

研究紹介

単細胞紅藻チノリモ(*Porphyridium purpureum*)の葉緑体ゲノム解析[§]

¹東京大学 大学院 総合文化研究科

²JST CREST

³かずさDNA研究所

⁴東京医科歯科大学 大学院 医歯学総合研究科

⁵東京工業大学 大学院 生命理工学研究科

⁶東京工業大学 バイオ研究支援総合センター

田島 直幸^{1,2,*}、佐藤 修正³、丸山 史人⁴、黒川 顕^{2,5}、太田 啓之^{2,6}、
田畑 哲之³、関根 康介¹、森山 崇^{1,2}、佐藤 直樹^{1,2}

1. はじめに

一次共生植物は緑色植物、紅藻、灰色藻の3種類に分けられる。紅藻はイデユコゴメ亜門と紅藻植物亜門の2つに分けられる。さらに、イデユコゴメ亜門にはイデユコゴメ綱があり、紅藻植物亜門は真正紅藻綱、ウシケノリ綱、ロデラ綱、チノリモ綱、ベニミドロ綱、オオイシソウ綱の6綱に分けられる¹⁾。しかし、既に葉緑体ゲノムが解読された紅藻は、真正紅藻綱、ウシケノリ綱、イデユコゴメ綱の3綱に属する5種のみであり、紅藻類相互の系統関係も未解明のままである。

チノリモ(*Porphyridium purpureum*)は、葉緑体ゲノムが未解読であるチノリモ綱に属する海洋性単細胞紅藻である。私達は454 GS FLXシーケンサーを用いて、国立環境研究所に保存されている*P. purpureum* NIES 2140

株の葉緑体ゲノムを解読した。また、必要に応じてSanger法も利用した。本稿ではチノリモの葉緑体ゲノムの全体構成、タンパク質遺伝子、特徴的なrRNAオペロン構造について紹介する。

2. チノリモの葉緑体ゲノムの全体構成

チノリモの葉緑体ゲノムは、全長 217,694 bp、GC含量は30.3%の環状DNAであった(表1)。他の紅藻の葉緑

表2 チノリモ葉緑体ゲノムにおけるtRNA遺伝子の同定

チノリモ葉緑体ゲノムのtRNA遺伝子を、対応するアミノ酸とコドンをもとに、コドン表上に示した。fMetは開始メチオニンtRNA遺伝子を示す。

第1塩基	第2塩基				第3塩基
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Leu				C
	Leu			Trp	A
C	Leu	Pro	His	Arg	U
			Gln		C
				Arg	A
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
			Lys	Arg	C
	Met,fMet,Ile				A
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
			Glu	Gly	C
					A
				G	

表1 紅藻の葉緑体ゲノムの比較

種名	タンパク質 総塩基対数		GC含量 (%)
	遺伝子数	(bp)	
<i>Porphyridium purpureum</i> (チノリモ綱)	224	217,694	30.3
<i>Gracilaria tenuistipitata</i> var. <i>liui</i> (真正紅藻綱)	204	183,883	29.2
<i>Porphyra purpurea</i> (ウシケノリ綱)	209	191,028	33.0
<i>Porphyra yezoensis</i> (ウシケノリ綱)	209	191,952	33.1
<i>Cyanidioschyzon merolae</i> (イデユコゴメ綱)	207	149,987	37.6
<i>Cyanidium caldarium</i> (イデユコゴメ綱)	199	164,921	32.7

§ 第3回日本光合成学会シンポジウム ポスター発表受賞論文

* 連絡先 E-mail: naoT507@bio.c.u-tokyo.ac.jp

表3 チノリモ葉緑体ゲノムにコードされたタンパク質遺伝子

分類	数	分類	数
転写と複製		代謝	
ヘリカーゼ	1	ピルビン酸	2
リボヌクレアーゼ	2	デヒドロゲナーゼ	2
RNAポリメラーゼ	5	脂質	2
転写因子	3	ヌクレオチド	1
シャペロン	5	アミノ酸合成	5
逆転写酵素	5	補因子	4
		アミノアシル	3
		tRNA合成酵素	3
翻訳			
翻訳	4	フィコビリソーム	1
リボソームタンパク質	48	分解タンパク質	1
光合成		輸送	
フィコビリソーム	11	輸送	6
シトクロム複合体	11	タンパク質輸送体	4
炭酸固定	3		
酸化還元系	4	その他	
クロロフィル生合成	3	細胞分裂	1
ATP合成酵素	8	不明	
光化学系		保存されたORF	13
光化学系I	13	特有のORF	37
光化学系II	19		

