

令和元年6月21日現在

機関番号：27401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07489

研究課題名(和文)ピコ真核藻類・パルマ藻の分類学的位置

研究課題名(英文)Taxinomic position of the Parmales, pico-eukyriotic marine phytoplankton

研究代表者

一宮 睦雄 (Ichinomiya, Mutsuo)

熊本県立大学・環境共生学部・准教授

研究者番号：30601918

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：パルマ藻はシリカの殻をもつ海洋ピコ真核藻類であり、一時的に黄金色藻綱パルマ目に分類されていた。申請者らは世界で初めて確立したパルマ藻培養株を用いて、分子系統関係の解明および分類体系の再構築を目指した。解析の結果、パルマ藻は無殻鞭毛藻であるボリド藻と同一分類群であることが明らかとなり、パルマ目をボリド藻綱へ移行した。パルマ目を構成する主要なTriparma属5株とTetraparma属3株を用いて系統解析を行った結果、これら2属は異なる系統であることを明らかにした。不明であったパルマ藻の分類学的位置を明らかにし、従来の殻の形態を基にした分類体系を再構築する上で重要な分子系統学的証拠を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、これまで手付かずであったパルマ藻の分類学的位置が確立された。ピコ真核藻類で有殻種と無殻種が混在することを初めて明らかにした。パルマ藻を含むピコ真核藻類は海洋物質循環を担う重要な生物群であることから、パルマ藻各種の全球分布や現存量を明らかにしたことは、海洋微生物生態学分野に大きなインパクトを与えたといえる。さらに、パルマ藻は海洋で最も繁栄している珪藻と共通祖先を持つことから、珪藻の生活史やシリカ形成能の起源を考える上で重要な生物群である。本研究で得られた遺伝子情報は、パルマ藻や珪藻の生活史の進化過程解明やシリカバイオミネラル化機構の理解が進むと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The order Parmales is a group of pico-sized marine phytoplankton species with silicified cell walls. Parmales species are tentatively belonging to class Chrysophyceae, because these algae have never been successfully cultured. In the present study the taxonomic position of the Parmales was established using several novel strains isolated for the first time. The resulting phylogenetic data led us to formally emend the taxonomy of this group to include the Parmales within the Bolidophyceae, which contains non-silicified flagellated species. The 18S rDNA phylogenetic analysis demonstrated that 3 isolates of the genus Tetraparma and 5 isolates of the genus Triparma, which mainly composed of the order Parmales, formed distinct clades. In the present study we also acquired phylogenetic evidence to re-construct the taxonomy of the Parmales, which has been based on only morphological features.

研究分野：生物海洋学

キーワード：パルマ藻 培養株 系統解析 ピコ真核藻類 珪藻

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

パルマ藻はシリカの殻をもつ海洋ピコ真核藻類である。培養株が確立されていなかったため、一時的に不等毛植物門黄金色藻綱パルマ目に分類されていた。申請者らは世界で初めてパルマ藻 *Triparma* 属数種の培養株の確立に成功し、分子系統解析を行った。その結果、無殻鞭毛藻であるポリド藻と同一クレードを形成するとともに、シリカの殻を持つ珪藻と姉妹群となることを明らかにした。パルマ藻とポリド藻は同一分類群の生活環の違いであることを示唆するとともに、パルマ藻は海洋で最も繁栄している珪藻のシリカ形成能獲得の謎を解く鍵となる生物群であることが示された。

そのような状況の中、申請者らは新たに *Tetraparma* 属の培養株の確立に成功した。このことから、これら培養株を用いた詳細な形態観察に基づく形態分類の再検討、ならびに分子系統解析によるパルマ藻、ポリド藻および珪藻との系統関係の精査を行い、パルマ藻の進化系統を反映した分類体系を再構築できるのではないかとこの着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、パルマ藻培養株および現場サンプルを用いて以下2つの研究を行い、パルマ藻の分類学的位置の確定を目指す。

(1) パルマ藻系統樹の作成

不等毛植物門におけるパルマ藻、ポリド藻および珪藻との系統関係を明らかにするため、次世代シーケンサーにより網羅的配列情報を取得し、*Triparma* 属および *Tetraparma* 属の高精度系統再構築を行う。申請者らのグループが既に取得している全ゲノム/トランスクリプトームデータ、更に急速に公共データベース上に蓄積されつつあるポリド藻および珪藻の全ゲノム/トランスクリプトームデータを利用する。

