ようやく、グレガリナの大規模遺伝子配列データを用いた研究が始まり、一部のグレガリナでは、痕跡的葉緑体が存在する可能性が指摘されるようになりました。しかし、これまでに把握されているグレガリナの多様性に対して、大規模遺伝子配列データが取得されている種数はわずかです。そのため、グレガリナを含むアピコンプレクサ門の進化を理解するためには、系統的にさまざまなグレガリナを研究する必要があります。

研究内容と成果

本研究では、セスジアカムカデ（筑波大学構内にて採取）、ヤケヤスデの一種（パラオ共和国バベルダオブ島にて採取）、キシヤスデ（長野県南佐久郡南牧村にて採取）の消化管中から、それぞれ別種のグレガリナを単離し、15~50個程度のグレガリナ細胞について、単細胞トランスクリプトーム解析^{注1}を行いました（図1A）。この解析データをもとに、73遺伝子の配列データから構成されたアライメントデータを作成し、分子系統解析を行いました。その結果、今回得られたグレガリナ3種は、すべてグレガリナの一群であるユーグレガリナ類の一種であることが分かりました（図1B）。また、ヤケヤスデとキシヤスデから単離したグレガリナは、互いに最も近縁となりましたが、セスジアカムカデから単離したグレガリナ（*Stenophora* sp.）は、ヤスデから単離した2種のグレガリナとはいずれも系統的に近縁とはなりませんでした。

一般に、葉緑体は光合成器官として知られていますが、それ以外に、イソプレノイド^{注2}、ヘム^{注3}、脂肪酸^{注4}を合成する能力も持っています。実際、アピコンプレクサ門病原性寄生虫が持つ痕跡的葉緑体では、イソプレノイド、ヘム、脂肪酸が合成されています（図2）。そこで、グレガリナには痕跡的葉緑体があるのか、また、痕跡的葉緑体がある場合、どのような機能があるのかを調べました。あるグレガリナが痕跡的葉緑体を持っていれば、その細胞小器官内では、イソプレノイド、ヘム、脂肪酸の合成に関わる酵素群が働いているはずで、これらの合成系酵素をコードする遺伝子転写物が、グレガリナ3種のトランスクリプトームデータ中に存在するか解析したところ、興味深いことに、セスジアカムカデから単離された*Stenophora* sp.から、イソプレノイド合成に必要な3つの酵素と、ヘム合成に必要な1つの酵素が検出されました。一方、ヤスデから単離したグレガリナ2種のトランスクリプトームデータからは、痕跡的葉緑体の存在を示す情報は得られませんでした。これらの結果から、①*Stenophora* sp.は痕跡的葉緑体を持ち、その細胞小器官内で少なくともイソプレノイドとヘムを合成していること、②ヤスデから単離したグレガリナ2種は痕跡的葉緑体の構造自体も失ったこと、が推測されました（図2）。

今回の73遺伝子に基づく大規模分子系統解析と葉緑体関連遺伝子の探索結果から、グレガリナにおける複雑な葉緑体進化の過程が推察されます。73遺伝子系統樹では、先行研究で痕跡的葉緑体の存在が示唆されたグレガリナと、本研究により痕跡的葉緑体の存在が示された*Stenophora* sp.とは、互いに近縁とはなりませんでした。このことから、祖先的グレガリナは痕跡的葉緑体を持っていましたが、その後の進化過程において、葉緑体構造自体の消失が、少なくとも3回起こっていると考えられます（図3）。

今後の展開

これまでに大規模遺伝子配列データが取得されたグレガリナの多くは、海産無脊椎動物を宿主としており、自然環境中に棲息するグレガリナのごく一部でしかありません。そのため、本研究のように、陸生無脊椎動物を宿主とするグレガリナを対象とする研究が必要です。今後、さまざまなグレガリナについて、系統関係と痕跡的葉緑体に関するデータが蓄積されれば、グレガリナとグレガリナを含むアピコンプレクサ門における複雑な葉緑体の進化を、より正確に推測することが可能となります。

参考図

A.

