

特集 : Crossover of Protistology ~原生生物をとりまく多様な世界~

---

Review

---

## アピコンプレクサ門のミトコンドリアゲノム構造

彦坂 健児<sup>1,2\*</sup>・田邊 和行<sup>3</sup>・北 潔<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>千葉大学大学院医学研究院感染生体防御学教室 〒260-8670 千葉県千葉市中央区  
亥鼻 1-8-1

<sup>2</sup>帝京大学医学部微生物学講座 〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1

<sup>3</sup>大阪大学微生物病研究所分子原虫学分野 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1

<sup>4</sup>東京大学大学院医学系研究科生物医化学教室 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

<sup>5</sup>長崎大学大学院熱帯医学・グローバルヘルス研究科 〒852-8523 長崎県長崎市坂本  
1-12-4

## Mitochondrial genome structure of the phylum Apicomplexa

Kenji HIKOSAKA<sup>1,2\*</sup>, Kazuyuki TANABE<sup>3</sup> and Kiyoshi KITA<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>*Department of Infection and Host Defense, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba 260-8670, Japan*

<sup>2</sup>*Department of Microbiology and Immunology, Teikyo University School of Medicine, Tokyo 173-8605, Japan*

<sup>3</sup>*Department of Molecular Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka 565-0871, Japan*

<sup>4</sup>*Department of Biomedical Chemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo 113-0033, Japan*

<sup>5</sup>*School of Tropical Medicine and Global Health, Nagasaki University, Nagasaki 852-8523, Japan*

### SUMMARY

Mitochondria are ubiquitous organelles in all eukaryotes that are essential for a range of cellular processes and cellular signaling. Nearly all mitochondria have their own DNA or

---

\*Corresponding author  
Tel: +81-43-226-2073/Fax: +81-43-226-2076  
E-mail: hikosaka@chiba-u.jp

Received: 17 February 2015; Accepted: 24 September 2015.

mitochondrial genome, which varies considerably in size, structure and organization. The phylum Apicomplexa includes a variety of unicellular eukaryotes, some of which are parasites of clinical or economic importance. Recent studies have demonstrated that apicomplexan mitochondrial genomes, which include the smallest 6-kb genome of the malaria parasites, exhibit remarkably diverse structures. Apicomplexan parasites are interesting model organisms in order to understand the evolution of mitochondrial genomes. This review summarizes the structure of apicomplexan mitochondrial genomes and highlights the unique features and the evolution of the mitochondrial genome.

Key words: Apicomplexa, Mitochondrial genome, Genome diversity, Parasitic protists, *Plasmodium*

## はじめに

ミトコンドリアは真核生物において ATP 産生などのエネルギー転換の役割を担うオルガネラであり、最近では、細胞のアポトーシスやオートファジーなどに重要な働きをもつことがわかってきている (Nunnari and Suomalainen, 2012) その起源は、 $\alpha$  プロテオバクテリアと考えられており、ミトコンドリアには  $\alpha$  プロテオバクテリアに由来するゲノム、ミトコンドリアゲノム (mt ゲノム) が残存する。Anderson らが 1981 年にヒト mt ゲノム全長配列を報告して以来 (Anderson et al., 1981), 近年のゲノムシーケンス技術の発展により、現在では 2,000 以上の生物種で mt ゲノムの全長 DNA 配列が決定されている (これらの DNA 配列は National Center for Biotechnology Information [NCBI] の web ページ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesHome.cgi?taxid=2759&hopt=html>) より入手可能)。NCBI に登録されている情報を見ると、ミトコンドリアが単一起源であるにもかかわらず、mt ゲノムのサイズ、構造および構成は多様であることがわかる。いくつかの例を除き、ほとんどの脊椎動物の mt ゲノムは、サイズが 15~20 kb の環状構造をとり、37 の遺伝子が存在し (16S および 12S サブユニット rRNA, 13 のタンパク質, 22 の tRNA), 脊椎動物ではこれらの mt ゲノム構造はよく保存されている (Boore, 1999) (Fig. 1a)。一方、原生生物の mt ゲノム構造は、環状もしくは直鎖状で、サイズは 6~69 kb, 存在する遺伝子数は 5~100 と幅広い (Gray et al., 2004)。また原生生物では、構造およびサイズが不定の mt ゲノムが渦鞭毛藻類などで報告されている (Waller and Jackson, 2009)。さらに最近では、サンゴに共生する原生生物である *Chromera velia* は、これまでわかっていた mt ゲノムには必ず存在して

いた cytochrome *b* 遺伝子を欠損していることが報告された (Flegontov et al., 2015)。以上は、原生生物の mt ゲノム構造が想像を超えて多様であることを示す。これら原生生物のうち、6 kb という最小サイズの mt ゲノムを持つものが住血胞子虫目の寄生性原生生物 (*Plasmodium* 属原虫とその近縁種) である (Hikosaka et al., 2011b; Perkins, 2008; Vaidya and Arasu, 1987)。我々は、この最小サイズの mt ゲノムの進化の軌跡を明らかにするべく、住血胞子虫目が属するアピコンプレクサ門の mt ゲノム構造の解析を行ってきた。

アピコンプレクサ門は 5,000 以上の種を含み、なかには臨床的、経済的に重要な病原体が多く存在する (Levine, 1988)。主な病原体としてはマラリアの起因病原体である *Plasmodium* 属原虫が有名だが、他にも、*Babesia* 属および *Theileria* 属原虫 (ウシなどの生産動物におけるバベシア症、熱帯タイレリア症や東海岸熱など)、*Eimeria* 属原虫 (家禽におけるコクシジウム症)、*Toxoplasma* 属原虫 (免疫不全のヒトや妊婦における垂直感染、トキソプラズマ症)、*Cryptosporidium* 属原虫 (ヒトの下痢症、特に免疫不全のヒトの場合、致命的である) などが属す。これらのアピコンプレクサ門は、それぞれの属において形態学的に異なる様々な発育ステージをもち、非常に複雑な生活環を形成する。

アピコンプレクサ門の mt ゲノムには、3 つのタンパク質コード遺伝子 (シトクロム *c* 酸化酵素サブユニット I: *cox1* およびサブユニット III: *cox3*, シトクロム *b*: *cob*) および高度に断片化されたりボソーム RNA (rRNA) 遺伝子が存在するのみである (Fig. 1b)。本稿では、多様なアピコンプレクサ門の mt ゲノム構造について紹介し、色素体ゲノムおよび核ゲノム構造との比較から、本原虫類の mt ゲノム構造の進化について俯瞰する。