細胞小器官の配列といった微細構造的特徴が珪藻の進化系統を反映している可能性が示唆されていることから、透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察により、分子系統解析とは全く別の視点からパルマ藻の進化系統関係推定を試みる。

(2) パルマ藻分類体系の再構築

現行のパルマ藻分類体系を検証するため、走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察によって、殻の形態的特徴を把握する。材料には自然パルマ藻群集に含まれる各種、また様々な条件下で培養した株の観察から、殻形成可逆性の把握および各種形態種の正当性を検証する。

3. 研究の方法

本研究計画ではパルマ藻培養株を用いて、以下2つの課題に取り組む。

(1) パルマ藻系統関係の解明

- ・既存および新たに分離されたパルマ藻の培養株を用いて RNA-Seq データを用いた次世代系統解析を行い、パルマ藻の進化系統関係を解明する。
- ・培養株を TEM 観察することによって、パルマ藻の細胞内微細構造を明らかにする。

(2) パルマ藻分類体系の再構築

- ・オホーツク海および親潮域で海洋調査を行い、自然パルマ藻群集を用いてパルマ藻の形態的特徴を把握する。
- ・海洋調査の過程で分離されたパルマ藻培養株を用いて、パルマ藻の形態的特徴および形態変異を把握する。

4. 研究成果

(1) パルマ藻の分類学的位置

シリカの殻を持つ *Triparma* 属4株および無殻鞭毛藻の *Bolidomonas* 属11株を用いて系統解析を行った。その結果、*Triparma* 属4株は全てポリド藻綱に位置し、*Bolidomonas* 属と入れ子状となった (図1)。このことは、異なる分類群とされてきたパルマ藻とポリド藻は、同一分類群の生活環の違いであることを示している。これらことから、従来「黄金色藻綱パルマ目」であったものを「ポリド藻綱パルマ目」に移行した。また、*Bolidomonas* 属を廃し、*Triparma* 属とした (Ichinomiya et al. 2016、一宮 & 桑田 2017)。

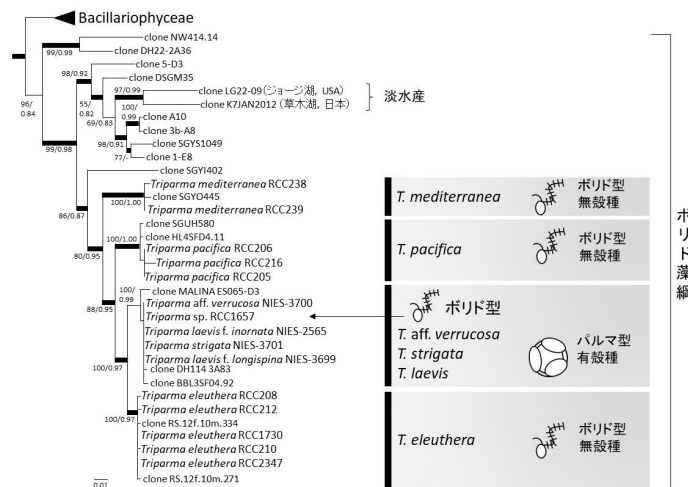


図1 18S rRNAによるポリド藻綱の系統樹。

Triparma retinervis の系統解析

本研究ではオホーツク海に面した能取湖から *Tr. retinervis* の分離に成功し、培養株を用いて SEM 観察および系統解析を行った (図 2A)。SEM 観察の結果、既存の *Triparma* 属有殻種の 4 株は小突起などがあるものの殻表面は平滑であるのに対し、*Tr. retinervis* は殻表面に網目状の模様が見られた。系統解析の結果、*Tr. retinervis* は *Triparma* 属に位置したものの、*Triparma* 属有殻種 4 株とは系統的に異なることが明らかとなった。また、*Triparma* 属有殻種 4 株は無殻種の *Triparma eleuthera* と近縁であったが、*Tr. retinervis* は無殻種の *Triparma pacifica* と近縁であることが明らかとなった。

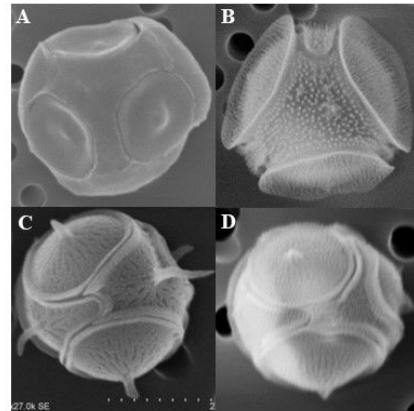


図2. 培養に成功したパルマ藻。A, *Triparma retinervis*; B, *Tetrparma catinifera*; C, *Tetrparma gracilis*; D, *Tetrparma pelagica*

