
Mini Review

もう一つの一次共生？ -*Paulinella chromatophora*とそのシアネレ-

中山卓郎^{1,2}・石田健一郎¹

¹〒305-8572 茨城県つくば市天王台1-1-1 筑波大学生命環境科学研究科

²日本学術振興会特別研究員(DC1)

Another primary endosymbiosis? -*Paulinella chromatophora* and its cyanelle-

Takuro NAKAYAMA^{1,2*}, Ken-ichiro ISHIDA

¹Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennoudai, Tsukuba, 305-8572, Japan

²Research Fellow of the Japan Society for the Promotion of Science (DC1)

SUMMARY

It is widely believed that all known plastids originated from a single primary endosymbiosis in which a cyanobacterium was engulfed and retained by a heterotrophic protist. However, there is an interesting organism called *Paulinella chromatophora* that may change this widely accepted view.

P. chromatophora, a cercozoan protist, is a fresh water testate amoeba that contains two cyanobacterium-like structures called “cyanelles” in the cell. Past researches have failed to cultivate the cyanelles separately from the host cells and demonstrated that the cyanelles divided within the host cells and were handed over to daughter cells. In recent studies, it has been revealed that the cyanelle of *P. chromatophora* does not share a common ancestor with known plastids but originated from a cyanobacterium that belongs to the *Synechococcus/Prochlorococcus* lineage.

These situation led the idea that *P. chromatophora* represent the second example of the primary endosymbiosis that is in progress. Further study on the symbiotic relationship between the cyanelles and the host seen in this organism would provide important insight for the mechanism of primary plastid acquisition.

*Corresponding author
Tel/Fax: Tel: +81-29-853-4533
e-mail: s0730456@ipe.tsukuba.ac.jp
(Received: 31 January 2008)

はじめに

全ての葉緑体が、ただ一度の一次共生に由来するという考えは、現在広く受け入れられているが、近年*Paulinella chromatophora*という生物がその例外として大きな注目を集めている。今回のミニレビューで

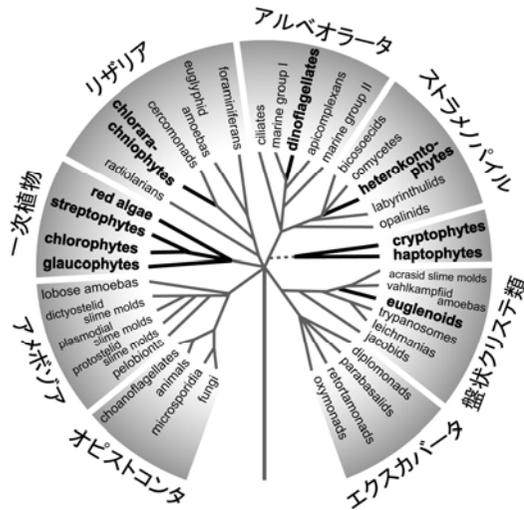


図1. 真核生物全体の大まかな系統と葉緑体を持つ生物の分布。太枝・太字で示された系統は葉緑体を持つ。(Baldauf, 2003をもとに作図)

は、この生物の持つ進化的重要性を葉緑体の獲得と絡めて紹介する。

葉緑体の進化

葉緑体を持ち光合成を行う真核生物（以下、光合成真核生物と呼ぶ）には、分子系統、形態など様々なデータに基づいて、9つのグループ（緑色植物・紅色植物・灰色植物・渦鞭毛植物・クリプト植物・クロララクニオン植物・ハプト植物・不等毛植物・ユーグレナ植物）が認識されている（井上, 2006; Van Den Hoek et al., 1995）。近年の分子系統学の発達によって、これらの光合成真核生物は単系統ではなく、真核生物の様々な系統に散在しており（Baldauf, 2003; 図1）、驚くべき多様性を持つことが明らかとなった。このように光合成真核生物は多系統であるのに対して、それらの持つ葉緑体は単一の起源を持つとされている（Moreira et al., 2000; Rodríguez-Ezpeleta et al., 2005）。この状況は一見すると矛盾しているように思われるが、そこには細胞内共生を通じた葉緑体の獲得というシナリオが関与している。

