

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：82708

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03724

研究課題名(和文)珪藻姉妹群パルマ藻と原始型中心珪藻の比較生物学による珪藻の起源・繁栄機構の解明

研究課題名(英文)Comparative Biology of Parmales and diatoms to explore the origin and success of diatoms

研究代表者

桑田 晃 (Kuwata, Akira)

国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産資源研究所(塩釜)・主幹研究員

研究者番号：40371794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：珪藻は微細藻類ながら熱帯雨林と同等の炭酸固定を行い、海洋で最も多様かつ重要な一次生産者である。だが珪藻の起源ならびに繁栄に到った過程は依然として不明である。近年我々は、珪藻同様シリカの殻を持つが培養不能であったパルマ藻の培養系構築に世界で初めて成功し、両者が共通祖先を持つとわかって近縁な生物グループであることを明らかにした。本研究では、珪藻の進化と繁栄の鍵を握るパルマ藻と原始的かつ全球的に卓越する中心珪藻を対象にゲノミクス・生理生態学・生物地球化学的解析を実施し、両藻間の詳細な比較により、珪藻の出現から現在の繁栄に到った進化過程の解明を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、珪藻と共通祖先を持つパルマ藻と珪藻類の生物学的理解が深まり、得られた生物情報を相互比較することにより、珪藻類を内側と外側から解析することが初めて可能となり、珪藻の繁栄機構と進化過程の理解に大きな前進をもたらすことが期待できる。また、本研究は、生態学・分子生理学・藻類学・ゲノミクス・生物地球化学分野の様々なエキスパートが一つに集まり、最新の技術を駆使し多面的かつ統合的に解析するという点が大きな特徴であり、このような私たちの共同研究は今後、新しい研究分野の想起・発展を促すことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Diatom is the most diversified and successful microalgal group in modern oceans, fixing about the same amount of carbon dioxide as tropical rainforests. Parmales is a silicified pico-phytoplankton group. Recent our success of isolation of Parmales from the Oyashio water in the Western Subarctic Pacific and characterizing of these isolated strains revealed that Parmales belong to Heterokonta and share a common ancestor with diatoms and may play a key role in understanding their origin and evolutionary success. We have studied on Parmales using ecological, physiological, genomic and biogeochemical approaches and analyzed their genomes, silica cell wall formation process, life cycle and specific biomarkers (molecular fossils) and compared biological characters between Parmales and diatoms.

研究分野：海洋生物学

キーワード：藻類 進化 珪藻 ゲノム パルマ藻 プランクトン 海洋生物学

## 1. 研究開始当初の背景

シリカの殻を持つ珪藻は、海洋生態系における主要一次生産者として、地球全体の20%以上と熱帯雨林に匹敵する炭酸固定を担う。また、種数は推定10万種以上と最も多様性が高く、珪藻は現在海洋で最も繁栄している微細藻類と考えられている。その全球規模における重要性から、その繁栄機構・シリカの殻の形成機構・進化過程の解明等を目指した研究が、近年世界的に盛んとなっている。既にそれらの目的のため、珪藻類の全ゲノムの解読が進められている。しかし、これらの研究は、対象とした珪藻は、モデル生物等で実際の現場の優占種ではなく、また珪藻グループ内での解析に留まっているため、珪藻類がどのように出現し、進化し、現在の卓越に到ったのか？その過程は依然不明である。1999年、分子系統解析により地中海と太平洋亜熱帯域で単離されたポリド藻が珪藻の姉妹群であることが示された。しかし、ポリド藻は珪藻とは全く形態の異なるシリカの殻を持たない微小鞭毛藻であり、珪藻の起源は依然不明のままであった。一方、シリカの殻を持つ微小藻類パルマ藻(2-5 $\mu\text{m}$ )が亜寒帯・極地で約30年前に発見された。しかし、最近に到るまでパルマ藻の培養系を確立することはできず、謎の微細藻として位置付けられていた。そのような状況下で、2009年に我々は、世界で初めてパルマ藻の単離培養に成功し、取得した培養株を対象に電子顕微鏡による形態観察、分子系統解析および光合成色素分析を行った。その結果、パルマ藻は、珪藻の姉妹群であるポリド藻と同じクレードに入ること、すなわちパルマ藻が珪藻と共通の祖先を持つことが示唆された。これはパルマ藻が、珪藻の繁栄機構と進化過程を解明する上で必要不可欠な相互比較対象生物として格好の生物材料であることを意味する。