Tetrparma 属の系統解析

本研究ではオホーツク海から *Tetrparma* 属 3 種 (*Tetrparma catinifera*, *Tetrparma gracilis*, *Tetrparma pelagica*) の分離に世界で初めて成功し、培養株を用いて SEM 観察および系統解析を行った (図 2B-D)。SEM 観察、解析を行った。系統解析の結果、*Tetrparma* 属 3 種は同一のクレードに位置し、*Triparma* 属とは異なる系統であることが明らかとなった。一方で、殻の形態が異なることから別種とされていた *Te. catinifera* (図 2B) と *Te. pelagica* (図 2D) はほぼ同種であることが明らかとなった。このことは、従来の殻の形態を基に分類されていたパルマ藻の分類体系を再構築する上で重要な手掛かりとなった。

(2) 高精度系統解析

高精度系統解析を行うため、培養株の確立された *Triparma* 属 4 株および *Tetrparma* 属 2 株の大量培養を行った。RNA-Seq 解析により網羅的に配列情報を取得し、現在ゲノム系統解析 (phylogenomics 解析) に向けたデータを生成中である。

(3) パルマ藻分類体系の再構築

自然パルマ藻群集における有殻種の出現状況や分布を調査するため、北海道周辺海域で調査を行った (図 3)。本海域には 10 タイプのパルマ藻有殻種が分布していた。この内、9 タイプの培養株の隔離に成功しており、本研究によって本邦周辺に出現するパルマ藻のほとんどの種の系統解析に成功したといえる。

パルマ藻現存量は親潮やオホーツク海中冷水などの冷水由来の水塊が分布する海域で高かった。一方、津軽暖流および黒潮などの暖水由来の水塊が分布する海域では低かった。また、親潮域

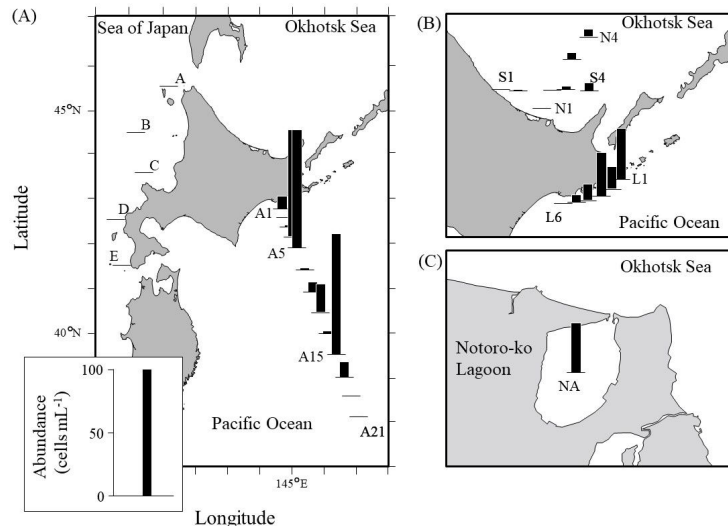


図 3 北海道周辺海域におけるパルマ藻の分布

では *Triparma* 属が、オホーツク海表層には *Tetrparma* 属が優占し、冷水の起源が異なると、パルマ藻の主組成が異なることを示唆した (Ichinomiya et al. 2019)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

Mutsuo Ichinomiya, Kazumasa Yamada, Yoshizumi Nakagawa, Yasuto Nishino, Hiromi Kasai, Akira Kuwata, Parmales abundance and species composition in the waters surrounding Hokkaido, North Japan. *Polar Science*, 査読有, 19 巻, 2018, 130-136
Doi: 10.1016/j.polar.2018.08.001

Kazumasa Yamada, Hirotaka Katsura, Mary-Hélène Noël, Mutsuo Ichinomiya, Akira Kuwata, Shinya Sato, Shinya Yoshikawa, Ontogenetic analysis of siliceous cell wall formation in *Triparma laevis* f. *inornata* (Parmales, Stramenopiles), *Journal of Phycology*, 査読有, 55 巻, 2018, 186-195
DOI: 10.1111/jpy.12800 (Open Access)

Akira Kuwata, Kazumasa Yamada, Mutsuo Ichinomiya, Shinya Yoshikawa, Margot Tragin, Daniel Vaultot, Adriana Lopes dos Santos, Bolidophyceae, a Sister Picoplanktonic Group of Diatoms – A