葉緑体の起源は、従属栄養の真核生物にシアノバクテリア様の酸素発生型光合成原核生物が細胞内共生し、オルガネラ化したことにあるとされている（Mereschkowsky, 1905; 堀口, 1999; McFadden, 2001; 石田・中山, 2003）。この葉緑体獲得のイベントは「一次共生」と呼ばれ、これによって成立したの

が、一次植物と称される緑色植物・紅色植物・灰色植物の3グループである。

一次植物の葉緑体は分子系統解析において単系統であることが強く支持されており（Delwiche et al., 1995; Helmchen et al., 1995; Keeling, 2004; Rodríguez-Ezpeleta et al., 2005）、加えて宿主細胞も単系統であることが核コード遺伝子の解析によって示されている（Moreira et al., 2000; Rodríguez-Ezpeleta et al., 2005）。これらの分子系統解析結果や共通する形態形質から、一次共生は一次植物の共通祖先において一度だけ起こったとされている（Moreira et al., 2000; Rodríguez-Ezpeleta et al., 2005）。

光合成真核生物の残りのグループ（渦鞭毛植物・クリプト植物・ハプト植物・不等毛植物・クロララクニオン植物・ユーグレナ植物）は一次植物を細胞内共生させ、葉緑体を獲得したとされている（堀口, 1999; 石田・中山, 2003）。一次植物を取り込んで葉緑体とする過程は「二次共生」と呼ばれ、これを通じて葉緑体を得た生物群は「二次植物」と呼ばれる。光合成真核生物が真核生物の系統の中に散在しているのは、それぞれの系統の従属栄養生物が二次共生によって独立に葉緑体を獲得し、「植物化」を果たしたためである。

つまり、現在知られている多様な葉緑体の起源を辿ると、意外にもたった一度の一次共生に由来するということとなる。現在このことは定説になりつつあるが、一方で、その例外となるかもしれないと近年脚光を浴びている生物が存在する。それが *Paulinella chromatophora* である。

Paulinella chromatophora とそのシアネレ

Paulinella chromatophora (図2) はリザリア下界、ケルコゾア門、ユーグリファ目に分類される体長30~40 μm 程度の単細胞生物で、淡水から汽水域に生息する。他のユーグリファ類と同様、細胞はアメーバ状であり、珪酸質の鱗片で構築された卵形の殻をもつ(図2B)。殻には小さな開口部が存在し、そこから糸状仮足を伸ばして移動や壁着を行う。

本種の細胞内には青緑色のシアネレと呼ばれる共生シアノバクテリア様の構造が存在する(Pascher, 1929; 図2A、矢頭)。*P. chromatophora*のシアネレはソーセージ型をしており、通常1細胞の中に2つ存在する。過去に一度だけ行われた透過型電子顕微鏡による観察(Kies, 1974)において、*P. chromatophora*のシアネレに関して以下のようなことが分かっている。1) 宿主細胞内に、膜で包まれた状態で存在する、2) 内部には同心円状にチラコイド膜が配置され、高密度に集積する、3) シアネレの分裂は包膜が中心に向かってくびれる求心的な分裂様式である、4) シアネレを包む2枚の膜の間には、ペプチドグリカン層と思われるはっきりとした壁構造が見ら