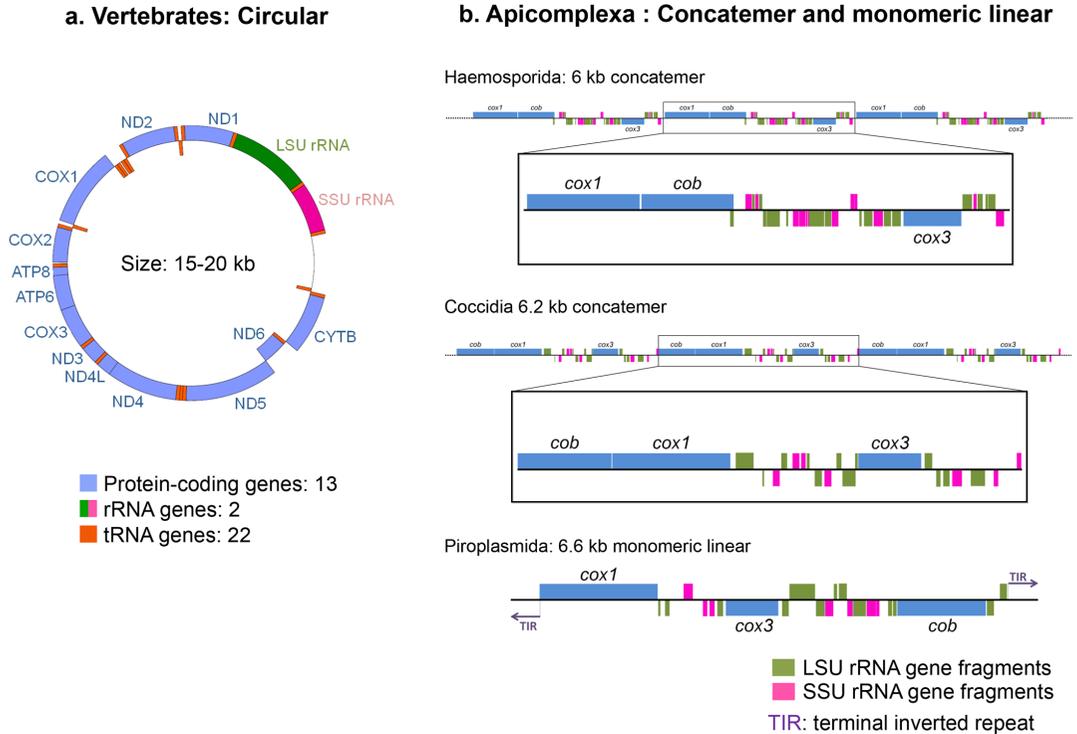


Fig. 1. Three types of mitochondrial genome structure. (a) The circular form is represented by a vertebrate mt DNA. (b) The concatemer and monomeric linear forms are represented by haemosporidian and coccidian mtDNAs, and piroplasmid mt DNA in the phylum Apicomplexa, respectively. (Modified from Hikosaka et al. (2013), with permission of Elsevier)

**mt ゲノム構造**

アピコンプレクサ門の mt ゲノムは、コンカテマー構造をとるものと、単量体直鎖状構造をとるものの 2 つに分けられる (Fig. 1b) . 以下の節では、各々の原虫種の mt ゲノム構造について紹介する.

**Plasmodium および Leucocytozoon**

*Plasmodium* は生物界で最小の mt ゲノムをもち、6 kb の直鎖状分子が直列に連なったコンカテマー構造をとる (Preiser et al., 1996) . これらの 6 kb の mt ゲノムのコピー数は、ヒト熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* (Preiser et al., 1996) で 20 コピー、げっ歯類マラリア原虫 *P. yoelii* (Vaidya and Arasu, 1987) で 150 コピーとの報告がある. mt ゲノムには *cox1*, *cox3*, *cob* の 3 つのタンパク質コード遺伝子、および、12S および 16S サブユニット rRNA 遺伝子が存在する (Feagin et al., 1997) (Fig. 2a) . これらの rRNA 遺伝子は高度に断片化されており、最近の *P. falciparum* の転写産物の網羅的解析および rRNA の 2 次構造予測によって 28 の断片が同定されている (Feagin et al., 2012; Feagin et al., 1997;

Hikosaka et al., 2011b) . 興味深いことに、*Plasmodium* 属原虫の mt ゲノムには、他の生物の mt ゲノムでコードされている tRNA 遺伝子が同定されておらず、細胞質に存在する tRNA プールより供給されることが示唆されている (Sharma and Sharma, 2015) . mt ゲノム構造は、鳥類からヒトまで様々な宿主に寄生する *Plasmodium* 属原虫 23 種において完全に保存されており、これらの mt ゲノム全長 DNA 配列の一致率は、84~99% と非常に高い (Hikosaka et al., 2011b) .

*Leucocytozoon* 属は *Plasmodium* 属と近縁な関係にあり、鳥類に広く寄生している原生動物である. 生物学的な相違点としては、*Plasmodium* とは異なり、ヘムを無毒化した代謝産物であるヘモジンを産生しないことが挙げられる. *Leucocytozoon* 属では 3 種 (*Leucocytozoon caulleryi*, *L. fringillarum*, *L. majoris*) において mt ゲノム全長配列が公開されており、これらのゲノム構造はよく保存されている (Omori et al., 2008; Perkins, 2008) . さらに、*Leucocytozoon* の mt ゲノムのサイズおよび構成は *Plasmodium* 属のものと同じである.

最近、*P. falciparum* の mt ゲノムにおいて、ほとん

どすべての遺伝子間領域の転写産物が調べられ (Raabe et al., 2010), このうちのいくつかは LSU および SSU rRNA として同定された. この他の遺伝子間領域転写産物の機能はよくわかっていないが, これらのサイズ, 塩基配列および mt ゲノム上における配置は, *Plasmodium* および *Leucocytozoon* でほぼ完全に一致している (Hikosaka et al., 2011b). このことは, これらの遺伝子間領域転写産物が機能性 RNA である可能性を示唆する.

### Babesia および Theileria

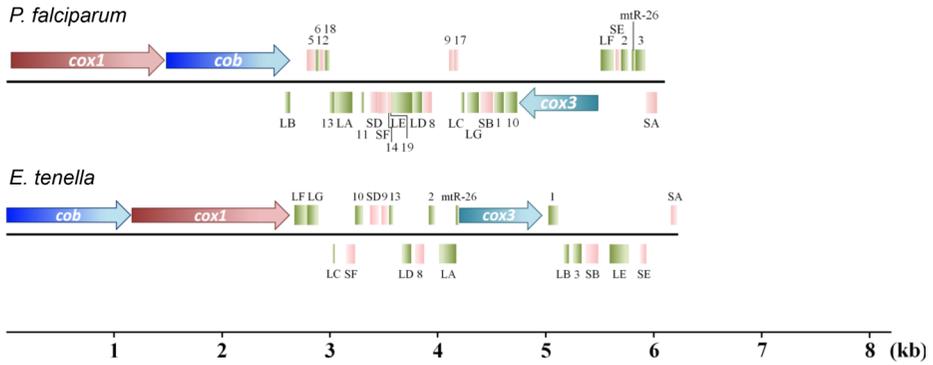
*Babesia* および *Theileria* 属は, 系統的に *Plasmodium/Leucocytozoon* 属の姉妹群に位置し, Clade I から Clade VIII の 8 つのグループに分類される (Lack et al., 2012). 現在, *Babesia/Theileria* 属の 10 種において mt ゲノムの完全長シーケンスを得ることができる. Clade I に属する *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B. caballi* および *B. gibsoni* の mt ゲノム構造はよく保存されている (Brayton et al., 2007; Hikosaka et al., 2010). これらの 6.6 kb の mt ゲノムは, 両末端に逆方向反復塩基配列 (Terminal inverted repeats: TIRs) をもつ単量体の直鎖状構造をとる (Fig. 1b および Fig. 2b), *Plasmodium* と同様のタンパク質コード遺伝子, *cox1*, *cox3* および *cob* が存在するが, それぞれの遺伝子配置と転写方向が大きく異なる. また, Clade I および Clade III にそれぞれ属する *B. bovis* および *Theileria parva* では 23 の rRNA 遺伝子断片が同定されており, 断片化の様式は基本的には *Plasmodium* とよく似ている (Feagin et al., 2012). しかし, mt ゲノム上のこれらの断片の配置や転写方向は全く一致しない.

