

ミドリゾウリムシでは受精核から次世代の大核が分化する際に細胞内共生藻の維持に関連する遺伝子をもつミニクロモソームが選択的に増幅されることが明らかになりました

【発表のポイント】

- ◆ ミドリゾウリムシの大核ゲノムを4種の株で解読し、ゲノムサイズ、GC%、全遺伝子数、ミドリゾウリムシ特有の遺伝子数、受精核から新大核の分化過程で作製されるミニクロモソームのサイズとそのコピー数が明らかにされました。
- ◆ ヨツヒメゾウリムシでは大核内のミニクロモソームのコピー数はその長さに関係なくほぼ均一でしたが、ミドリゾウリムシのミニクロモソームのコピー数は多様で不均一でした。また、コピー数の不均一性は、若い細胞と30年以上の老化した細胞とで差がなく、老化の影響を受けない不可逆的な現象であることが明らかになりました。
- ◆ ミドリゾウリムシはクロレラ等の藻類を細胞内に共生させる能力を持ちます。クロレラの維持には宿主リソソーム融合阻止能力を持つクロレラ包膜の形成と宿主細胞表層直下へのクロレラの移動、クロレラによって産生される活性酸素の無毒化が必要です。それらの機能に関する宿主遺伝子の発現量がクロレラの有無で変動することは2014年に山口大学の藤島らがトランスクリプトーム解析で明らかにしました。今回の研究では、受精核から大核が分化する時にゲノムの断片化で作られるミニクロモソームのコピー数が、細胞内共生の維持に関与する遺伝子を持つミニクロモソームでは高いことが明らかになりました。
- ◆ 藻類との細胞内共生能力の獲得と密接に関連して生じるゲノムの可塑性が初めて示されました。

【概要】

山口大学共同獣医学部教授（特命）の藤島政博と台湾の Jun-Yi Leu 博士（Academia Sinica, Institute of Molecular Biology）らの研究グループは、4株のミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) (図1) の大核ゲノ

ムの全塩基配列を解読し、ゲノムの特徴を明らかにしました。4株のうちの3株は野外採集されてから山口大学で30年以上培養している株でした。株Dd1gのゲノム全体のサイズは26.8 Mb、GC%は28.8、遺伝子数は15,101個でした。この内、他種のゾウリムシ（ゾウリムシとヨツヒメゾウリムシ）に存在しない遺伝子数は3,773でした（図2）。

受精核から新大核が分化する過程で作製される断片化されたゲノム（ミニクロモソーム）の長さは8~16 kbでしたが（図3）。ヨツヒメゾウリムシではミニクロモソームのコピー数がほぼ均一であるのに、ミドリゾウリムシでは不均一でした（図4）。交雑して作製した若いミドリゾウリムシでも同様でしたので、コピー数の不均一性は老化による損傷ではなく、長期間細胞分裂を繰り返しても安定して維持される不可逆的な現象でした。エネルギー代謝や基本的な細胞機能の維持に必要なハウスキーピング遺伝子のコピー数は一定でしたが、環境適応に関与する遺伝子のコピー数は著しく多様であったため、ミニクロモソームのコピー数の不均一性は、ミドリゾウリムシ特有の機能と関係した現象であることが示唆されました。遺伝子のコピー数を他種ゾウリムシと比較したところ、6種の遺伝子のコピー数がミドリゾウリムシで増大していました（図5）。これらには、細胞内共生に関係する細胞内輸送と活性酸素無毒化機能を持つタンパク質遺伝子、根粒細菌の共生に関与する遺伝子、細胞表層タンパク質とタンパク質リン酸化酵素遺伝子が含まれていました。

藤島らは2014年に共生藻の有無で発現が変化するミドリゾウリムシの遺伝子を特定しましたが（BMC Genomics, 2014, Doi: 10.1186/1471-2164-15-183）、今回の研究では、細胞内共生の維持に必要な遺伝子の発現量の変化だけでなく、特定遺伝子を含むミニクロモソームのコピー数を選択的に増加させる仕組みの存在が明らかになりました。この研究成果は、細胞内共生による真核細胞の進化と生物多様性の創出の仕組みの解明だけでなく、生物が環境に適応して進化するためのゲノムの可塑性を生み出す仕組みの解明にも貢献すると期待されます。