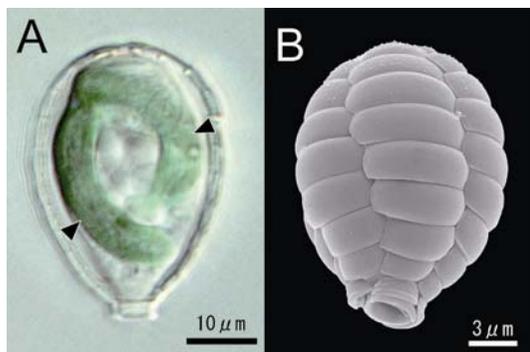


図2. (A)*Paulinella chromatophora*の光学顕微鏡写真。矢頭で示されるのがシアネレ。(B)走査型電子顕微鏡写真。珪酸質の鱗片が瓦のように配置している。

れる。この構造は、灰色植物のシアネレに見られるペプチドグリカン層のように薄いものではなく、自由生活のシアノバクテリアに見られる壁に近いものである。これら列挙した特徴は、既知の葉緑体には見られず、本種のシアネレの形態や微細構造は*Synechococcus*属のシアノバクテリアに酷似している (Kies, 1974)。よって*Paulinella chromatophora*におけるシアネレは細胞内共生シアノバクテリアであると考えられていた (Kies, 1974)。

しかしながら、興味深いことに本種のシアネレは以下のような特徴も持ち合わせる事が分かっている。1) 宿主細胞外では成育できない (Kies and Kremer, 1979)、2) 宿主細胞の分裂時には常に、母細胞の2つシアネレが1つずつ娘細胞に受け渡される (Hoogenraad and De Groot, 1927; 図3)、3) シアネレと宿主細胞の分裂はほぼ同調しており、シアネレの分裂が制御されている可能性がある (Hoogenraad and De Groot, 1927)。これらは他の細胞内共生シアノバクテリアに見られない特徴であり、既知の葉緑体と共通したオルガネラの特徴である。加えて、宿主細胞の摂食行動や細胞内の食胞が確認されたことがなく (Kies, 1974)、宿主はシアネレの光合成に完全依存している可能性がある。

形態はシアノバクテリアそのものである一方で、葉緑体のような振る舞いを見せる本種のシアネレであるが、その特性から、このシアネレが葉緑体であるのか、単なる細胞内共生シアノバクテリアであるのか、長い間議論が交わされてきた (Lauterborn, 1895; Kies, 1974; Delwiche, 1999; McFadden, 2001; Bhattacharya et al., 2003; Keeling, 2004)。しかし、本種は自然界において個体数が少ないのに加えて、培養が困難なためあまり研究が進んでおらず、それに対する答えは得られていなかった。

もう一つの一次共生？

そのような状況の中、Marin et al. (2005) は初めて*P. chromatophora*のシアネレの分子系統解析を行い、シアネレの起源の解明を試みた。Marin et al. (2005) は独自に確立した、当時世界唯一の*P. chromatophora*の培養株を用いてシアネレの16S rDNAを決定し、系統解析を行った。その結果、*P. chromatophora*のシアネレは、既知の葉緑体とは全く異なる系統に属し、シアノバクテリアの*Synechococcus*属、*Prochlorococcus*属の系統に含まれることが明らかとなった (図4)。

この報告によって*P. chromatophora*のシアネレと既知の葉緑体の類縁関係は否定されたわけであるが、しかし、前述したようなシアネレのオルガネラ的な特徴を考慮すると、本種のシアネレは単なる細胞内共生シアノバクテリアであるとは考えにくく、独立に一次共生を起こしつつある可能性が高い。このことは、一次共生は過去に一度しか起こらなかったとする説を覆す例として注目すべきであろう。

これに続いて、Yoon et al. (2006) は本種のシアネレゲノムの部分配列 (約15kbp) を取得し、解析を行った。取得した配列上には、既知の全ての葉緑体において核に移行していることが知られている *psbO* (光合成関連遺伝子) や、真核生物に存在せず原核生物にのみ見られる *nifB* (窒素固定関連遺伝子) が含まれており、シアネレゲノムは自由生活性シアノバクテリアの特徴を色濃く残していることが示唆された。このことを踏まえると、本種のシアネレは一次共生を通じたオルガネラ化の初期段階にあると考えられる。

