

Group I intron にみるミドリゾウリムシ 2 大共生藻 “American” と “European” の過去における接触

保科亮¹, 今村信孝²

(¹長浜バイオ大学バイオサイエンス・立命館大学総合理工学研究機構, ²立命館大学理工)

The similar group I introns indicate previous contact between representatives of the
paramecian symbiotic algae “American” and “European”

Ryo HOSHINA¹ and Nobutaka IMAMURA² (¹Nagahama Institute of Bio-Science and Technology,
²Ritsumeikan University)

SUMMARY

Most *Paramecium bursaria* have chlorellacean symbiotic algae. These algae are called either “American” or “European”, depending on their origin. The algae differ genetically from each other at the species-level, and differ from known free-living *Chlorella* spp. We previously identified the insertion patterns of group I intron(s) in the SSU rDNAs of these algae as a method to distinguish them from each other. Here we determine the LSU rDNA sequence of *Chlorella* sp. PBSW1-ZK (“European”) and identify a further IE intron at position L2449 (numbered according to *E. coli* rRNA); this is the first record of an IE intron insertion in this position. We then constructed a phylogenetic tree of the IE introns that are commonly observed in both “American” and “European” rDNAs. The relationships between these introns were extremely peculiar in these analyses. The L2449 “European” intron was grouped together with the S516 position family (most of IE introns found in green algae are limited to this position), even though it does not have a common sequence,

such as the internal guide sequence (IGS), necessary for intron infection via reverse splicing. The other “European” intron (S651) occurred as an independent clade together with all four “American” IE introns, even though they do not have common IGS (except “American” L1926–L2184). These results suggest that there exists an unknown mechanism of intron infection inside the *P. bursaria* cell. The close relation found between the “American” and “European” introns implies that these two algae groups coexist in *P. bursaria* before.

【目的】 ミドリゾウリムシは細胞内に数百の共生藻を持つ。共生藻はミドリゾウリムシの産地によって異なり、米-アジア-オセアニアでは“American”，欧州では“European”と呼称される共生藻が多く、遺伝的には種レベル以上の相違がある¹⁾。双方クロレラ科に所属するが、自由生活を営む既知のクロレラ類とは遺伝的に異なる(よく言われるが *Chlorella vulgaris* と別種である)。著者らは“American”と“European”を識別するひとつの手法として SSU rDNA 中の group I intron (以下 GI) 挿入パターンをあげてきたが²⁾，“American”タイプの GI (Cnc.introns)を解析したところ、きわめて特殊なものであることが判明している³⁾。今回、著者らはドイツ産ミドリゾウリムシ PBSW1 由来の共生藻(“European”)²⁾がもつ LSU rDNA 中の GI を決定、解析をおこなう。

【材料と方法】 神戸大学の洲崎敏伸先生より分与いただいたドイツ産 *Paramecium bursaria* PBSW1 を破碎して得られた共生藻株 *Chlorella* sp. PBSW1-ZK を使用、LSU rDNA を部分決定した。含まれたイントロンの二次構造を決定し、最小進化法による系統樹を構築した。

【結果】 *Chlorella* sp. PBSW1-ZK の LSU rDNA のポジション 2449 (*E. coli* LSU rRNA にもとづく)後に 330 nt の挿入があった。二次構造から、この挿入が subgroup IE に属するイントロンであることがわかり、Csw.L2449 と名づけた。2629 後にも何らかの挿入がみられるが、現在配列決定できていない。本藻では SSU rDNA 中にも IE イントロン挿入がみられ (Csw.S651)²⁾、これらを含めた IE イントロン系統樹を構築した。Csw.S651 は“American”のイントロン (Cnc.S943, -L1688, -L1926, -L2184)とともにクレードを構築し(クレード A)，Csw.L2449 は S516 position family(後述)に埋没した(クレード B)。