そこで、生態学・生理学・藻類学・ゲノミクス・生物地球化学のエキスパートが分野を超えて一つのチームを形成し、多面的なアプローチによる未知の藻類：パルマ藻の全貌解明を進めてきた。その結果、我々チームはこれまでにパルマ藻に関し、パルマ藻・ポリド藻・珪藻間の系統関係、パルマ藻・ポリド藻の全球分布、主な生育地である亜寒帯域における個体群維持機構、シリカの殻形成機構、細胞分裂機構、生活史、バイオマーカー(分子化石)の解析、ゲノム解読が進められた。これらの成果は、このアプローチで研究をさらに継続することにより、パルマ藻そして珪藻の進化生物学的理解がさらに大きく発展することが強く示唆された。

## 2. 研究の目的

そこで本研究は、非常に限られた海域に生存しながらも珪藻の進化の鍵を握る珪藻姉妹群のパルマ藻を対象とし、ゲノミクス・生理生態学・生物地球化学的アプローチにより、1.ゲノム解読、2.生活史の解析、3.シリカの殻形成機構の解析、4.分子化石(バイオマーカー)の生物地球化学的解析を行い、生物特性を明らかにする。さらに珪藻(特に原始的な表現型を維持しながら全球規模で卓越している中心珪藻に着目)と明らかとなったパルマ藻の生物特性の相互比較により、珪藻の出現から現在の繁栄にいたる進化の機構を考察する。

## 3. 研究の方法

### (1) ゲノム解読

これまでに単離されたパルマ藻8種の培養株(Triparma属6種とTetraparma属1種、未記載種1種)を培養し、得られた培養試料のゲノム配列を次世代シーケンサー(Illumina HiSeq, Novaseq等)により決定した。次に決定された配列データをバイオフィンフォマティクスにより解析し、それぞれの藻類のゲノム内の遺伝子予測を行い、予測された遺伝子の機能を特定した。

### (2) 生活史の解析

パルマ藻の生活史の解析のため、これまでに取得したゲノムデータを用いた生活史関連遺伝子の探索や倍数性の推定のためSNP(一塩基多型)解析を行なった。

### (3) シリカの殻形成機構の解析

新たに単離された複数のパルマ藻の培養株の電子顕微鏡によるシリカの殻の形態観察およびゲノムデータを用いたシリカの殻形成関連遺伝子の探索を行った。

### (4) 分子化石(バイオマーカー)の生物地球化学的解析

パルマ藻かに特徴的なバイオマーカー成分を明らかにするため、新たに単離された複数のパルマ藻の培養株を培養し、培養サンプルを対象にそれぞれ固有のバイオマーカー成分の検出を有機化学分析により行った。分析は主にガスクロマトグラフィー(GC)、ガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて化合物の検出・同定・定量を行った

#### 4. 研究成果

##### (1) ゲノム解読

パルマ藻 8 種のゲノムのシーケンシングデータの解析の結果、パルマ藻のゲノムサイズは 40 Mb 前後で予測遺伝子数は 15000 前後であった。また、予測遺伝子の機能解析の結果、パルマ藻は珪藻に固有とされていた尿素回路を持つこと、また、Burns et al.(2018) の方法によりパルマ藻は潜在的にファゴサイトーシス(食作用)をする能力を持つこと等が明らかとなった。また、最初に単離された *Triparma laevis* のドラフトゲノムデータについては概要をまとめ国際誌に報告した。

##### (2) 生活史の解析

パルマ藻の生活史は全く不明であったが、これまでにパルマ藻が鞭毛を持つポリド藻に類似したステージを持ち、培養個体群の一部から出現することが明らかとなっている。ゲノムデータを用いた生活史関連遺伝子の探索の結果、パルマ藻は鞭毛装置に関連する遺伝子を持つことが明らかとなり、鞭毛細胞を形成する裏付けとなる証拠が得られた。さらに減数分裂に関連する遺伝子を持つことが明らかとなり有性生殖を行なっていることが示唆された。現在倍数性を推定するため、SNP 解析、フローサイトメータによる各ステージの細胞の DNA 含量の測定を進めている。

##### (3) シリカの殻形成機構の解析

新規に単離された培養株の走査電子顕微鏡による細胞観察により、通常のパルマ藻細胞よりも小型の直径 1-3  $\mu\text{m}$  で数十枚のシリカ製の鱗片で細胞が覆われた細胞の培養株が発見された。分子系統解析の結果、既知のパルマ藻を含むクレードから根元で分岐する新規のパルマ藻類であることが確認され、シリカの殻の構造が全く異なるより原始的なパルマ藻の存在が明らかとなった。ゲノムデータを用いたシリカの殻形成関連遺伝子の探索の結果、ケイ素輸送体(silicon transporter: SIT)の遺伝子、珪藻のケイ素重合に関連するシリカニンに類似する遺伝子を持つことが明らかとなった。