はたして宿主細胞とシアネレはどの程度統合されているのであろうか？宿主細胞によるシアネレの分

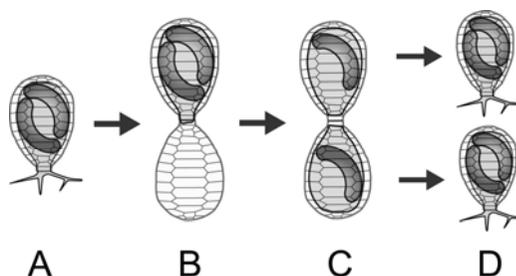


図3. *P. chromatophora*の分裂。(A)分裂前の細胞。(B)細胞の分裂に先駆けて、娘細胞のための殻を細胞外に構築する。(C)細胞が分裂し、娘細胞が新しい殻に移動する。そのとき、母細胞に2つあったシアネレは娘細胞に1つずつ分配される。(D)殻が分離し、その後それぞれの細胞内でシアネレが2つに分裂する。

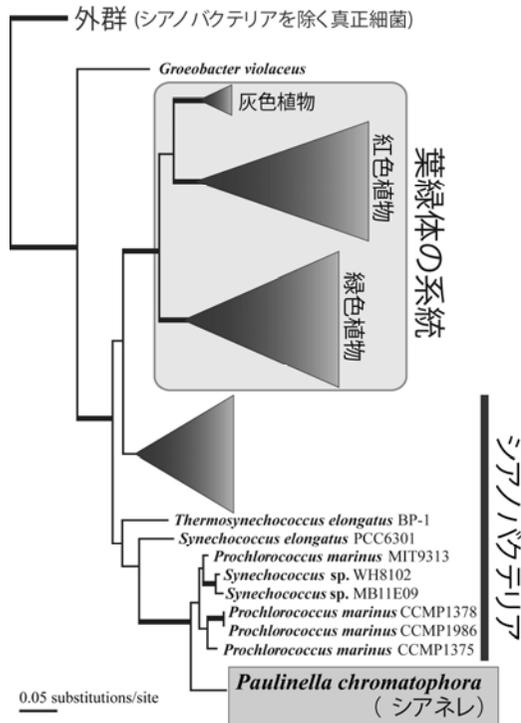


図4. 16S rDNAによる最尤系統樹。P. chromatophoraのシアネレは既知の葉緑体の系統には属さず、シアノバクテリアに近縁であることが強く示されている。太く示された枝は、近隣結合法、最節約法によるブートストラップ確率100%、およびベイズ法による事後確率1.00で支持されている。(Marin et al., 2005をもとに作図)

裂の制御、光合成産物の輸送、シアネレ遺伝子の核へ転移の有無など、その共生関係の仕組みに考えを馳せると興味が尽きない。今後、シアネレおよび宿主のゲノム解析やEST解析によって、その共生関係の実態が見えてくるであろう。

しかし、にわかには知名度を上げていたP. chromatophoraであるが、いまだに生活環境などの基本的な情報も大部分が未知のままである。これから得られるであろう分子生物学的なデータを正しく評価するためにも、微細構造や生活環を通じた挙動の観察など、基礎的な情報の蓄積も重要であると考え。

おわりに

一次共生は、その重要性にもかかわらず進化機構

の詳細について不明な点が数多く残されている。その中においてP. chromatophoraは、今まで発見のなかった一次共生を起しつつあるかもしれない生物であり、今後本種におけるシアネレと宿主細胞の共生関係を探ることは「一次共生そのものを観察する」ことにつながるであろう。これにより一次共生を通じた葉緑体獲得に関する研究において、重要な知見が得られることが期待される。