セスジアカムカデ

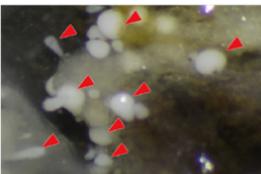


写真提供：熊本大学・栗原良輔氏

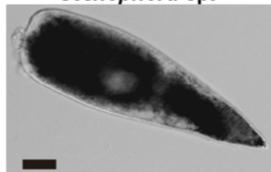
解剖されたセスジアカムカデ



ムカデ消化管内のグレガリナ



セスジアカムカデ寄生
グレガリナ
Stenophora sp.



キシヤヤスデ寄生
グレガリナ



ヤケヤスデ寄生
グレガリナ
Acutispora sp.



B.

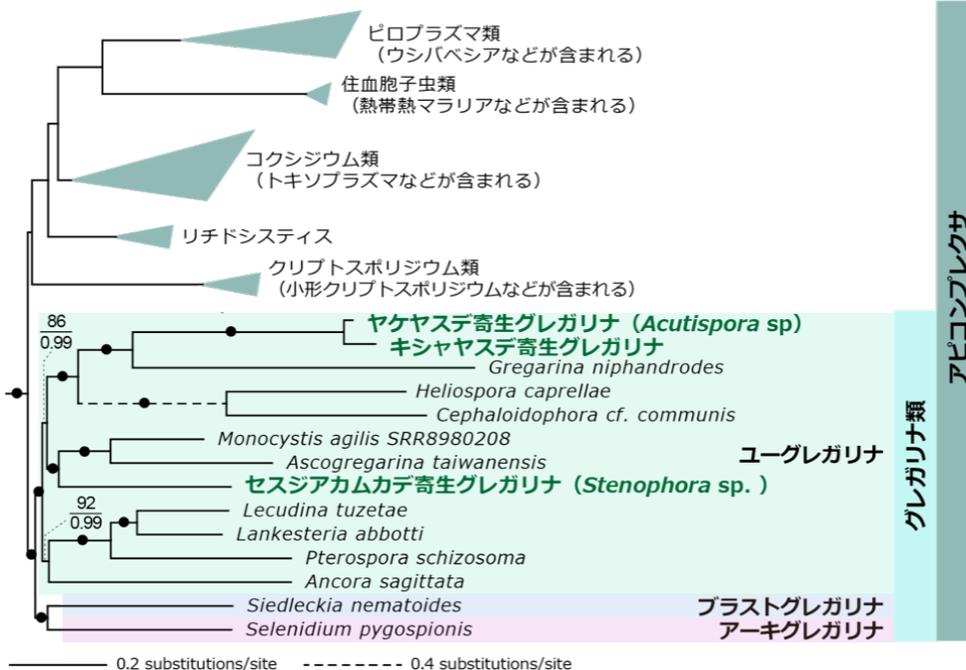


図 1. A) グレガリナとその宿主。上段左はセスジアカムカデ、右は研究のために解剖したセスジアカムカデの個体。赤線で囲った部分の消化管内部には、多数のグレガリナが見えた（下段左の写真；グレガリナは赤矢じりで示した）。下段モノクロの写真は、左からセスジアカムカデ寄生グレガリナ (*Stenophora* sp.)、キシヤヤスデ寄生グレガリナ、ヤケヤスデ寄生グレガリナ (*Acutispora* sp.)。スケールバーはいずれも 50 μ m。B) 73 遺伝子データに基づき推測された 3 種のグレガリナの系統的位置。アピコンプレクサとグレガリナの系統関係については、該当する枝に、最尤法ブートストラップ値とベイズ法事後確率