##### (4) 分子化石(バイオマーカー)の生物地球化学的解析

これまでにパルマ藻 *Triparma* 属の 4 種の脂質バイオマーカー成分を検出した結果、パルマ藻のバイオマーカーとして、多不飽和アルケン(C21:6)や、多不飽和脂肪酸、C29 ステロール( $\beta$ -シトステロール)等が検出され、特に  $\beta$ -シトステロールに珪藻との強い関連が見出された。また熱熱成実験の結果、C29 ステロールから C29 ステランが卓越して形成され、この C29 ステランが、中生代の海洋堆積物においてパルマ藻に特徴的なバイオマーカーとなることが示唆された。さらに、新規に単離された *Tetraparma* 属 1 種と先述したシリカ鱗片に囲まれた未記載種の脂質バイオマーカー分析を行なった結果、シリカ鱗片に囲まれた種は、*Triparma* 属と同様のバイオマーカー成分を持つ一方、*Tetraparma* 属 1 種は、珪藻では中心珪藻の初期に出現した種と羽状珪藻の一部の種で見出されている stigmasterol (C<sub>29</sub>)が卓越する特徴が見られた。

##### (5) パルマ藻と珪藻の比較生物学

これまでに得られたパルマ藻と珪藻の生物学的特性を比較解析した結果、パルマ藻と珪藻は不等毛植物門に属し共通祖先を持ち、シリカの殻形成、細胞分裂機構、葉緑体、ミトコンドリアのゲノム構造は、珪藻に比べより原始的な性質を示していることが明らかとなった。さらに、比較ゲノム解析により、パルマ藻は、原始的と見られるファゴサイトーシスの能力を保持しているのに対し、珪藻はファゴサイトーシスの能力を失っていることが示唆された。また、生活史に関連する遺伝子を比較すると、パルマ藻はより原始的な中心珪藻に類似した遺伝子を保持していることが明らかとなった。一方、珪藻は、パルマ藻に比べ多数の栄養塩の輸送体遺伝子を保持しており、卓越した栄養塩取り込み能力によりブルームを形成していることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kuwata Akira, Saitoh Kenji, Nakamura Yoji, Ichinomiya Mutsuo, Sato Naoki	4. 巻 9
2. 論文標題 Draft Whole-Genome Sequence of <i>Triparma laevis</i> f. <i>inornata</i> (Parmales, Bolidophyceae), Isolated from the Oyashio Region, Western North Pacific Ocean	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00367-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ichinomiya Mutsuo, Yamada Kazumasa, Nakagawa Yoshizumi, Nishino Yasuto, Kasai Hiromi, Kuwata Akira	4. 巻 19
2. 論文標題 Parmales abundance and species composition in the waters surrounding Hokkaido, North Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Polar Science	6. 最初と最後の頁 130 ~ 136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.polar.2018.08.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamada Kazumasa, Sato Shinya, Yamazaki Masashi, Yoshikawa Shinya, Kuwata Akira, Ichinomiya Mutsuo	4. 巻 68
2. 論文標題 New clade of silicified bolidophytes that belong to <i>Triparma</i> (Bolidophyceae, Stramenopiles)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Phycological Research	6. 最初と最後の頁 178-182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pre.12413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamada Kazumasa, Katsura Hirotsuka, Noel Mary-Helene, Ichinomiya Mutsuo, Kuwata Akira, Sato Shinya, Yoshikawa Shinya	4. 巻 55
2. 論文標題 Ontogenetic analysis of siliceous cell wall formation in <i>Triparma laevis</i> f. <i>inornata</i> (Parmales, Stramenopiles)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Phycology	6. 最初と最後の頁 196-203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jpy.12800	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kuwata Akira, Yamada Kazumasa, Ichinomiya Mutsuo, Yoshikawa Shinya, Tragin Margot, Vault Daniel, Lopes dos Santos Adriana	4. 巻 5
2. 論文標題 Bolidophyceae, a Sister Picoplanktonic Group of Diatoms ? A Review	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Marine Science	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmars.2018.00370	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 一宮睦雄、桑田 晃	4. 巻 65
2. 論文標題 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	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 藻類: Jpn. J. Phycol.	6. 最初と最後の頁 153 - 158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計29件(うち招待講演 0件/うち国際学会 10件)