参考文献

- Bhattacharya, D., Yoon, H.S. and Hackett, J.D. (2003) Photosynthetic eukaryotes unite: endosymbiosis connects the dots. *BioEssays*, 26, 50-60.
- Baldauf, S.L. (2003) The Deep Roots of Eukaryotes. *Science*, 300, 1703-1706.
- Delwiche, C.F. (1999) Tracing the thread of plastid diversity through the tapestry of life. *Am. Nat.*, 154, S164-S177.
- Delwiche, C.F., Kuhsel, M. and Palmer, J.D. (1995) Phylogenetic analysis of tufA sequences indicates a cyanobacterial origin of all plastids. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 4, 110-128.
- Helmchen, T.A., Bhattacharya, D. and Melkonian, M. (1995) Analyses of ribosomal RNA sequences from glaucocystophyte cyanelles provide new insights into the evolutionary relationships of plastids. *J. Mol. Evol.*, 41, 203-210.
- Hoogenraad, H.R. and de Groot, A.A. (1927) Rhizopoden en Heliozoë uit het zoetwater van Nederland. *Tijdschr. Nederl. Dierkund. Vereen.* (2), 20, 1-18.
- 堀口健雄 (1999) 細胞内共生による葉緑体の獲得と藻類の多様化. *バイオディバーシティ・シリーズ3 藻類の多様性と系統*, 裳華房, 147-157.
- 石田健一郎・中山剛 (2004) 葉緑体の水平伝搬がもたらした藻類多様性: 切っても切れない原生動物との関係. *生物科学*, 55(2), 95-103.
- 井上勲 (2006) 藻類30億年の自然史 藻類からみる生物進化. 東海大学出版会, 232-233.
- Keeling, P.J. (2004) Diversity and evolutionary history of plastids and their hosts. *Am. J. Bot.*, 91, 1481-1493.
- Kies, L. (1974) Elektronenmikroskopische Untersuchungen an *Paulinella chromatophora* Lauterborn, einer Thekamöbe mit blaugrünen Endosymbionten (Cyanellen). *Protoplasma*, 80, 69-89.
- Kies, L. and Kremer, B.P. (1979) Function of cyanelles in the *Tecamoeba Paulinella chromatophora*. *Naturwissenschaften*, 66, 578-579.
- Lauterborn, R. (1895) Protozoenstudien II. *Paulinella chromatophora* nov. gen., nov. spec., ein beschalter Rhizopode des Süßwassers mit blaugrünen chromatophorenartigen Einschlüssen. *Z. Wiss. Zool.*, 59, 537-544.
- Marin, B., Nowack, E.C. and Melkonian, M. (2005) A plastid in the making: evidence for a second primary endosymbiosis. *Protist*, 156, 425-432.

- McFadden, G. I. (2001) Primary and secondary endosymbiosis and the origin of plastids. *J. Phycol.*, 37, 951-959.
- Mereschkowsky, C. (1905) Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. *Biol. Centralbl.*, 25, 593-604.
- Moreira, D., Le Guyader, H. and Philippe, H. (2000) The origin of red algae and the evolution of chloroplasts. *Nature*, 405, 32-33.
- Pascher, A. (1929) Studien über Symbiosen. I. Ueber einige Symbiosen von Blaualgen in Einzellern. *Pringsh. Jahrb. wiss. Bot.*, 71, 386-462.
- Rodríguez-Ezpeleta, N., Brinkmann, H., Burey, S.C., Roure, B., Burger, G., Löffelhardt, W., Bohnert, H. J., Philippe, H. and Lang, B. F. (2005) Monophyly of Primary Photosynthetic Eukaryotes: Green Plants, Red Algae, and Glaucophytes. *Curr. Biol.*, 15, 1325-1330.
- Van Den Hoek, C., Mann, D.G. and Jahns, H.M. (1995) *Algae: An introduction to phycology*. Cambridge University Press.
- Yoon, H.S., Reyes-Prieto, A., Melkonian, M. and Bhattacharya, D. (2006) Minimal plastid genome evolution in the *Paulinella* endosymbiont. *Curr. Biol.*, 16, R670-672.