224

体よりもゲノムサイズが大きいですが、今まで解読された紅藻の葉緑体ゲノムにはなかったイントロンが、合計で30,433 bp存在するためだと考えられる。

チノリモの葉緑体ゲノムは、1個のリボヌクレアーゼP遺伝子(*rnpB*)、6個のrRNA遺伝子、29個のtRNA遺伝子と224個のタンパク質遺伝子を持つことが分かった。また、5種の緑色植物²⁾および5種の紅藻の葉緑体のtRNA遺伝子配列をもとに、開始メチオニンtRNA遺伝子や、CAUアンチコドンを持つイソロイシンtRNA遺伝子を推定した(表2)。

3. タンパク質遺伝子

チノリモの葉緑体ゲノムでは、29個のタンパク質遺伝子内に合計で43個のイントロンが存在していることが推定された。推定には、他の葉緑体タンパク質遺伝子との同源性、近縁種のESTデータ³⁾およびイントロン推定プログラムRNAweasel⁴⁾を用いた。構造を調べた結果、*rpl28*のイントロンはグループIイントロンで、それ以外のイントロンはグループIIイントロンであると推定された。*dnaK*、*infC*、*gltB*、*rpoC2*のイントロン内には、逆転写酵素のタンパク質遺伝子がコードされていた。

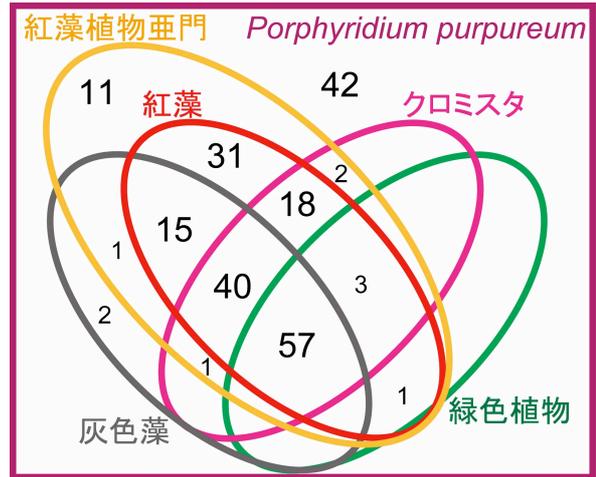


図1 チノリモ葉緑体ゲノムにコードされたタンパク質遺伝子の相同クラスタリング解析

5種の紅藻、1種の灰色藻、8種のクロミスタ(不等毛植物+クリプト藻+ハプト藻)、41種の緑色植物、チノリモ、の葉緑体ゲノムにコードされた全てのタンパク質遺伝子と41種のシアノバクテリアの全てのタンパク質遺伝子のアミノ酸配列に対して双方向のblastをかけ、相同クラスタリング解析を行った。

また、チノリモ葉緑体ゲノムの全てのタンパク質遺伝子の機能別分類表を表3に示した。これらについて、相同クラスタリング解析によりさまざまな光合成生物におけるホモログの有無を調べた(図1)。42個のタンパク質遺伝子のホモログは、検出されなかった。それらと*ycf12*、*ycf80*以外の遺伝子には、シアノバクテリアに共通してホモログが存在していた。57個のタンパク質遺伝子(光化学系I、II、シトクロム複合体、リボソームタンパク質、ATP合成酵素とRNAポリメラーゼ)は、全ての光合成生物に共通してホモログが存在していた。フィコビリソーム関連遺伝子を含む15個のタンパク質遺伝子は、紅藻と灰色藻に保存されていた。また、フィコエリスリン、アミノアシルtRNA合成酵素、リボヌクレアーゼなどのタンパク質をコードする11個の遺伝子は、紅藻植物亜門に共通して、ホモログが存在していた。また、2個のマンガンABCトランスポートはチノリモと灰色藻にのみ存在していた。

4. 特徴的なrRNAオペロン構造

119種の植物や藻類の葉緑体ゲノムについてrRNAオペロンの構造を調べ、チノリモのものと比較した(図2)。多くの種で、葉緑体のrRNAオペロンは2コピーあり、それらは互いに左右対称の逆向き反復配列であった。チノリモ以外の紅藻は、ウシケノリ綱の2種が直