Clade I の *Babesia* 属原虫とは対照的に, Clade II および III に属する *Theileria* 属原虫のグループでは異なる mt ゲノム構造が確認されている (Hikosaka et al., 2010). *T. orientalis* の mt ゲノムは, 遺伝子構成は Clade I の *Babesia* 属原虫と同じであるが, ゲノム中央部の *cox3* および 4 つの断片化 LSU rRNA 遺伝

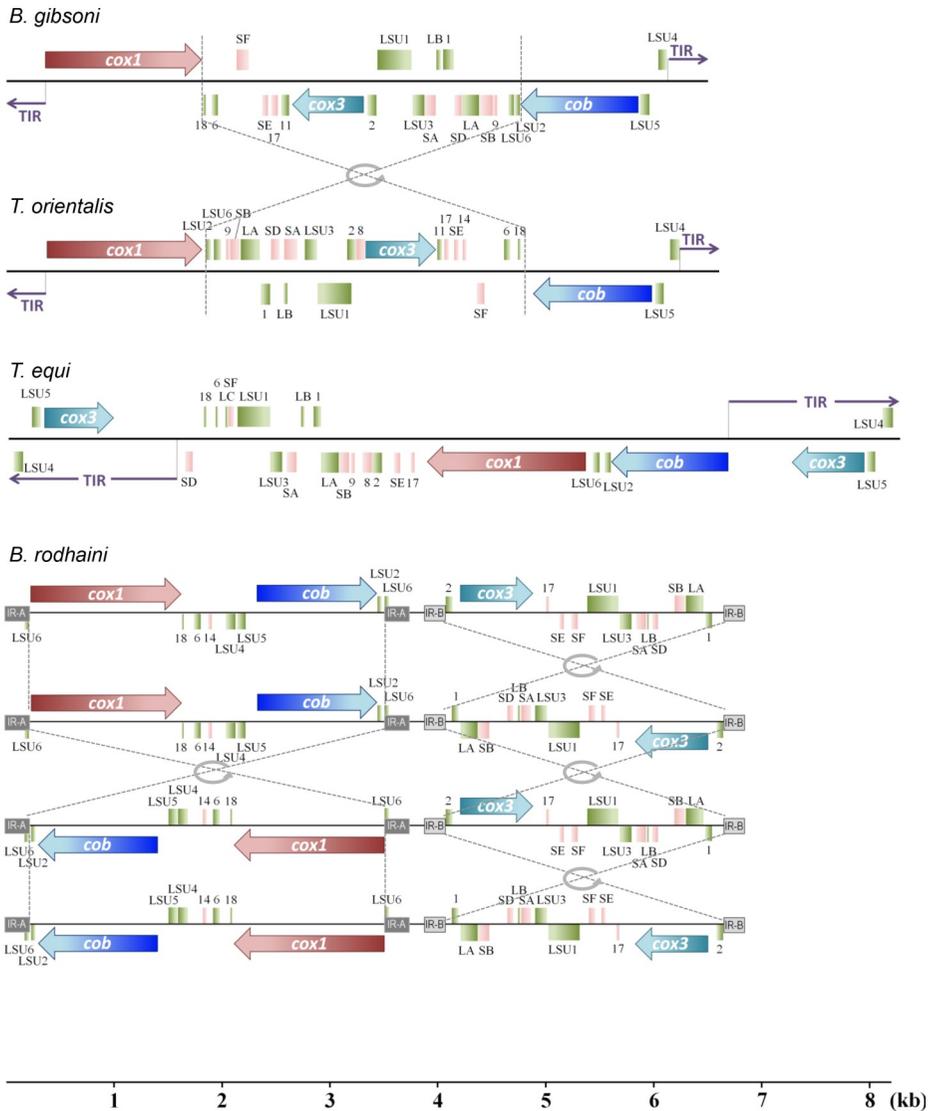
子を含む 3 kb の領域に逆位が確認される (Fig. 2b). この逆位の境界領域には, *T. orientalis* 特異的な挿入配列 (左端に 21 bp および右端に 100 bp) が存在している. このことより, 過去にトランスポゾンと同様の機構による逆位が起こったことが予測されるが, これら 2 つの挿入配列には既知のトランスポゾンが認識するような構造配列が確認されない. 今後, *T. orientalis* に近縁な種を調べれば逆位が起こった過程が解明されるかもしれない. Clade II に属する *T. equi* の mt ゲノムは, これまで述べてきた mt ゲノムと大きく異なる構造をとる (Fig. 2b). ゲノムサイズが 8.2 kb であり, これは Clade I の原虫グループや Clade III の *T. orientalis* よりも 1.5~1.6 kb 大きい. また, *cox3* および 2 つの LSU rRNA 断片 (LSU1 および LSU6) を含む TIR をもつ. さらに, タンパク質コード遺伝子および rRNA 遺伝子断片の配置は, 他の *Babesia/Theileria* とのシンテニーが確認されない. *Babesia/Theileria* 属原虫の系統解析において分岐年代の最も古い Clade VIII (Microti Group) に属する *B. microti* および *B. rodhaini* の mt ゲノムは, それぞれ 11.1 kb および 6.9 kb の単量体直鎖状構造をとるが, 遺伝子構成 (3 つのタンパク質コード遺伝子と 6 つの rRNA 遺伝子断片) は他の *Babesia/Theileria* と同じである (Hikosaka et al., 2012). しかし, これらの mt ゲノムには, 1 分子の mt ゲノム中に 2 組の逆向き繰り返し配列 (Inverted Repeat: IR) が存在し, それぞれの IR で挟まれた領域で逆位が確認されるため, 合計で 4 パターンの異なる mt ゲノム構造が存在するというユニークな構造をもつ. サザンプロット解析における DNA 断片の存在量の比較から, これら 4 パターンの構造の存在比がそれぞれ等しいことが推測された. これは, IR 領域を認識する機構による逆位が頻繁に起きていることを示唆する. 以上のように, *Plasmodium/Leucocytozoon* とは対照的に, *Babesia/Theileria* は 6.6~11.1 kb と幅広いサイズの mt ゲノムをもち, ゲノム構造および構成が多様化している.

Fig. 2. Structure of the concatemer mitochondrial genomes (a) and the monomeric linear mt genomes (b). Mt-genome organization is perfectly conserved among 23 *Plasmodium* species and three *Leucocytozoon* species. In *Babesia/Theileria*, the mt-genome organization is completely conserved among *B. gibsoni*, *B. bigemina* (data not shown), *B. caballi* (data not shown), *B. bovis* (data not shown), *T. parva* (data not shown) and *T. annulata* (data not shown). The *T. orientalis* mt genome has an inversion in the 3-kb central region. Vertical broken grey lines indicate the boundaries of the 3-kb inversion. The *T. equi* mt genome has a relatively long terminal inverted repeat (TIR) and contains a *cox3* gene and rRNA gene fragments. *B. rodhaini* possesses four distinct mt genome structures. The inversions are shown by grey broken lines with a circular arrow. The mt genome organization is highly conserved among six *Eimeria* species, including *E. tenella*. Genes shown above the bold line in each genome have predicted transcriptional directions from left to right; and those below, from right to left. Elements within the mt genomes of *P. falciparum* and *E. tenella* are tandemly repeated, so the designation of both termini is arbitrary. Light green and light magenta boxes indicate fragments of LSU and SSU rRNA genes, respectively. Abbreviations are: *cox1*, cytochrome c oxidase subunit I; *cox3*, cytochrome c oxidase subunit III; *cob*, cytochrome b; TIR, terminal inverted repeat. (Modified from Hikosaka et al. (2013), with permission of Elsevier)