(いずれも系統樹の各枝が形成する系統群の確からしさを示す値)をそれぞれ示した。復元された系統関係の信頼性を示すブートストラップ値と事後確率がそれぞれ 100、1.0 の場合は黒丸 (●) で示した。3 種のグレガリナはユーグレガリナの仲間に含まれるが、2 種のヤスデ寄生グレガリナは近縁である一方で、ムカデ寄生グレガリナとヤスデ寄生グレガリナは近縁とはならない。

	光合成	イソプレノイド合成	ヘム合成	脂肪酸合成
光合成生物 (陸上植物など)	○	○	○	○
<i>Plasmodium falciparum</i> (マラリア原虫)	×	○	○	○
ヤケヤスデ寄生グレガリナ (<i>Acutispora</i> sp.)	×	×	×	×
キシヤスデ寄生グレガリナ	×	×	×	×
セスジアカムカデ寄生グレガリナ (<i>Stenophora</i> sp.)	×	○	○	×
アーキグレガリナ&プラストグレガリナ	×	○	○	○

図 2. アピコンプレクサ生物における葉緑体機能。光合成生物の葉緑体では、光合成のほかにイソプレノイド、ヘム、脂肪酸を合成する。表中の各生物において、これら 4 つの機能がある場合は○、ないと推測された場合は×で記した。2 種のヤスデ寄生グレガリナからは葉緑体で機能する酵素が発見されなかったことから、葉緑体構造自体が消失したと考えられる。



図 3. グレガリナにおける葉緑体欠失の過程。生物名の後に星 (★) がつくものは痕跡的葉緑体が存在しているとされるグレガリナ。進化の過程において、ユーグレガリナ内で 3 回の葉緑体の欠失 (系統樹内の◇で示した部分) が起きたと考えられる。

用語解説

注 1) 単細胞トランスクリプトーム解析

ごく少数の細胞から遺伝子の転写産物であるメッセンジャーRNA の塩基配列を増幅したのち、その塩

基配列を網羅的に決定する解析。これにより、実験室内で培養できない真核微生物種についても、ゲノムに含まれる遺伝子の種類や各々の遺伝子の転写量を推測することができる。

注2) イソプレノイド

イソプレンを構成単位とする炭化水素。細胞内でステロールやホルモンなどの生体成分として重要な化合物である。

注3) ヘム

生物に必須なポルフィリンの鉄錯体。一般に光合成生物では葉緑体で合成され、その合成中間体は、葉緑体内での光合成色素クロロフィルの生合成に用いられる。

注4) 脂肪酸

細胞膜を構成する成分で、細胞のエネルギー源となる。

研究資金

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金（科研費）基盤研究(B)（19H03280：稲垣祐司）および海外共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）（18KK0203：稲垣祐司）、筑波大学生命の樹プロジェクト（H25～H30）によって実施されました。また、本研究の大規模分子系統解析には、筑波大学計算科学研究センターの学際共同利用プログラム（Oakforest-PACS システム）を利用しました。

掲載論文

【題名】 Signs of the plastid: Enzymes involved in plastid-localized metabolic pathways in a eugregarine species.

（葉緑体局在代謝酵素により示唆されるユーグレガリン細胞内の痕跡的葉緑体）

【著者名】 Euki Yazaki, Ryosuke Miyata, Yasuhiko Chikami, Ryo Harada, Takashi Kawakubo, Goro Tanifuji, Takuro Nakayama, Kensuke Yahata, Tetsuo Hashimoto, Yuji Inagaki

【掲載誌】 Parasitology International

【掲載日】 2021年4月26日

【DOI】 10.1016/j.parint.2021.102364

問い合わせ先

【研究に関すること】

稲垣 祐司（いながき ゆうじ）

筑波大学 計算科学研究センター 教授

URL: <https://sites.google.com/site/memicrobes/home>

【取材・報道に関すること】

筑波大学 計算科学研究センター 広報・戦略室

TEL: 029-853-6260

E-mail: pr@ccs.tsukuba.ac.jp