高等菌類の系統と分子進化†

西田 洋巳, 杉山 純多

(東京大学分子細胞生物学研究所)

はじめに

比較形態学中心であった菌類の系統研究は分子進化学的手法の導入により大きく変わろうとしている。鞭毛菌類と呼ばれる生物群は、原生生物界に属する卵菌類・サカゲツボカビ類と、菌類界に属するツボカビ類に分かれる^(1~3)。よって、下等菌類はツボカビ類と接合菌類で構成されると考えられる。分子レベルでの下等菌類の系統進化研究はスタートしたばかりである。一方、高等菌類は接合菌類様祖先から進化し、子囊菌類と担子菌類の2大系統群に分けられると考えられてきた⁽⁴⁾。その祖先よりどのような進化経路で現在のような体系になったのか、比較的単純な形態と乏しい化石データより明確にはわからなかった。われわれは分子進化学的手法を用いて高等菌類の系統進化を研究している。ここでは、核小サブユニットリボソーム RNA (SSU rRNA), グループ I イントロン, キチン合成遺伝子断片の比較により今までに得られた知見を示す。

1. *Taphrina*, *Protomyces* 両属菌の分子系統学的位置

Taphrina, *Protomyces* 両属はすべての種が植物に寄生し、その特異な形態と生活環を持ち、その進化的位置は菌類学者の注目を引いてきた。Savile⁽⁴⁾ は高等菌類の祖先として“*Prototaphrina*”を仮定し、そこから最初に *Taphrina*, *Protomyces* が分岐してきたと考えた。Cavalier-Smith⁽⁵⁾ は *Taphrina* を下等菌類である接合菌類に入れた。Ainsworth の分類体系によると、*Taphrina*, *Protomyces* は Hemiascomycetes に入れられている⁽⁶⁾。細胞壁, 核 SSU rRNA の比較研究から *Taphrina* は *Schizosaccharomyces* に近く^(7,8)、一方、5S rRNA の子囊菌類内での比較から *Protomyces* は *Schizosaccharo-*

myces に近いと報告されている⁽⁹⁾。われわれはすでに *Taphrina*, *Protomyces* が下等菌類である *Mucor*, *Blastocladiella* から隔てられ高等菌類に属する1つの主要系統群を形成していることを示している⁽¹⁰⁾。これは Cavalier-Smith⁽⁵⁾ が考えている菌類の進化を支持しない。さらにわれわれは *Taphrina* 属基準種ポプラ寄生菌 *Taphrina populina* (CBS 337.55), ジシバリ寄生菌 *Protomyces lactucae-debilis* (IFO 6899), オニタビラコ寄生菌 *Protomyces inouyei* (IFO 6898) の核 SSU rRNA 遺伝子を PCR で増幅し、その塩基配列を直接決定した。

2. 核 SSU rRNA 塩基配列に基づく高等菌類の進化

図1の系統樹によると、われわれが塩基配列を決めてきた菌類^(8,10) (未発表データを含む) と分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe*, カリニ肺炎菌 *Pneumocystis carinii* は1つの主要系統群を形成し、その進化的位置は子囊菌酵母と糸状子囊菌類の系統群が分岐する以前に祖先より分岐していた。そこでわれわれはこの新系統群を“古生子囊菌類 (Archiascomycetes)”と呼ぶことにし、子囊菌酵母と糸状子囊菌類から成り立つ子囊菌類と区別した。*Taphrina*, *Protomyces* 両属菌は菌糸状態で植物に寄生し、子囊を形成し、子嚢胞子を造る。子嚢胞子は子嚢内で出芽し、この出芽可能なもののみが酵母と同様にして人工培養できる⁽¹¹⁾。また、二核相世代が生活環の大半を占め、これは担子菌類の特徴である。*Taphrina*, *Protomyces* 両属菌の子嚢胞子は子囊菌酵母の、菌糸は糸状子囊菌類の原型を残すものと考えられる。純粋培養のできない *Pneumocystis carinii* を除き、“古生子囊菌類”に属する菌類は担子菌類、子囊菌類の性質を合わせ持つことがわかっている。“古生子囊菌類”が子囊菌類と担子菌類を結びつけたことにより、高等菌類の進化上、その祖先から担子菌類、“古生子囊菌類”、子囊菌類の順に分岐したことが明らかとなった。

† Phylogeny and Molecular Evolution among Higher Fungi.