**a.**



**b.**



## Eimeria

アイメリア亜目の *Eimeria* 属で初めて mt ゲノムの完全長が報告されたのは、ニワトリの腸管に寄生しコクシジウム症を引き起こす *Eimeria tenella* においてである (Hikosaka et al., 2011a) . *E. tenella* の mt ゲノムは *Plasmodium* と同様のコンカテマー構造をとり、1 ユニットはそれよりもやや長い 6.2 kb である (Fig. 2a) . mt ゲノム上で同定されている遺伝子は *Plasmodium* と同じ 3 つのタンパク質コード遺伝子 (*cox1*, *cox3* および *cob*) と断片化された rRNA 遺伝子であるが、これらの遺伝子配置は 2 つの mt ゲノムで大きく異なっている. 最近, Lin et al. (2011) および Ogedengbe et al. (2014) によって 10 種のニワトリおよびシチメンチョウに感染する *Eimeria* の mt ゲノム完全長配列が決定された. これらのサイズは 6.1~6.2 kb で, *E. tenella* を含む 11 種の遺伝子配置および遺伝子構成は完全に保存されている. また, *Eimeria* 属に内包される鳥類寄生性の *Isospora* sp. (Ogedengbe et al., 2015a) や *Cyclospora cayetanensis* (Ogedengbe et al., 2015b) の mt ゲノムが最近報告されたが, これらの mt ゲノムの構成も上述した *Eimeria* 属原虫の mt ゲノムと一致する. *Eimeria* 属原虫は, 両生類 (Jirků et al., 2009) や海洋性生物 (Molnár et al., 2012) も含め, 幅広い脊椎動物に感染することが知られている. このため, *Plasmodium* および *Babesia/Theileria* とは遺伝子配置の大きく異なる *Eimeria* 属の mt ゲノムの進化を解明するためには, 鳥類以外に寄生する *Eimeria* 属原虫の mt ゲノムについて調査する必要があるだろう. 特に, 魚類寄生性の *Eimeria* 属原虫は, 18S rRNA 遺伝子による系統解析において分岐年代が最も古いことが知られているので (Molnár et al., 2012) , これらの原虫の mt ゲノム構造の解析は興味深い. さらに近年, アイメリア亜目に近縁なアデリア亜目に属する両生類寄生性の *Hepatozoon catesbianae* の mt ゲノムが報告された (Leveille et al., 2014) . この mt ゲノムは, 他のアピコンプレクサ門の mt ゲノムとサイズ (6.4 kb) や遺伝子構成 (3 つのタンパク質コード遺伝子, および, 高度に断片化された rRNA 遺伝子) は一致するものの, 遺伝子配置は異なる. よって, 分岐年代が古いと考えられる魚類や両生類に寄生するアデリア亜目の mt ゲノム構造を解明することは, アピコンプレクサ門の mt ゲノム構造の進化の軌跡を解明するのに重要な鍵となることが推測される.

## Toxoplasma

*Toxoplasma gondii* (*Toxoplasma* 属には, 今のところ *T. gondii* 一種のみしか属さない) はゲノムシーケンスが完了しているものの (ゲノム情報は ToxoDB (Kissinger et al., 2003) より入手可能) , mt ゲノムの

全長配列は決定されていない. *T. gondii* の核ゲノムには, 他のアピコンプレクサ原虫では mt ゲノムにコードされている *cox1* および *cob* の断片配列が複数存在しており, これらは偽遺伝子と考えられている (Ossorio et al., 1991) . これらの核ゲノムに存在する多数の偽遺伝子配列が, mt ゲノムの解読を困難にしていると考えられている. *cob* の mRNA はミトコンドリアから分離されることから (Pino et al., 2010) , *T. gondii* のミトコンドリアは少なくとも *cob* をコードするゲノムをもっているようである. 今後, *T. gondii* のミトコンドリアの精製度を上げることができれば, mt ゲノムの完全長シーケンスの決定が可能になるとと思われる.

## Cryptosporidium

*Cryptosporidium* のゲノムは, ヒトおよびウシに感染性を示す *Cryptosporidium parvum* , および, ヒトのみ感染性を示す *C. hominis* について解読されている (Abrahamsen et al., 2004; Xu et al., 2004) . これらのゲノムには, mtDNA の複製やミトコンドリアのタンパク質翻訳に関わる遺伝子群が同定されていない. また, *cox1* もしくは *cob* の塩基配列をターゲットとした縮重プライマーを用いた PCR でも DNA の増幅が見られない (Putignani et al., 2004) . さらに, *C. parvum* および *C. hominis* のゲノム情報より, これらの原虫は, リンゴ酸-キノン酸化還元酵素, ATP 合成酵素  $\alpha$  および  $\beta$  サブユニットを除く全ての TCA 回路および酸化的リン酸化酵素を欠失しているようである (Mogi and Kita, 2010) . さらにクリステなどの構造を持つミトコンドリアが *Cryptosporidium* から見つからない. しかし, 電子顕微鏡および免疫染色による解析では, ミトコンドリアマーカーであるミトコンドリアシャペロン 60 (Cpn60) およびヒートショックプロテイン 70 (HSP70) が *Cryptosporidium* の二重膜をもつオルガネラから検出されているので (Putignani et al., 2004; Riordan et al., 2003; Slapeta and Keithly, 2004) , *Cryptosporidium* は mt ゲノムを欠失したミトコンドリア様オルガネラであるマイトソームをもつことが考えられている.

## アピコンプレクサ門のミトコンドリアゲノム構造の進化

これまでに述べたアピコンプレクサ門の系統関係と mt ゲノムの構造を Fig. 3 にまとめた. これらの原虫の mt ゲノム構造は, コンカテマーと単量体直鎖状の二つに分けることができる. *Plasmodium/Leucocytozoon* , および *Babesia/Theileria* より分岐年代の古い *Eimeria* は, 共にコンカテマー構造の mt ゲノムをもつことから, *Plasmodium/Leucocytozoon/*

*Eimeria* の共通祖先の mt ゲノム構造はコンカテマーであったと推測される. 従って, *Plasmodium/Leucocytozoon* と *Babesia/Theileria* が分岐した後に, *Babesia/Theileria* の系統でのみ単量体直鎖状の mt ゲノム構造の形質が獲得されたものと考えられる. *Babesia/Theileria* 属では, これまで他の生物の mt ゲノム構造において特殊な形質として扱われてきた様々な mt ゲノム構造 (*T. orientalis*: 同属内生物における逆位, *T. equi*: タンパク質コード遺伝子および断片化 rRNA 遺伝子を含む TIR, *B. rodhaini* および *B. microti*: IR 間の逆位によって引き起こされる 4 つの異なるゲノム構造) が確認されている (Fig. 2b). このため, *Babesia/Theileria* 属原虫の mt ゲノムの進化の軌跡を探ることは非常に興味深い. しかしながら, *Babesia/Theileria* 属原虫では, サンプル入手の困難さから解読されている mt ゲノム完全長シーケンスが少ないため, 進化の過程を推測することが難しい. 今後, さらに *Babesia/Theileria* 属原虫の mt ゲノム構造が明らかになれば, 単量体直鎖状 mt ゲノムの構造進化についてのより多くの知見が得られ

るだろう.