Review、Frontiers in Marine Science、査読有、2018

Doi: 10.3389/fmars.2018.00370 (Open Access)

一宮睦雄、桑田晃、培養株確立によって明らかとなってきた未知の藻類：パルマ藻、藻類、査読有、65 巻、2017、153-158

http://sourui.org/publications/sorui/list/65_03.html

Kazumasa Yamada、Chikako Nagasato、Taizo Motomura、Mutsuo Ichinomiya、Akira Kuwata、Mitsunobu Kamiya、Kaori Ohki、Shinya Yoshikawa、Mitotic spindle formation in *Triparma laevis* NIES-2565 (Parmales, Heterokontophyta)、Protoplasma、査読有、254 巻、2017、461-471

DOI: 10.1007/s00709-016-0967-x

Naoyuki Tajima、Kenji Saitoh、Shusei Sato、Fumito Maruyama、Mutsuo Ichinomiya、Shinya Yoshikawa、Ken Kurokawa、Hiroyuki Ohta、Satoshi Tabata、Akira Kuwata、Naoki Sato、Sequencing and analysis of the complete organellar genomes of Parmales, a closely related group to Bacillariophyta (diatoms)、Current Genetics、査読有、62 巻、2016、887-896

DOI: 10.1007/s00294-016-0598-y

Kazumasa Yamada、Shinya Yoshikawa、Kaori Ohki、Mutsuo Ichinomiya、Akira Kuwata、Taizo Motomura、Chikako Nagasato、Ultrastructural analysis on the regeneration process of the siliceous cell wall in *Triparma laevis* NIES-2565 (Parmales, Heterokontophyta)、Phycologia、査読有、55 巻、2016、602-609

Mutsuo Ichinomiya、Adriana Lopes dos Santos、Priscillia Gourvil、Shinya Yoshikawa、Mitsunobu Kamiya、Kaori Ohki、Stéphane Audic、Colomban de Vargas、Mary-Hélène Noël、Daniel Vaultot、Akira Kuwata、Diversity and oceanic distribution of the Parmales (Bolidophyceae), a picoplanktonic group closely related to diatoms、The ISME Journal、査読有、10 巻、2016、2419-2434

DOI: 10.1038/ismej.2016.38

DOI: <http://dx.doi.org/10.2216/16-32.1>

[学会発表] (計 5 件)

Shinya Sato、Shinya Yoshikawa、Tamotsu Nagumo、Masahiko Idei、Akira Kuwata、Mutsuo Ichinomiya、Morphology, phylogeny and whole genome sequence of a hitherto undescribed scaly Parmales- a reminiscent of pre-diatom?、25th International Diatom Symposium、2018

Kazumasa Yamada、Yamazaki、Shinya Sato、Shinya Yoshikawa、Akira Kuwata、Mutsuo Ichinomiya、Silicified bolidophytes (Parmales, Bolidophyceae) is not monophyly as evidenced by the phylogenetic characterization of *Triparma retinervis*、11th International Phycological Congress、2017

Shinya Yoshikawa、Shinya Sato、Masashi Yamazaki、Kazumasa Yamada、Mutsuo Ichinomiya、Kenji Saitoh、Nakamura Y、Naoki Sato、Akira Kuwata、Morphological and transcriptome analysis in cell wall formation of *Triparma laevis*、International Conference “Molecular Life of Diatoms”、2017

Akira Kuwata、Mutsuo Ichinomiya、Shinya Yoshikawa、Kazumasa Yamada、Masanobu Kawachi、Mary-Hélène Noël、Kenji Saitoh、Yoji Nakamura、Naoki Sato、Naoyuki Tajima、Ken Sawada、Adriana Lopes dos Santos、Daniel Vaultot、Biology of a picoeukaryotic phytoplankton, Parmales (Bolidophyceae), a sister group of diatoms. International Conference “Molecular Life of Diatoms”、2017

Mutsuo Ichinomiya、Kazumasa Yamada、Yoshizumi Nakagawa、Yasuto Nishino、Akira Kuwata、Abundance and species composition of the Parmales community in the surrounding waters of Hokkaido, western North Pacific、The Seventh Symposium on Polar Science、2016

[図書] (計 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 件)

名称 :

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：佐藤 晋也

ローマ字氏名：Sato Shinya

所属研究機関名：福井県立大学

部局名：海洋生物資源学部

職名：准教授

研究者番号（8桁）：80709163

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：桑田 晃、吉川 伸哉、山田 和正

ローマ字氏名：Akira Kuwata、Shinya Yoshikawa、Kazumasa Yamada

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。