山口大学共同獣医学部のNBRPゾウリムシ研究室では世界最大級のゾウリムシ種数と株数(24種、約1050株)を維持し、国内外の研究者に提供しています(<http://nbrpcms.nig.ac.jp/paramecium/>)。今回の研究では、その株が用いられました。

本研究成果は、2020年11月30日（英国時間1時、日本時間11月30日10時）に、英国のオンライン科学誌BMC Biologyに掲載されました。

【研究の背景】

ゾウリムシ等の繊毛虫は、1個の受精核から分化した機能と形態が異なる大核と小核（多細胞生物の体細胞核と生殖細胞核）を細胞内に持っています。受精核から大核が分化する過程では、ゲノムの大規模な再編成と増幅が行われます。ヨツヒメゾウリムシでは小核ゲノムの約20%に相当する小核特異的塩基配列IESs（internal eliminated sequences）が完全に除去され、断片化した残り80%が再結合やテロメアの付加後にミニクロモソームとして増幅してコピーを作り、大量のDNA量をもつ大きな大核が形成されず。除去されるIESsは150 bp以下の配列で、コード領域の内外に多数存

在します。IESs の存在が転写（遺伝子の発現）を抑制するので、転写は大核のみで行われ、小核は減数分裂を介して次世代への全遺伝情報の伝達を担います。大核は1世代限りの使い捨ての核です。

ゾウリムシ属には50種以上の種が記載されていますが、その細胞内に藻類を共生させる能力を持つのはミドリゾウリムシを含む2種のみです。ミドリゾウリムシと藻類との共生は、真核細胞同士の細胞内共生が成立する仕組みと細胞が新たな細胞内構造を獲得して環境適応能力を増強し進化する仕組みを解明する材料として注目され、2005年に共生成立過程の時間経過に伴う諸現象が藤島らの研究グループによって山口大学で解明されてから研究者数が国内外で急増している研究分野です。

藤島らは2014年には共生藻の有無で発現量が変化するミドリゾウリムシの遺伝子をトランスクリプトームで解析しましたが、今回の研究では、大核が分化する時に作られるミニクロモソームのコピー数には環境に応じた可塑性があり、ミドリゾウリムシでは藻類との細胞内共生の維持に関与する遺伝子群を含むミニクロモソームのコピー数が増大することが明らかになりました。この発見は、生物の環境適応の手段には、特定遺伝子の発現量の調節だけでなく、遺伝子自体のコピー数レベルでの調節も行われることを示しています。

この論文の第一著者のYu-Hsuan Cheng 博士 (Academia Sinica、台湾) は、2015年に当時山口大学理学部に所属していた藤島の研究室に1ヶ月滞在して必要な技術を習得しました。実験に使用したミドリゾウリムシは、藤島が代表を務めるナショナルバイオリソースプロジェクト・ゾウリムシの収集株で、主な実験はAcademia Sinicaで行われ、藤島が代表の文科省特別経費及び科研費基盤研究B(26291073)と、Jun-Yi Leu 博士が代表のAcademia Sinicaからの2種のグラント(AS-IA-105-L01、AS-TP-107-ML06)とIsheng Jason Tsai 博士が代表者のグラント(S-CDA-107-L01)からの支援を得て行われました。

研究論文

タイトル : Genome plasticity in *Paramecium bursaria* revealed by population genomics.

著者 : Yu-Hsuan Cheng, Chien-Fu Jeff Liu, Yen-Hsin Yu, Yu-Ting Jhou, Masahiro Fujishima, Isheng Jason Tsai, Jun-Yi Leu.