一般的に, mt ゲノムではサイズを縮小, かつ遺伝子数を減少させる傾向にある (Andersson and Kurland, 1998). 本稿では, mt ゲノムの縮小化に最も成功しているアピコンプレクサ門の mt ゲノム構造の多様性に目を向けてきたが, 共通点も存在する. すなわち, mt ゲノム上には必ず 3 つのタンパク質コード遺伝子が存在する点と, LSU および SSU rRNA 遺伝子の断片化の様式がほぼ一致することである. これらの mt ゲノムの形質の共通点はアピコンプレクサ門の姉妹群である渦鞭毛藻類の生物においても保存されており, これらの生物群の共通祖先で既に獲得されていた形質であると考えられる. 共通の 3 つのタンパク質コード遺伝子のうち, *cob* はミトコンドリア呼吸鎖複合体 III において cytochrome *c* を還元するタンパク質であり, *cox1* および *cox3* はミトコンドリア呼吸鎖複合体 IV の cytochrome *c* の酸化に関わるタンパク質である. 古典的なミトコンドリア呼吸鎖をもつ生物種では, 少なくとも mt ゲノム上にこれら 3 つのタンパク質をコードする遺伝子が存在

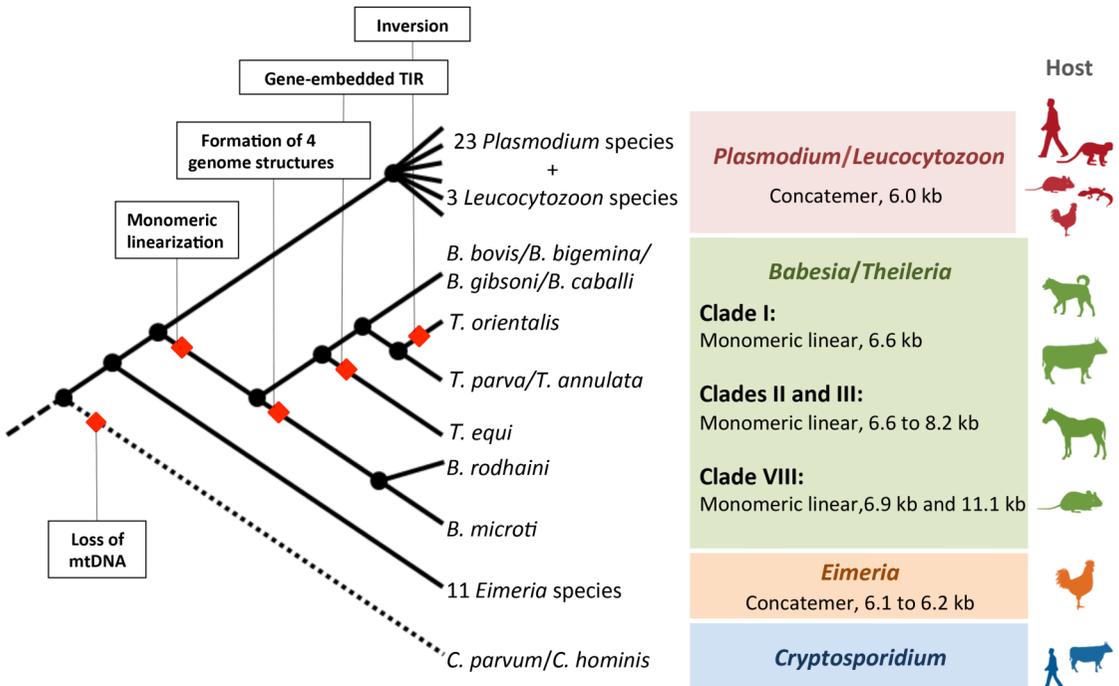


Fig. 3. A scheme for the evolution of apicomplexan mitochondrial genomes. *Plasmodium/Leucocytozoon* and *Eimeria* have concatenated mtDNA. *Babesia/Theileria* possess a monomeric linear mt genome and the organization of their monomeric linear mt genomes is highly divergent: the *T. orientalis* mt genome has an inversion; the *T. equi* mt genome harbors gene-embedded long TIR sequences; and *B. rodhaini* and *B. microti* have four distinct mt-genome organizations. The *Cryptosporidium* mitochondrion is degenerative and lacks any DNA. (Modified from Hikosaka et al. (2013), with permission of Elsevier)

している. このことと, 最も mt ゲノムの縮小化が進んだアピコンプレクサ門の mt ゲノムにこれら 3 つの遺伝子が残っているという事実は, cytochrome *c* の酸化還元をミトコンドリア自身で制御することがミトコンドリア呼吸鎖を維持するための最後の砦となっていることを想起させる. アピコンプレクサ門の *Cryptosporidium* のミトコンドリア様オルガネラであるマイトソームは, 呼吸鎖に関わる遺伝子群を欠損しているため, アピコンプレクサ門の生物を用いて, ミトコンドリア自身における cytochrome *c* の酸化還元の制御の重要性について解明できれば, と考えている.

### アピコンプレクサ門における核ゲノムと核外ゲノムとの構造の比較

*Cryptosporidium* 属および *Gregarina* 属を除くアピコンプレクサ門は 3 つのゲノム (核ゲノム, mt ゲノムおよびアピコプラスト [api] ゲノム) を有する. これまでに, 7 種の *Plasmodium* (Carlton et al., 2008; Carlton et al., 2002; Gardner et al., 2002; Hall et al., 2005; Pain et al., 2008; Tachibana et al., 2012), 2 種の *Cryptosporidium* (Abrahamsen et al., 2004; Xu et al., 2004), 4 種の *Babesia/Theileria* (Brayton et al., 2007; Cornillot et al., 2012; Gardner et al., 2005; Pain et al., 2005), *E. tenella* (Wellcome Trust Sanger Institute, <http://www.sanger.ac.uk/resources/downloads/protozoa/eimeria-tenella.html>), および *T. gondii* とその近縁種 (Gajria et al., 2008) において核ゲノムのシーケンスが完了している. api ゲノムは, 9 種の *Plasmodium* (Arisue et al., 2012; Wilson and Williamson, 1997), *L. caulleryi* (Imura et al., 2014), *B. bovis* (Brayton et al., 2007), *B.*

*microti* (Garg et al., 2014), *T. parva* (Gardner et al., 2005), *E. tenella* および *T. gondii* (Cai et al., 2003) で完全長が報告されている. 以上の情報と mt ゲノムの構造をまとめたものを Table 1 に示す.

アピコンプレクサ門において, mt ゲノムはコンカタマー構造と直鎖状構造が存在し, これらの遺伝子配置は大きく異なっている. api ゲノム構造は, *P. falciparum*, *L. caulleryi*, *E. tenella*, *T. gondii* において, サイズは 34.8~37.5 kb, 遺伝子は両方向にコードされており, 大きいサイズの逆向き繰り返し配列が存在する. これらの構造は以上の 3 種ではほぼ完全に保存されている. 一方, 逆向き繰り返し配列が存在せず, 遺伝子が一方方向にコードされている *Babesia/Theileria* の api ゲノム構造は属内においても多様である. *B. bovis*, *B. microti*, および *T. parva* の api ゲノムサイズは, それぞれ 33.3 kb, 28.7 kb, および 39.6 kb と幅広い. また, それぞれの原虫において遺伝子配置が大きく異なる. さらに, 筆者らの最近の研究で, *Babesia/Theileria* の Clade VIII に属する *B. rodhaini* の api ゲノムと, 同じ Clade VIII に属する *B. microti* の api ゲノムとを比較したところ, サイズは同程度の 30.7 kb でタンパク質コード遺伝子の配置は一致するが, tRNA 遺伝子の配置は異なることがわかっている (未発表). 以上より, *Babesia/Theileria* の api ゲノムの構造は, mt ゲノム構造と同様に多様であることが予測される.