rRNA オペロン構造	種数 種名
逆向き反復配列	
	73 大部分の陸上植物
	1 <i>Pelargonium x hortorum</i> (双子葉植物)
	1 <i>Huperzia lucidula</i> (シダ植物)
	2 <i>Cuscuta gronovii</i> (双子葉植物), <i>Selaginella uncinata</i> (シダ植物)
	1 <i>Adiantum capillus-veneris</i> (シダ植物)
	20 クロミスタ, 車軸藻, 一部の緑藻
	3 <i>Cyanophora paradoxa</i> (灰色藻), <i>Paulinella chromatophora</i> (ポーリネラ), <i>Pseudoclonium akinetum</i> (緑藻)
	1 <i>Oltmannsiellopsis viridis</i> (緑藻)
	1 <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (緑藻)
	1 <i>Eimeria tenella</i> (アルベオラータ)
直列反復配列	
	2 <i>Porphyra purpurea</i> , <i>Porphyra yezoensis</i> (紅藻)
	1 <i>Euglena gracilis</i> (ユーグレノゾア)
	1 <i>Euglena longa</i> (ユーグレノゾア)
単一配列	
	2 <i>Pinus koraiensis</i> , <i>Pinus thunbergii</i> (裸子植物)
	5 <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Stigeoclonium helveticum</i> (緑藻), <i>Cyanidium caldarium</i> , <i>Cyanidioschyzon merolae</i> , <i>Gracilaria tenuistipitata</i> var. <i>liui</i> (紅藻)
非オペロン構造	4 <i>Leptosira terrestris</i> , <i>Staurastrum punctulatum</i> , <i>Zygnema circumcarinatum</i> (緑藻), <i>Toxoplasma gondii</i> (アルベオラータ)

図2 葉緑体のrRNAオペロン構造

逆向き反復配列の2つのrRNAオペロンの内側はSSC (small single copy)を示す。

列反復配列で、真正紅藻綱と2種のイデユコゴメ綱は単一のrRNAオペロンを持っていた。チノリモのrRNAオペロンは、逆向き反復配列様の構造をとっていたが、16S rRNA遺伝子と23S rRNA遺伝子の間には、片方はtrnA、もう片方はtrnIという異なるtRNA遺伝子が存在することが分かった。既に解読された他の種の葉緑体ゲノムではこのような構造はみられず、チノリモの葉緑体ゲノムに特徴的なものであることが分かった。

5. おわりに

紅藻の葉緑体ゲノムは、綱ごとにそれぞれ異なるrRNAオペロン構造をとっていることが分かった。このことから、紅藻の葉緑体ゲノムは、進化の過程で何度かrRNAオペロン構造に大きな変化が起こったことが考えられる。紅藻由来の葉緑体を持つ二次共生藻類であるクロミスタ⁵⁾の葉緑体ゲノムは、左右対称の逆向き反復配列のrRNAオペロン構造をとっていた(図2)。しかし、今のところ紅藻の葉緑体ゲノムでは、左右対称の逆向き反復配列のrRNAオペロン構造は報告されていない。今後、さらに別の紅藻葉緑体ゲノムを解読するにあたって、アミノ酸配列や塩基配列の系統

解析だけでなく、ゲノム構造を把握することが、二次共生藻類との関係を含めた紅藻の系統関係を理解する上で重要となると考えられる。

謝辞

本研究は、グローバルCOEプログラム「地球から地球たちへ」および JST CREST の支援を受けて行われた。

Received November 15, 2012, Accepted November 20, 2012, Published December 31, 2012

参考文献

1. Yoon, H. S., Müller, K. M., Sheath, R. G., Ott, F. D., and Bhattacharya, D. (2006) Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta), *J. Phycol.* 42, 482-492.
2. Alkatib, S., Fleischmann, T. T., Scharff, L. B., and Bock, R. (2012) Evolutionary constraints on the plastid tRNA set decoding methionine and isoleucine, *Nucleic Acids Res.* 40, 6713-6724.
3. Chan, C. X., Yang, E. C., Banerjee, T., Yoon, H. S., Martone, P. T., Estevez, J. M., and Bhattacharya, D. (2011) Red and green algal monophyly and extensive gene sharing found in a rich repertoire of red algal genes, *Curr. Biol.* 21, 328-333.
4. Lang, B. F., Laforest, M-J., and Burger, G. (2007) Mitochondrial introns: a critical view, *Trends Genet.* 23, 119-125.
5. Cavalier-Smith, T. (1986) The kingdom Chromista: Origin and systematics, *Prog. Phycol. Res.* 4, 310-347.

Analysis of the Complete Chloroplast Genome of the Unicellular Red Alga *Porphyridium purpureum*

Naoyuki Tajima^{1,2,*}, Shusei Sato³, Fumito Maruyama⁴, Ken Kurokawa^{2,5}, Hiroyuki Ohta^{2,6},
Satoshi Tabata³, Kohsuke Sekine¹, Takashi Moriyama^{1,2}, Naoki Sato^{1,2}

¹Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo

²JST-CREST

³Kazusa DNA Research Institute

⁴Graduate School of Medical and Dental Science, Tokyo Medical and Dental University

⁵Department of Biological Information, Tokyo Institute of Technology

⁶Center for Biological Resources and Informatics, Tokyo Institute of Technology