公表雑誌 : BMC Biology

公表日 : 2020年11月30日 (オンライン公開)

【用語解説】

1. ゲノム : ある生物がもつ全ての染色体や核酸上の遺伝情報
2. ゲノムの可塑性 : 生物がそのゲノムの構造を環境に応じて変化させる能力
3. GC% : DNAの塩基配列のなかで、グアニンとシトシンが占める%
4. トランスクリプトーム解析 : 特定の環境で細胞中に存在する全ての mRNA の種類と量の解析
5. 細胞内共生 : 真核細胞が他の細胞を食作用によって細胞内に取り込み、それを細胞内共生体として安定して維持する現象。

6. コード領域：タンパク質のアミノ酸配列に翻訳される塩基配列領域

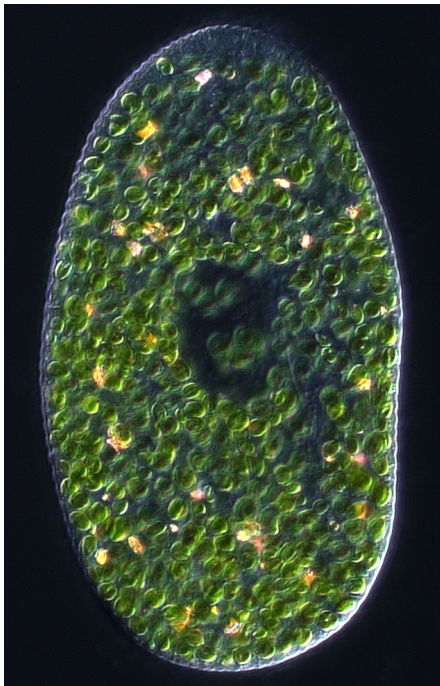


図1 ミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) の微分干渉顕微鏡写真

細胞質に緑色の多数のクロレラが細胞内共生している。各クロレラは個別に宿主の食胞膜由来の膜小胞で包まれ、その膜が宿主細胞表層直下のミトコンドリアの外膜と結合することで細胞に固定されている。細胞の中心には大核が存在している（写真撮影：藤島政博）。

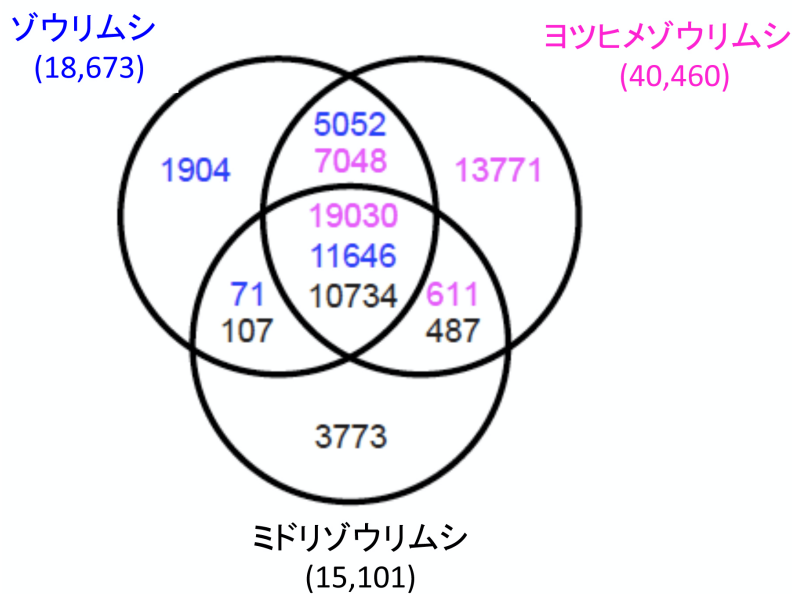


図2 3種のゾウリムシの相同遺伝子数の比較

異なる色の数字は種ごとの遺伝子数を示す。ヨツヒメゾウリムシの遺伝子数は他の2種より多い。ミドリゾウリムシの総遺伝子数 15,101 の75%は、他の種にも存在し、ミドリゾウリムシ特異的遺伝子数は3,773。