核ゲノムのサイズは, 6.5 Mb から 61.6 Mb と幅広く (Table 1), *Babesia/Theileria* (Brayton et al., 2007; Cornillot et al., 2012; Gardner et al., 2005) の核ゲノムはサイズ (6.5~8.3 Mb) および染色体数 (3 もしくは 4 本) とともに, *P. falciparum*, *E. tenella* および *T. gondii* の核ゲノムよりも小さい. *Babesia/Thailria* の系統に

Table 1. Characteristics of mitochondrial (mt), apicoplast (api) and nuclear (nu) genomes of representative apicomplexans

	mt			api			nu	
	Size (kb)	Structure	# of fragmented rRNA genes	Size (kb)	Coding strand <sup>3</sup>	# of rRNA genes <sup>4</sup>	Size (kb)	# of chromosomes
<i>Plasmodium falciparum</i>	6	Concatemer	27	34.7	Both	4	22.9	14
<i>Babesia bovis</i>	6.6	Linear	24	33.3	Single	2	8.2	4
<i>Theileria parva</i>	6.6	Linear	24	39.6	Single	2	8.2	4
<i>Eimeria tenella</i>	6.2	Concatemer	20	34.8	Both	4	ca.60	14
<i>Toxoplasma gondii</i>	nd <sup>2</sup>	nd	nd	35	Both	4	61.6	14
<i>Cryptosporidium parvum</i> <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	9.1	8

<sup>1</sup>*C. parvum* does not possess either mtDNA or apicoplast DNA. <sup>2</sup>nd indicates data not determined. <sup>3</sup>Both and Single indicate that apicoplast genes are encoded in both directions and a single direction, respectively. <sup>4</sup>Long inverted repeat sequences (IRs), which encode large subunit and small subunit rRNAs, are present in the apicoplast genomes of *P. falciparum*, *E. tenella* and *T. gondii*. The number of rRNA genes are therefore four. In contrast to these parasites, *B. bovis*, *B. microti*, and *T. parva* do not have such a long IR and the number of rRNA gene are two.

Table 2. Number of NUMTs and NUPTs in apicomplexan genomes

Species	NUMTs	NUPTs
<i>Plasmodium alciparum</i>	0	0
<i>Babesia bovis</i>	0	0
<i>Theileria parva</i>	0	0
<i>Eimeria tenella</i>	21	28
<i>Toxoplasma gondii</i>	nd*	10

\*nd indicates data not determined.

において、ミトコンドリア、アピコプラストおよび核の3つのゲノムは、多様化かつ縮小化しており、ゲノム進化を考える上で非常に興味深い現象である。

### 核ゲノムに存在する mtDNA および apiDNA 断片

一般的に、mt ゲノムの縮小化に関わる一つの要因として、生存に必須な遺伝子領域または非コード領域の配列が核ゲノムへ移行することが考えられている (Berg and Kurland, 2000) . これらの核 DNA に移行していると考えられる mtDNA に相同な配列の断片は核 mtDNA (nuclear mtDNA: NUMT) と呼ばれ (Lopez et al., 1994) , 82 種以上の生物で検出されている (Bensasson et al., 2001) . アピコンプレクサ門の mt ゲノムのサイズはきわめて小さく最も縮小化が進んでいると考えられたため、NUMT の検出を試みた。既に *E. tenella* では NUMT が報告されているため (Hikosaka et al., 2011a) , 同様の解析方法を他の原虫にも用いた。その結果、Table 2 に示すように、*P. falciparum* , *B. bovis* , および *T. parva* では NUMT が検出されなかった。また、*T. gondii* においては mt ゲノムの配列の報告がないが、*cox1* および *cob* の断片配列が核ゲノムに複数存在することが報告されているため (Ossorio et al., 1991) , 核ゲノム上に多くの NUMT が存在することが予想される。同様の解析を核 plastid DNA (nuclear plastid DNA; NUPT) についても行ったところ、NUMT の解析結果と同じように *T. gondii* および *E. tenella* のみにおいて、NUPT が検出された (Table 2) . *E. tenella* および *T. gondii* の核ゲノムのサイズは他のアピコンプレクサ原虫に比べて大きいので、核ゲノムの縮小化が進んでいないのかもしれない。

### おわりに

アルベオラータは原生生物の主要な系統の 1 つであり、アピコンプレクサ門、繊毛虫類、渦鞭毛藻、および、プロトアルベオラータの 4 つの生物群に分

類される。繊毛虫類は 40~47 kb の直鎖状 mt ゲノムをもつが、その報告数は少ない (Pritchard et al., 1990; Moradian et al., 2007; Barth and Berendonk, 2011) . クロメラおよび渦鞭毛藻の mt ゲノムは、ヘテロな構成をもつ断片が複数存在することが予測されており (Flegontov et al., 2015) , 構造決定が困難である。以上より、アピコンプレクサ門の mt ゲノムは、構造が多様であり、報告数も多く、コンパクトかつ構造決定が容易という点で、構造進化の軌跡を辿るのにちょうど良いサンプルだと考えられる。今後、本稿で紹介した *Babesia/Theileria* 以外の種や *Toxoplasma* , 魚類や両生類に感染するアイメリア亜目やアデリア亜目に属する原虫など、さらなるアピコンプレクサ門の mt ゲノム構造が決定されれば、mt ゲノムの縮小化や高度に断片化された rRNA 遺伝子の存在意義についての理解が深まることと思う。特に、*Nephromyces* など (Saffo et al., 2010) の分岐年代が古いと考えられる海洋性の生物に寄生するアピコンプレクサ門の mt ゲノムの解析は、mt ゲノムの構造進化を知る上で重要であると考えられる。本分野の発展を期待したい。

### あとがき

一昨年、共著者である故田邊和行先生は、国内外、また研究分野を問わず多くの研究者に惜しまれながらご逝去されました。研究開始当初、情報量が極めて少なかったアピコンプレクサ門のミトコンドリアゲノムの構造を、ここまで体系立ててまとめることができたのも、先生のご指導があったためと心から感謝しております。田邊先生のご冥福をお祈り申し上げます。

### 引用文献

- Abrahamsen, M. S., Templeton, T. J., Enomoto, S., Abrahante, J. E., Zhu, G., Lancto, C. A., Deng, M., Liu, C., Widmer, G., Tzipori, S. et al. (2004) Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. *Science*, 304, 441–445.
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H., Coulson, A. R., Drouin, J., Eperon, I. C., Nierlich, D. P., Roe, B. A., Sanger, F. et al. (1981) Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290, 457–465.
- Andersson, S. G. and Kurland, C. G. (1998) Reductive evolution of resident genomes. *Trends Microbiol.*, 6, 263–268.
- Arisue, N., Hashimoto, T., Mitsui, H., Palacpac, N. M., Kaneko, A., Kawai, S., Hasegawa, M., Tanabe, K.