1. 発表者名 伴広輝、佐藤晋也、吉川伸哉、山田和正、中村 洋路、一宮睦雄、遠藤寿、Romain Blanc-Mathieu、桑田晃、緒方博之
2. 発表標題 The genome biology of Parmales(Bolidophyceae), a sister group of diatomsThe genome biology of Parmales(Bolidophyceae), a sister group of diatoms
3. 学会等名 Molecular life of diatoms 6 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 沢田健、服部由季、一宮睦雄、桑田晃
2. 発表標題 Lipid biomarker analysis of culture samples of genus Tetraparma of the Parmales (Bolidophyceae)
3. 学会等名 Japan Geoscience Union - American Geophysical Union (JpGU-AGU) 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田和正、佐藤晋也、吉川伸哉、桑田 晃、一宮睦雄
2. 発表標題 パルマ藻と未記載藻スケールパルマ藻の微細構造学的比較
3. 学会等名 2020年日本プランクトン学会・日本ベントス学会 合同大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑田 晃、中村 洋路、斉藤 憲治、伴広輝、緒方博之、佐藤晋也、吉川伸哉、一宮睦雄
2. 発表標題 珪藻の進化・繁栄の謎を握る未知の藻類:パルマ藻のゲノム解析
3. 学会等名 日本藻類学会第44回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 新川裕大、山田和正、吉川伸哉、桑田 晃、一宮睦雄、佐藤晋也
2. 発表標題 新規に分離されたパルマ藻Tetraparma属の分子系統解析
3. 学会等名 日本植物学会 第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑田 晃
2. 発表標題 Biology of a picoeukaryotic phytoplankton, Parmales(Bolidophyceae), a sister group of diatoms.
3. 学会等名 In dialogue with diatoms: Anna Godhe Memorial Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 一宮睦雄、山田和正、中川至純、西野康人、葛西 広海、桑田 晃
2. 発表標題 Parmales abundance and species composition in the waters surrounding Hokkaido, North Japan
3. 学会等名 4th Asian Marine Biology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川伸哉、山田和正、桂大貴、一宮睦雄、桑田晃、佐藤晋也
2. 発表標題 バルマ藻の殻形成に関する形態学的解析
3. 学会等名 日本藻類学会第43回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤晋也、吉川伸哉、山田和正、南雲保、出井雅彦、桑田晃、一宮睦雄
2. 発表標題 Morphology, phylogeny and whole genome sequence of a hitherto undescribed scaly Parmales
3. 学会等名 25th International Diatom Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 桑田 晃、一宮睦雄、吉川伸哉、山田和正、河地正伸、Mary-Helene noel、斉藤 憲治、中村 洋路、沢田健、Adriana Lopes dos Santos、Daniel Vaulot
2. 発表標題 Biology of a picoeukaryotic phytoplankton, Parmales(Bolidophyceae), a sister group of diatoms
3. 学会等名 The IVth International Conference "Molecular Life of Diatoms" (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉川伸哉、佐藤晋也、山崎誠司、山田和正、一宮睦雄、斉藤 憲治、中村 洋路、佐藤直樹、桑田 晃
2. 発表標題 Morphological and transcriptome analysis in cell wall formation of <i>Triparma laevis</i>
3. 学会等名 The 14th International Conference "Molecular Life of Diatoms" (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田和正、山崎誠、佐藤晋也、吉川伸哉、桑田 晃、一宮睦雄
2. 発表標題 Silicified bolidophytes (Parmales, Bolidophyceae) is not monophyly as evidenced by the phylogenetic characterization of <i>Triparma retinervis</i> .
3. 学会等名 第11回国際藻類学会 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 桑田 晃、一宮睦雄、吉川伸哉、Daniel Vaulot、Adriana Lopes dos Santos
2. 発表標題 珪藻の進化・繁栄の謎を握る未知の藻類：パルマ藻の多様性と全球分布
3. 学会等名 日本植物学会第81回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 桑田 晃
2. 発表標題 Biology of a picoeukaryotic phytoplankton, Parmales, a sister group of diatoms
3. 学会等名 JpGU-AGU Joint Meeting 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 Adriana Lopes dos Santos, Akira Kuwata, Wenche Eikrem, Daniel Vaultot
2. 発表標題 Combining culture and metabarcoding for little known phytoplankton groups
3. 学会等名 第11回国際藻類学会 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	沢田 健 (Sawada ken)  (20333594)	北海道大学・理学研究院・教授  (10101)	
研究分担者	吉川 伸哉 (Yoshikawa Shinya)  (20405070)	福井県立大学・海洋生物資源学部・教授  (23401)	
研究分担者	一宮 睦雄 (Ichinomiya Mutsuo)  (30601918)	熊本県立大学・環境共生学部・教授  (27401)	
研究分担者	緒方 博之 (Ogata Hiroyuki)  (70291432)	京都大学・化学研究所・教授  (14301)	
研究分担者	中村 洋路 (Nakamura Yoji)  (90463182)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産資源研究所・主任研究員  (82708)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐藤 直樹  (Sato Naoki)  (40154075)	東京大学・大学院総合文化研究科・名誉教授    (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
フランス	ロスコフ生物研究所(CNRS)			
スウェーデン	ヨーテボリ大学			
スペイン	スペイン海洋科学研究所 (CSIC)			