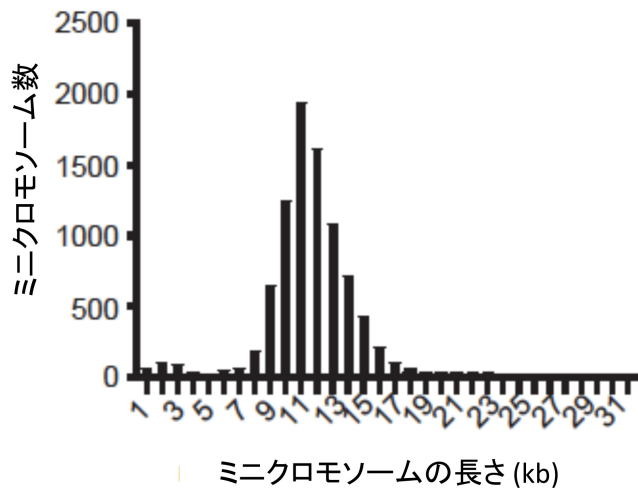


図3 大核内のミニクロモソームの長さとのミニクロモソーム数の分布
ミニクロモソームの長さは8~16 kb。

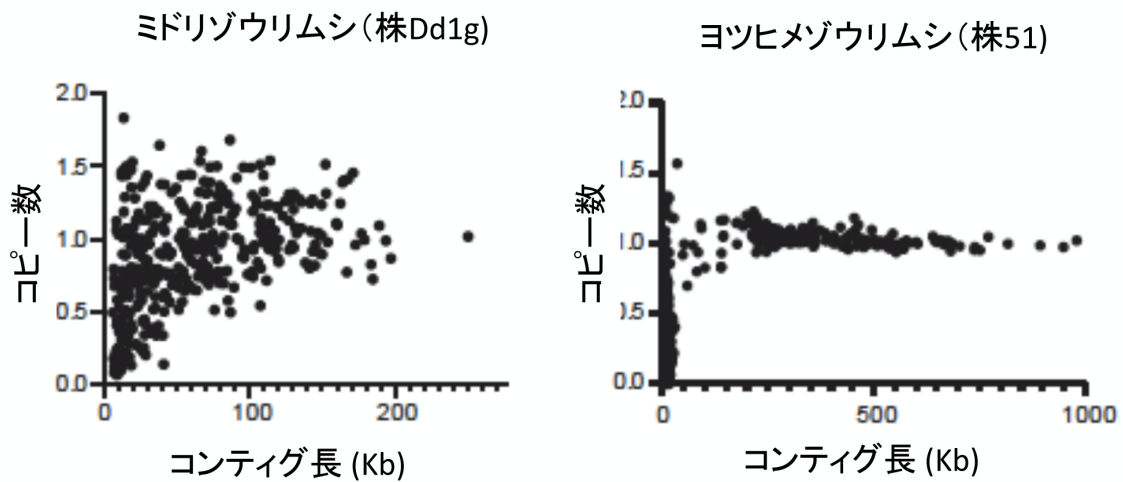


図4 大核内のミニクロモソームの長さとのコピー数の分布
ミドリゾウリムシのコピー数は多様だが、ヨツヒメゾウリムシでは、長さに関係なくコピー数はほぼ均一になっている。

0	5	30	IPR006571 TLDc_dom, 活性酸素無毒化タンパク質
2	3	46	IPR002895 Paramecium_SA, ゾウリムシ細胞表層タンパク質
0	0	17	IPR001602 UPF0047, Uncharacterised protein family UPF0047
0	0	21	IPR017106 Coatomer_gsu, 小胞輸送タンパク質
1	1	111	IPR036322 WD40_repeat_dom_sf, WD40-repeat-containing domain
2	0	29	IPR000719 Prot_kinase_dom, タンパク質リン酸化酵素
P.t	P.c	P.b	

図5 ミドリゾウリムシでコピー数が多い遺伝子

ミドリゾウリムシでは、これら6種の遺伝子のコピー数が他種ゾウリムシに比べて多い。TLDc と Coatomer は藻類の細胞内共生の維持に関係した機能をもっている。WD40 は根粒細菌の共生への関与が知られている。UPF0047 とタンパク質リン酸化酵素もコピー数が多い。ゾウリムシの細胞表層タンパク質の機能は明確ではないが環境適応に関与している可能性がある。

P.t, ヨツヒメゾウリムシ ; P.c, ゾウリムシ ; P.b, ミドリゾウリムシ

お問い合わせ先

<論文の内容に関するお問い合わせ>

山口大学共同獣医学部 NBRP ゾウリムシ研究室

教授(特命) 藤島 政博(フジシマ マサヒロ)

〒753-8515 山口市吉田 1677-1

TEL : 083-933-5712

E-mail : fujishim@yamaguchi-u.ac.jp

関連 URL <https://sites.google.com/view/zourimushi/fujishima-masahiro-lab>

<http://nbrpcms.nig.ac.jp/paramecium/>