- and Horii, T. (2012) The *Plasmodium* apicoplast genome: conserved structure and close relationship of *P. ovale* to rodent malaria parasites. *Mol. Biol. Evol.*, 29, 2095–2099.
- Barth, D. and Berendonk, T. U. (2011) The mitochondrial genome sequence of the ciliate *Paramecium caudatum* reveals a shift in nucleotide composition and codon usage within the genus *Paramecium*. *BMC genomics*, 12, 272.
- Bensasson, D., Zhang, D., Hartl, D. L. and Hewitt, G. M. (2001) Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses. *Trends Ecol. Evol.*, 16, 314–321.
- Berg, O. G. and Kurland, C. G. (2000) Why mitochondrial genes are most often found in nuclei. *Mol. Biol. Evol.*, 17, 951–961.
- Boore, J. L. (1999) Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Res.*, 27, 1767–1780.
- Brayton, K. A., Lau, A. O., Herndon, D. R., Hannick, L., Kappmeyer, L. S., Berens, S. J., Bidwell, S. L., Brown, W. C., Crabtree, J., Fadrosch, D. et al. (2007) Genome sequence of *Babesia bovis* and comparative analysis of apicomplexan hemoprotozoa. *PLOS Pathogens*, 3, 1401–1413.
- Cai, X., Fuller, A. L., McDougald, L. R. and Zhu, G. (2003) Apicoplast genome of the coccidian *Eimeria tenella*. *Gene*, 321, 39–46.
- Carlton, J. M., Adams, J. H., Silva, J. C., Bidwell, S. L., Lorenzi, H., Caler, E., Crabtree, J., Angiuoli, S. V., Merino, E. F., Amedeo, P. et al. (2008) Comparative genomics of the neglected human malaria parasite *Plasmodium vivax*. *Nature*, 455, 757–763.
- Carlton, J. M., Angiuoli, S. V., Suh, B. B., Kooij, T. W., Perteza, M., Silva, J. C., Ermolaeva, M. D., Allen, J. E., Selengut, J. D., Koo, H. L. et al. (2002) Genome sequence and comparative analysis of the model rodent malaria parasite *Plasmodium yoelii yoelii*. *Nature*, 419, 512–519.
- Cornillot, E., Hadj-Kaddour, K., Dassouli, A., Noel, B., Ranwez, V., Vacherie, B., Augagneur, Y., Bres, V., Duclos, A., Randazzo, S. et al. (2012) Sequencing of the smallest Apicomplexan genome from the human pathogen *Babesia microti*. *Nucleic Acids Res.*, 40, 9102–9114.
- Feagin, J. E., Harrell, M. I., Lee, J. C., Coe, K. J., Sands, B. H., Cannone, J. J., Tami, G., Schnare, M. N. and Gutell, R. R. (2012) The fragmented mitochondrial ribosomal RNAs of *Plasmodium falciparum*. *PLOS ONE*, 7, e38320.
- Feagin, J. E., Mericle, B. L., Werner, E. and Morris, M. (1997) Identification of additional rRNA fragments encoded by the *Plasmodium falciparum* 6 kb element. *Nucleic Acids Res.*, 25, 438–446.
- Flegontov, P., Michalek, J., Janouskovec, J., Lai, H., Jirku, M., Hajduskova, E., Tomcala, A., Otto, T. D., Keeling, P. J., Pain, A. et al. (2015) Divergent mitochondrial respiratory chains in phototrophic relatives of apicomplexan parasites. *Mol. Biol. Evol.*, 32, 1115–1131.
- Gajria, B., Bahl, A., Brestelli, J., Dommer, J., Fischer, S., Gao, X., Heiges, M., Iodice, J., Kissinger, J. C., Mackey, A. J. et al. (2008) ToxoDB: an integrated *Toxoplasma gondii* database resource. *Nucleic Acids Res.*, 36, D553–D556.
- Gardner, M. J., Bishop, R., Shah, T., de Villiers, E. P., Carlton, J. M., Hall, N., Ren, Q., Paulsen, I. T., Pain, A., Berriman, M. et al. (2005) Genome sequence of *Theileria parva*, a bovine pathogen that transforms lymphocytes. *Science*, 309, 134–137.
- Gardner, M. J., Hall, N., Fung, E., White, O., Berriman, M., Hyman, R. W., Carlton, J. M., Pain, A., Nelson, K. E., Bowman, S. et al. (2002) Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature*, 419, 498–511.
- Garg, A., Stein, A., Zhao, W., Dwivedi, A., Frutos, R., Cornillot, E. and Ben Mamoun, C. (2014) Sequence and annotation of the apicoplast genome of the human pathogen *Babesia microti*. *PLOS ONE*, 9, e107939.
- Gray, M. W., Lang, B. F. and Burger, G. (2004) Mitochondria of protists. *Annu. Rev. Genet.*, 38, 477–524.
- Hall, N., Karras, M., Raine, J. D., Carlton, J. M., Kooij, T. W., Berriman, M., Florens, L., Janssen, C. S., Pain, A., Christophides, G. K. et al. (2005) A comprehensive survey of the *Plasmodium* life cycle by genomic, transcriptomic, and proteomic analyses. *Science*, 307, 82–86.
- Hikosaka, K., Nakai, Y., Watanabe, Y., Tachibana, S., Arisue, N., Palacpac, N. M., Toyama, T., Honma, H., Horii, T., Kita, K. and Tanabe, K. (2011a) Concatenated mitochondrial DNA of the coccidian parasite *Eimeria tenella*. *Mitochondrion*, 11, 273–278.
- Hikosaka, K., Tsuji, N., Watanabe, Y., Kishine, H., Horii, T., Igarashi, I., Kita, K. and Tanabe, K. (2012) Novel type of linear mitochondrial genomes with dual flip-flop inversion system in apicomplexan parasites, *Babesia microti* and *Babesia rodhaini*. *BMC Genomics*, 13, 622.
- Hikosaka, K., Watanabe, Y., Kobayashi, F., Waki, S., Kita, K. and Tanabe, K. (2011b) Highly conserved gene