【考察】 GI は基本的にはセルフスプライシング能を有し、他ゲノムへの侵入に特化した遺伝因子である。菌類、紅藻、緑色植物に比較的多くみられ、核ゲノムでは rDNA 中にのみみられる。系統樹を構築すると、宿主生物の系統よりも挿入ポジションを共有する GI 同士で近縁性を持つ= position family ができあがる⁴⁾。これは GI が持つ他ゲノムへの侵入のメカニズムと密接に関連している。メカニズムのひとつは homing と呼ばれるもので、イントロン内部に HEG (homing endonuclease gene)遺伝子を持つ。HEG は特定の塩基配列(15-20 nt)を認識してイントロ

ンを挿入するため、感染先の生物でも感染源と同一のポジションに挿入される。もうひとつは reverse splicing と呼ばれるメカニズムで、この場合も感染先で同一ポジションに挿入される。その結果、rDNA 中においても限られた位置にのみ GI 挿入がみられる。しかし、本研究で明らかとなった L2449 への挿入は、IC1 イントロンでわずかに報告があるのみで、IE として初、また S651 への挿入は、本藻のほかにも 1 例が報告されるのみである。実は“American”の持つ IE イントロンも、2 つが新規、1 つが IE として新規のポジションをとる。構築した系統樹は position family の概念を無視したものであり、Csw.L2449 は S516 position family 内に埋没するかたちとなるほか、Csw.S651(およびもうひとつの S651 イントロン)と Cnc.introns が独自のクレードを形成することにおいて、これまでに類のない特殊なものとなっている。

限定的生物群でのみ発見される挿入位置は、その挿入が比較的新しいことを示す⁵⁾とされるが、共生藻の GI はどのようなメカニズムで感染に至ったのであろうか。Csw.introns および Cnc.introns 中に HEG は見当たらない。ではこれらは reverse splicing により感染したものだろうか。実は reverse splicing で絶対的に必要な認識塩基配列(IGS: internal guide sequence)は 4-6 nt と短く、同一 IGS を持つ別ポジションへ転移したケースも報告されている⁶⁾。そこでクレード A、B の IGS 配列を比較してみたところ、クレード A の L2184-L1926 間において共通配列 [CTCTT] がみられたが、他ではみられなかった。

上述の事実を踏まえると、ミドリゾウリムシ細胞内という特殊環境下において、未解明のメカニズムによるイントロン感染がすすんでいる可能性が見えてくる。このメカニズムは感染先の挿入ポジション配列に縛られることがないうえ、Cnc.introns がすべてクレード A に入ることから、あるいはゲノム内における転移も可能にする。生物間のイントロン感染が起こりうる環境としては、たとえば地衣類内部における多種藻類の細胞間接触が提唱されている⁷⁾。ミドリゾウリムシ細胞内はまさに同様の環境であり、クレード A における Csw.S651 と Cnc.introns の関係は、過去にミドリゾウリムシ細胞内で“American”と“European”が共存/競合していた事実を示すものと考えられる。

【文献】

- 1) Hoshina, R. and Imamura, N. (2008) Protist, **159**: 53-63.
- 2) Hoshina, R., Kato, Y., Kamako, S. and Imamura, N.

- (2005) *Plant Biology*, **7**: 526-532.
- 3) Hoshina, R. and Imamura, N. (2008) *Phycol. Res.*, **56**: 21-32.
- 4) Haugen, P., Simon, D. M. and Bhattacharya, D. (2005) *Trends Genet.* **21**: 111-119.
- 5) Bhattacharya, D., Friedl, T. and Helms, G. (2002) *J. Mol. Evol.*, **55**: 74-84.
- 6) Bhattacharya, D., Reeb, V., Simon, D. M. and Lutzoni, F. (2005) *BMC Evol. Biol.*, **5**: 68.
- 7) Bhattacharya, D., Friedl, T. and Damberger, S. (1996) *Mol. Biol. Evol.*, **13**: 978-989.