Hiromi NISHIDA and Junta SUGIYAMA (Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, Tokyo 113)

図 1 左 (a) の系統図は CLUSTAL V [D.G.Higgins *et al.*: CABIOS, 8, 189–191 (1992)] により作成され, 分岐点の数字は 1000 回のブーツストラップ処理による値を示し, 長さの基準値は 5% の違いを示す. 右 (b) の系統図は PAUP ver. 3.0 [D.L.Swofford: Illinois Natural History Survey, Champaign (1989)] により作成され, 数字は 100 回のブーツストラップ処理による値を示し, 50% 以上の系統枝のみを示す.

3. *Protomyces* 核 SSU rRNA 遺伝子に含まれたグループ I イントロン

われわれは, *Protomyces inouyei* 核 SSU rRNA 遺伝子に 393 塩基と 340 塩基の 2 つのグループ I イントロン⁽¹⁰⁾, *Protomyces lactucae-debilis* 核 SSU rRNA 遺伝子に 340 塩基のグループ I イントロンが含まれていることを示した. 現在までに核 SSU rRNA 遺伝子にイントロンが発見された例を表 1 に示した. それらのイントロンの構造的関係を図 2 に示した. 図 2 よりある生物と特定の構造を有するグループ I イントロンが対応するのではなく, その挿入位置と構造に相関性が認められる. *Protomyces* 核 SSU rRNA 遺伝子に含まれたグループ I イントロンを比較した結果, グループ I イントロンの

塩基置換頻度は, 核 SSU rRNA の約 8 倍であること, *Protomyces* のグループ I イントロンは, 進化上, *Taphrina* と *Protomyces* が分岐した後に *Protomyces* 属に転移してきたことを明らかにした⁽¹⁰⁾. また, Johansen ら⁽¹²⁾ はグループ I イントロン転移モデルとして原生動物の核大サブユニット rRNA 遺伝子に含まれたイントロンの比較よりわれわれと同様の結論を導いた. “古生子菌類” のなかで近縁である *Taphrina*, *Protomyces* 両属の比較において核 SSU rRNA 遺伝子内におけるグループ I イントロンの有無が有効であり, *Protomyces* に含まれたイントロンの比較は *Protomyces* 属内での進化関係を示すことができる. また, *Protomyces* が寄生する宿主植物の核 SSU rRNA 遺伝子を調べた結果, *Pro-*

表 1 現在までに、核 SSU rRNA 遺伝子内に存在が報告されている
グループ I イントロンの一覧

Group I introns within the nuclear small-subunit rRNA gene		
Species	Position (Length:nt)	Reference
<i>Pneumocystis carinii</i>	1767(390)	(16)
<i>Ustilago maydis</i>	1165(411)	(17)
<i>Protomyces inouyei</i>	1165(340), 1767(393)	(10)
<i>Protomyces lactucae-debilis</i>	1165(340)	Unpublished
<i>Cladonia chlorophaea</i>	1262(217), 1427(226), 1439(228), 1624(212), 1777(210)	(18)
<i>Ankistrodesmus stipitatus</i>	1262(394)	(19)
<i>Dunaliella parva</i>	1165(381), 1773(419)	(20)
<i>Dunaliella salina</i>	1165(397/8)	(20)
<i>Characium saccatum</i>	1773(447)	(20)
<i>Naegleria andersoni</i>	563(1296)	(21)

図 2 菌類と植物(緑藻類)の核小サブユニット、
rRNA 遺伝子内に含まれたグループ I イ
ントロンの比較を近隣結合法を用いて示
す。

tomyces inouyei と *P. lactucae-debilis* にみられた共通
の挿入位置にイントロンの存在は認められなかった。

4. キチン合成遺伝子断片の比較

分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* はキチンを細胞表層に持たないと考えられてきたが、1990 年、Sietsma ら⁽¹³⁾によりわずかながら表層にキチンを持つことが明らかにされ、キチン合成活性も確認された。1992 年、Bowen ら⁽¹⁴⁾によりそのキチン合成遺伝子断片の塩基配列が決定された。*S. pombe* 同様、*Taphrina* もキチンを含まないと考えられてきた⁽⁷⁾。われわれは、Bowen らが使用した PCR プライマーを用いて調べたところ、*Taphrina* と *Protomyces* にも同様のキチン合成遺伝子断片が確認された。しかも *Taphrina* は大きさの異なる 2 つの増幅産物がみられ、*Protomyces* は 1 つの増幅産物がみられた。その塩基配列を決定したところ、*Taphri-*

na における 2 つの増幅産物ともにキチン合成遺伝子断片であることを確認した。接合菌類様祖先より進化してきた高等菌類はキチンを細胞壁の主要成分から外す方向で進化した一群の系統群が存在していると考えられる。しかし、Bowen ら⁽¹⁴⁾の示したところによると、キチン合成遺伝子の本領域が菌類全体の進化を直接反映しているとはいえず、より限定された進化レベルでの比較に有用であると考えられる。現在、“古生子菌類”のキチン合成遺伝子の解析を行っている。