- arrangement of the mitochondrial genomes of 23 *Plasmodium* species. *Parasitol. Int.*, 60, 175–180.
- Hikosaka, K., Watanabe, Y., Tsuji, N., Kita, K., Kishine, H., Arisue, N., Palacpac, N. M., Kawazu, S., Sawai, H., Horii, T. et al. (2010) Divergence of the mitochondrial genome structure in the apicomplexan parasites, *Babesia* and *Theileria*. *Mol. Biol. Evol.*, 27, 1107–1116.
- Imura, T., Sato, S., Sato, Y., Sakamoto, D., Isobe, T., Murata, K., Holder, A. A. and Yukawa, M. (2014) The apicoplast genome of *Leucocytozoon caulleryi*, a pathogenic apicomplexan parasite of the chicken. *Parasitol. Res.*, 113, 823–828.
- Jirků, M., Jirků, M., Oborník, M., Lukes, J. and Modrý, D. (2009) A model for taxonomic work on homoxenous coccidia: redescription, host specificity, and molecular phylogeny of *Eimeria ranae* Dobell, 1909, with a review of anuran-host *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriorina). *J. Eukaryot. Microbiol.*, 56, 39–51.
- Kissinger, J. C., Gajria, B., Li, L., Paulsen, I. T. and Roos, D. S. (2003) ToxoDB: accessing the *Toxoplasma gondii* genome. *Nucleic Acids Res.*, 31, 234–236.
- Lack, J. B., Reichard, M. V. and Van Den Bussche, R. A. (2012) Phylogeny and evolution of the Piroplasmida as inferred from 18S rRNA sequences. *Int. J. Parasitol.*, 42, 353–363.
- Leveille, A. N., Ogedengbe, M. E., Hafeez, M. A., Tu, H. H. and Barta, J. R. (2014) The complete mitochondrial genome sequence of *Hepatozoon catesbianae* (Apicomplexa: Coccidia: Adeleorina), a blood parasite of the green frog, *Lithobates* (formerly *Rana*) *clamitans*. *J. Parasitol.*, 100, 651–656.
- Levine, L. D. (1988) The protozoan phylum Apicomplexa. CRC Press, Boca Raton.
- Lin, R. Q., Qiu, L. L., Liu, G. H., Wu, X. Y., Weng, Y. B., Xie, W. Q., Hou, J., Pan, H., Yuan, Z. G., Zou, F. C. et al. (2011) Characterization of the complete mitochondrial genomes of five *Eimeria* species from domestic chickens. *Gene*, 480, 28–33.
- Lopez, J. V., Yuhki, N., Masuda, R., Modi, W. and O'Brien, S. J. (1994) Numt, a recent transfer and tandem amplification of mitochondrial DNA to the nuclear genome of the domestic cat. *J. Mol. Evol.*, 39, 174–190.
- Mogi, T. and Kita, K. (2010) Diversity in mitochondrial metabolic pathways in parasitic protists *Plasmodium* and *Cryptosporidium*. *Parasitol. Int.*, 59, 305–312.
- Molnár, K., Ostoros, G., Dunams-Morel, D. and Rosenthal, B. M. (2012) *Eimeria* that infect fish are diverse and are related to, but distinct from, those that infect terrestrial vertebrates. *Infect. Genet. Evol.*, 12, 1810–1815.
- Moradian, M. M., Beglaryan, D., Skozylas, J. M. and Kerikorian, V. (2007) Complete mitochondrial genome sequence of three *Tetrahymena* species reveals mutation hot spots and accelerated nonsynonymous substitutions in Ymf genes. *PLOS ONE*, 2, e650.
- Nunnari, J. and Suomalainen, A. (2012) Mitochondria: in sickness and in health. *Cell*, 148, 1145–1159.
- Ogedengbe, M. E., Brash, M. and Barta, J. R. (2015a) The complete mitochondrial genome sequence of an *Isospora* sp. (Eimeriidae, Eucoccidiorida, Coccidiasina, Apicomplexa) causing systemic coccidiosis in domestic Canaries (*Serinus canaria* Linn.). Mitochondrial DNA, doi:10.3109/19401736.2015.1018201.
- Ogedengbe, M. E., Qvarnstrom, Y. da Silva, A. J., Arrowood, M. J. and Barta, J. R. (2015b) A linear mitochondrial genome of *Cyclospora cayetanensis* (Eimeriidae, Eucoccidiorida, Coccidiasina, Apicomplexa) suggests the ancestral start position within mitochondrial genomes of eimeriid coccidia. *Int. J. Parasitol.*, 45, 361–365.
- Ogedengbe, M. E., El-Sherry, S., Whale, J. and Barta, J. R. (2014) Complete mitochondrial genome sequences from five *Eimeria* species (Apicomplexa; Coccidia; Eimeriidae) infecting domestic turkeys. *Parasit. Vectors*, 7, 335.
- Omori, S., Sato, Y., Hirakawa, S., Isobe, T., Yukawa, M. and Murata, K. (2008) Two extra chromosomal genomes of *Leucocytozoon caulleryi*; complete nucleotide sequences of the mitochondrial genome and existence of the apicoplast genome. *Parasitol. Res.*, 103, 953–957.
- Ossorio, P. N., Sibley, L. D. and Boothroyd, J. C. (1991) Mitochondrial-like DNA sequences flanked by direct and inverted repeats in the nuclear genome of *Toxoplasma gondii*. *J. Mol. Biol.*, 222, 525–536.
- Pain, A., Bohme, U., Berry, A. E., Mungall, K., Finn, R. D., Jackson, A. P., Mourier, T., Mistry, J., Pasini, E. M., Aslett, M. A. et al. (2008) The genome of the simian and human malaria parasite *Plasmodium knowlesi*. *Nature*, 455, 799–803.
- Pain, A., Renauld, H., Berriman, M., Murphy, L., Yeats, C. A., Weir, W., Kerhornou, A., Aslett, M., Bishop, R., Bouchier, C. et al. (2005) Genome of the host-cell transforming parasite *Theileria annulata* compared with *T. parva*. *Science*, 309, 131–133.

- Perkins, S. L. (2008) Molecular systematics of the three mitochondrial protein-coding genes of malaria parasites: corroborative and new evidence for the origins of human malaria. *Mitochondrial DNA*, 19, 471–478.
- Pino, P., Aeby, E., Foth, B. J., Sheiner, L., Soldati, T., Schneider, A. and Soldati-Favre, D. (2010) Mitochondrial translation in absence of local tRNA aminoacylation and methionyl tRNA Met formylation in Apicomplexa. *Mol. Microbiol.*, 76, 706–718.
- Preiser, P. R., Wilson, R. J., Moore, P. W., McCready, S., Hajibagheri, M. A., Blight, K. J., Strath, M. and Williamson, D. H. (1996) Recombination associated with replication of malarial mitochondrial DNA. *EMBO J.*, 15, 684–693.
- Pritchard, A. E., Seilhamer, J. J., Mahalingam, R., Sable, C. L., Venuti, S. E. and Cummings, D. J. (1990) Nucleotide sequence of the mitochondrial genome of *Paramecium*. *Nucleic Acids Res.*, 18, 173–180.
- Putignani, L., Tait, A., Smith, H. V., Horner, D., Tovar, J., Tetley, L. and Wastling, J. M. (2004) Characterization of a mitochondrion-like organelle in *Cryptosporidium parvum*. *Parasitology*, 129, 1–18.
- Raabe, C. A., Sanchez, C. P., Randau, G., Robeck, T., Skryabin, B. V., Chinni, S. V., Kube, M., Reinhardt, R., Ng, G. H., Manickam, R. et al. (2010) A global view of the nonprotein-coding transcriptome in *Plasmodium falciparum*. *Nucleic Acids Res.*, 38, 608–617.
- Riordan, C. E., Ault, J. G., Langreth, S. G. and Keithly, J. S. (2003) *Cryptosporidium parvum* Cpn60 targets a relict organelle. *Curr. Genet.*, 44, 138–147.
- Saffo, M. B., McCoy, A. M., Rieken, C. and Slamovits, C. H. (2010) *Nephromyces*, a beneficial apicomplexan symbiont in marine animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 107, 16190–16195.
- Sharma, A. and Sharma, A. (2015) *Plasmodium falciparum* mitochondria import tRNAs along with an active phenylalanyl-tRNA synthetase. *Biochem. J.*, 465, 459–469.
- Slapeta, J. and Keithly, J. S. (2004) *Cryptosporidium parvum* mitochondrial-type HSP70 targets homologous and heterologous mitochondria. *Eukaryot. Cell*, 3, 483–494.
- Tachibana, S., Sullivan, S. A., Kawai, S., Nakamura, S., Kim, H. R., Goto, N., Arisue, N., Palacpac, N. M., Honma, H., Yagi, M. et al. (2012) *Plasmodium cynomolgi* genome sequences provide insight into *Plasmodium vivax* and the monkey malaria clade. *Nat. Genet.*, 44, 1051–1055.
- Vaidya, A. B. and Arasu, P. (1987) Tandemly arranged gene clusters of malarial parasites that are highly conserved and transcribed. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 22, 249–257.
- Waller, R. F. and Jackson, C. J. (2009) Dinoflagellate mitochondrial genomes: stretching the rules of molecular biology. *Bioessays*, 31, 237–245.
- Wilson, R. J. and Williamson, D. H. (1997) Extrachromosomal DNA in the Apicomplexa. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 61, 1–16.
- Xu, P., Widmer, G., Wang, Y., Ozaki, L. S., Alves, J. M., Serrano, M. G., Puiu, D., Manque, P., Akiyoshi, D., Mackey, A. J. et al. (2004) The genome of *Cryptosporidium hominis*. *Nature*, 431, 1107–1112.