

## 複数遺伝子の結合データに基づくパラバサリア門原生生物の系統進化

野田 悟子<sup>1,2</sup>, Eric VISCOGLIOSI<sup>3</sup>, 大熊 盛也<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>理研, <sup>2</sup>山梨大・院医学工学総合, <sup>3</sup>パスツール研究所)

## Molecular phylogeny and evolution of Parabasalia with new protein markers

Satoko NODA<sup>1,2</sup>, Eric VISCOGLIOSI<sup>3</sup> and Moriya OHKUMA<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>JCM, Bioresource Ctr., RIKEN, <sup>2</sup>Interdisciplinary Grad. Sch. Med. Engn., Univ. Yamanashi, <sup>3</sup>Inst. Pasteur, France)

## SUMMARY

The traditional taxonomy within the phylum Parabasalia is based on their morphology, and it is mostly linked to their cytoskeletal structures that range from rudimentary to very complex. Although the SSU rRNA phylogeny suggests the necessity of the reclassification, the resolution remains poor because of extreme divergence of the sequences. This study identified four gene sequences encoding SSU rRNA, GAPDH, actin, and EF-1 $\alpha$  from various parabasalid to obtain more reliable phylogeny. We inferred the phylogenetic relations among parabasalids and examined the root position of parabasalids based on concatenated sequence data of the four genes. The concatenate dataset for 26 diverse taxa provides robust relations of the major groups and the more plausible new root position. The new root position strongly suggests that the ancient, most primitive parabasalids have Trichomonadida-like characteristics. The Parabasalia evolution is complex in terms of their morphology because of a number of independent multiplication and simplification of flagellar and the associated cytoskeletal structures. Probably, their ecology strongly affects the parabasalian evolution through adaptation to their ecological niches associated with the hosts and co-diversification with their hosts.

**【目的】** 真核生物の 6 つのスーパーグループのうち、Excavate に含まれるパラバサリア門原生生物は副基体と言われるオルガネラを有し、ミトコンドリアを欠く代わりに嫌気的なエネルギー産生器官である hydrogenosome を持つ。パラバサリア門原生生物には、人に感染する *Trichomonas vaginalis* 等も含まれるが、多くはシロアリ等の食材性昆虫の腸内に共生

し、木質の分解に重要な役割を果たしている。従来、パラバサリア門原生生物の分類は形態学的な観察に基づいてなされており、単純な細胞構造をもつ種からより複雑な構造を持つ種へ進化したと考えられてきた<sup>1)</sup>。しかし、small subunit (SSU) rRNA 遺伝子配列に基づく分子系統解析等から、分類体系の見直しや系統進化過程の再考が必要であることが示唆

されている<sup>2-4)</sup>。一方、SSU rRNA 遺伝子は分類群間で進化速度が大きく異なり、正確な系統関係の推定が困難であることが知られている。そこで本研究では、細胞構造が多岐に渡る本門の原生動物の細胞進化について考察することを目的とし、新たにタンパク質をコードする遺伝子を取得して複数の遺伝子配列を連結した結合データを用いて、より詳細な系統推定を行った。

**【方法】** 14 種の宿主シロアリに共生する 21 種の原生動物細胞をマイクロマニピュレータで単離し、この細胞を用いて cDNA または全ゲノム増幅 DNA を調整した。シロアリに共生する種以外の代表的な 7 種については、培養株から DNA を抽出した。これらを鋳型に用いてアクチン、伸長因子 1 $\alpha$  (EF 1 $\alpha$ )、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) の 3 種のマーカー遺伝子を PCR 増幅し、クローニング、塩基配列決定後、推定アミノ酸配列を用いて系統関係を推定した。進化距離の計算は連結した各配列の置換モデルを個別に最適化し、PHYML, RaxML を用いた最尤推定や MrBAYES を用いた Bayes 推定により行った。Root の検定は、最尤法で得られた best tree の各 node に out group を挿入した tree を作製し、この樹系の sitewise log-likelihood 値を TREE-PUZZLE を用いて算出して、CONSEL を用いて SH テストで行った。

**【結果と考察】** SSU rRNA 遺伝子の分子系統に基づいて再分類されたパラバサリア門の 4 目のうち、シロアリに共生する種のみからなる 3 目 (Cristamonadida, Spirotrichonymphida, Trichonymphida) では複合デー

タ、それぞれのタンパク質配列で構築した系統樹で単系統となり、再分類を支持していた。一方シロアリに共生する種以外を含む Trichomonadida は側系統あるいは多系統となった。

系統樹上の 9 つの node を Parabasalia 門の root の候補として out group を挿入して検定した所、(Trichomonas + Trichonymphida) の node が最も root としての可能性が高いと考えられた。Spirotrichonymphida 以外の 2 目は Trichomonadida との単系統性が支持され、シロアリに共生する 3 目はそれぞれ Trichomonadida の各グループから独立に派生、進化したことが推定された。しかし、Trichomonadida の中でも最も細胞構造が単純である *Monocercomonas* に類縁の系統群が祖先であるという推定は支持されなかった。Cristamonadida 目内でも多核化や鞭毛系の増加・消失は複数回起こっていることが推定されており<sup>4)</sup>、これらの結果はパラバサリア門内で細胞構造の複雑化と単純化が独立した系統で複数回生じた進化過程を示唆している。

#### 【文献】

- 1) Brugerolle and Lee (2001) *Illustrated Guide to the Protozoa, 2nd ed.* Allen Press, Lawrence, Kansas, pp. 1196-1249.
- 2) Ohkuma et al. (2005) *Mol. Phylogenet. Evol.*, 35, 646-655.
- 3) Ohkuma et al. (2007) *Mol. Phylogenet. Evol.*, 42, 847-853.
- 4) Noda et al. (2009) *Mol. Phylogenet. Evol.*, 52, 217-224.