おわりに

単細胞である酵母と生物界最大重量であると報告された担子菌類 *Armillaria bulbosa*⁽¹⁵⁾ が系統的には *Mucor* と *Aspergillus* よりもはるかに近縁であることは信じ難い真実である。菌類の系統進化を考える際に最も重要なことは見かけにだまされず、比較する生物の進化を最も反映した形質を発見することである。分子進化的解析は見かけにだまされることはない。系統関係を知りたい生物種に焦点のあった比較分子種を選ぶことが今後の課題である。

- (1) R. E. Lee and P. Kugrens : *Microbiol. Rev.*, **56**, 529—542 (1992).
- (2) H. Forster, M. D. Coffey, H. Elwood, and M. L. Sogin : *Mycologia*, **82**, 306—312(1990).
- (3) S. Bartnicki-Garcia : in “Evolutionary Biology of the Fungi,” ed. by A. D. M. Rayner, C. M. Brasier, and D. Moore, Cambridge University Press, Cambridge, 1987, pp. 389—403.
- (4) D. B. O. Savile : in “The Fungi, vol. 3,” ed. by G. C. Ainsworth and A. S. Sussman, Academic Press, New York, 1968, pp. 649—

- 675.
- (5) T. Cavalier-Smith : in "Evolutionary Biology of the Fungi," ed. by A. D. M. Rayner, C. M. Brasier, and D. Moore, Cambridge University Press, Cambridge, 1987, pp. 339—353.
- (6) G. C. Ainsworth : in "The Fungi, vol. 4 A," ed. by G. C. Ainsworth, F. K. Sparrow, and A. S. Sussman, Academic Press, New York, 1973, pp. 1—7.
- (7) M. Petit and A. Schneider : *Arch. Microbiol.*, **135**, 141—146 (1983).
- (8) H. Nishida and J. Sugiyama : *Mol. Biol. Evol.*, **10**, 431—436 (1993).
- (9) W. F. Walker : *Syst. Appl. Microbiol.*, **6**, 48—53 (1985).
- (10) H. Nishida, P. A. Blanz, and J. Sugiyama : *J. Mol. Evol.*, **37**, 25—28 (1993).
- (11) C. L. Kramer : in "The Fungi, vol. 4 A," ed. by G. C. Ainsworth, F. K. Sparrow, and A. S. Sussman, Academic Press, New York, 1973, pp. 33—41.
- (12) S. Johansen, T. Johansen, and F. Haugli : *Curr. Genet.*, **22**, 297—304 (1992).
- (13) J. H. Sietsma and J. G. H. Wessels : *J. Gen. Microbiol.*, **136**, 2261—2265 (1990).
- (14) A. R. Bowen, J. L. Chen-Wu, M. Momany, R. Young, P. J. Szaniszlo, and P. W. Robbins : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 519—523 (1992).
- (15) M. L. Smith, J. N. Bruhn, and J. B. Anderson : *Nature*, **356**, 428—431 (1992).
- (16) M. L. Sogin and J. C. Edman : *Nucleic Acids Res.*, **17**, 5349—5359 (1989).
- (17) R. De Wachter, J. M. Neefs, A. Goris, and Y. V. de Peer : *Nucleic Acids Res.*, **20**, 1251—1257 (1992).
- (18) R. T. DePriest and M. D. Been : *J. Mol. Biol.*, **28**, 315—321 (1992).
- (19) J. A. Dávila-Aponte, V. A. R. Huss, M. L. Sogin, and T. R. Cech : *Nucleic Acids Res.*, **19**, 4429—4436 (1991).
- (20) L. W. Wilcox, L. A. Lewis, P. A. Fuerst, and G. L. Floyd : *Mol. Biol. Evol.*, **9**, 1103—1118 (1992).
- (21) J. F. DeJonckheere : *J. Euk. Microbiol.*, **40**, 179—187 (1993).