

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006年 - 2008年
 課題番号：18370032
 研究課題名（和文） 海水湖で固有進化したクラゲ類に共生する藻類も固有進化するのか
 研究課題名（英文） Peculiar Evolution of Endosymbiotic dinoflagellates in Jellyfish inhabiting marine lakes peculiarly speciated
 研究代表者 原 慶明
 （HARA YOSHIAKI）
 山形大学・理学部・教授
 研究者番号：60111358

研究成果の概要：海水湖毎に亜種にまで分化したタコクラゲに共生している渦鞭毛藻類（Symbiodinium spp.）も宿主同様、遺伝的に分化しているかどうかを葉緑体コード遺伝子 psbA ミニサークル DNA の非コード領域を分子マーカーとして集団遺伝学的に調査した。その結果、宿主の分化（亜種）よりもむしろ海水湖毎に固有のハプロタイプ（主要ハプロタイプとそれと 1 ないし 2 塩基異なる派生ハプロタイプ）が存在することが判明した。海水湖の地理的隔離の程度に依存して集団の遺伝的分化が振興していると理解できた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 18 年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
平成 19 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
平成 20 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
総計	8,700,000	2,610,000	11,310,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物多様性・分類

キーワード：海水湖、タコクラゲ、細胞内共生、Symbiodinium、固有進化、地理的隔離、psbA 遺伝子、ミニサークル DNA、

1. 研究開始当初の背景

パラオ共和国ロックアイランド地区のサンゴ礁隆起で形成された群島には 52 の海水湖が存在する。それらは湖でありながら、湖水の塩分濃度が海水のそれに近く、生育する動植物は全て海産または汽水産であり、現存量は外洋と差はないものの、種組成は単純である。これらの海洋生命系は外洋から地理的に隔離され、ほとんどは形態や行動が変異し、固有の進化を遂げているように見えた。しかし、海藻をはじめとする植物生命系の遺伝的変異を調査してみると、形態ほどの変異はなく、湖内外の集団間に大きな遺伝的差異

は確認できなかった。それが実際に固有進化していなかったのか、調査に用いた分子マーカーの分解能の問題なのか、不詳のままであった。そこで、これまでのパラオ海水湖の調査で、5 湖から亜種に分化したタコクラゲ（Dawson & Hamner 2005）を採取していた。それらは細胞内に渦鞭毛藻類を共生させていることは知られており、この藻類を対象に海水湖内の植物生命系の固有進化の形跡を把握できるのではないかと作業仮説を立てそれらの固有進化の形跡追究の研究を開始した。

2. 研究の目的

亜種に分化したタコクラゲの共生藻類の固有進化を検証するために、渦鞭毛藻類特有の葉緑体コード psbA 遺伝子ミニサークル DNA の非コード領域の塩基配列に基づき、パラオの各海水湖、海水湖近傍の外洋、および日本の外洋から採集したタコクラゲに共生している藻類集団の遺伝的多様性を調査した。

3. 研究の方法

分子マーカーとした葉緑体コード psbA 遺伝子ミニサークル DNA の非コード領域を PCR により共生藻を含んだタコクラゲ体から抽出し、挿入・欠失部分を全て取り除いた 422 bp で、系統解析を行った。

4. 研究成果

(1) 調査した9湖全てから、固有のハプロタイプ(主要と派生)が検出され、それらは外洋のハプロタイプとは明らかに異なっていた。

(2) 海水湖の地理的隔離の程度に依存して、海水湖内外、及び僅かであるが、海水湖間で遺伝子交流の形跡が認められた。また、日本の集団は海水湖の内外を問わず、パラオの集団とは10塩基以上の違いが認められた。

(3) 以上の結果から、共生藻類集団は海水湖毎に固有進化していることは、海水湖毎に固有のハプロタイプが出現したことで確認できた。

(4) しかもそれらのいずれも、主要ハプロタイプと派生ハプロタイプで構成されていることから、まさに遺伝的分化が振興していると理解できた。

(5) いくつかの海水湖で、外洋のハプロタイプの混在が認められた。これは海水湖の地理的隔離の程度によるものと解釈できた。

(6) また、湖内固有のハプロタイプのみは海水湖ではそれらが湖外へ流出している形跡を確認した。

(7) パラオ海水湖から共生藻類を未だ取り込んでいないプラヌラ幼生を日本に持ち帰り、成体まで飼育した試料(共生総理保持)を分析した結果、プラヌラ幼生を採取した海水湖のハプロタイプのみが検出された。今後実験、飼育条件を整え、タコクラゲと共生藻類の共生関係が成立する過程の詳細を追究する計画である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計8件)

(1) Muramoto K., Nakata T., Shitara T., Hara Y. and Nozaki H.: Taxonomic re-examination

of the endemic Japanese snow algae *Carteria miwae* (Volvocales, Chlorophyceae), based on molecular phylogeny and cultured material (TEJP-2008-0027). *Eulopian Journal of Phycology*. 印刷中(2009)

査読有り

(2) 松崎令・設楽智文・野崎久義・原慶明、月山に出現する *Chloromonas nivalis* の接合子壁における翼形状の違いとその分類学的意義。山形大学理学部裏磐梯湖沼実験所報

16:11-19、2009 査読なし

(3) Shimonaga T. & Hara Y. Variation in strage -glucan of the Porphyridiales (Rhodophyta).

Plant Cell Physiology 9(1):103105(2008)

査読有り

(4) 横山亜紀子・原慶明 チノリモ目藻類(紅色植物門)における紫外線吸収物質、マイコスポリン様アミノ酸の出現分布と組成、とくにそれらの分類・系統学的意義。山形大学紀要(自然科学)16(4):113-125

(2008) 査読有り

(5) Muramoto K., Kato S., Shitara T., Hara Y. and Nozaki H.: Morphological and genetic variation in the Cosmopolitan snow alga

Chlamydomonas nivalis (Volvocales, Chlorophyta) from Japanese mountainous area. *Cytologia* 73(1):91-96.(2008) 査読

有り

(6) Scott J., Yokoyama A., Billard C., Fresnel J., Hara Y., West K.A. and West J.A. : *Neorhodella cyanea*, a new genus in the Rhodellaphyceae (Rhodophyta). *Phycologia* 47(6):560-572.(2008) 査読

有り

(7) Tanifuji G., Erata M., Ishida k., Onodera N. & Hara Y. Diversity of secondary endosymbiont-derived actin-coding genes

in cryptomonads and their evolutionary implication. J. Plant Res.

119:205-215(2008)

査読有り

(8)原慶明、日本分類学連合 生物の多様性を考える。海洋と生物、184:251-256。査読なし

〔学会発表〕(計21件)

(1)宍戸雄太・藤原俊彦・工藤創・奥泉和也・原慶明。パラオ海水湖産タコクラゲに共生する *Symbiodinium* 属藻類の固有進化機構。日本藻類学会第33回大会、沖縄、2009/3/26

(2)野崎久義・村元京平・仲田崇志・原慶明、日本固有氷雪藻 *Carteria miwae* (緑藻綱・ボルボックス目)の再調査。日本微生物資源学会第8回大会、宮城、2009年3月15日

(3)宍戸雄太・藤原俊彦・工藤創・奥泉和也・原慶明。海水湖に隔離されたタコクラゲの共生藻は固有進化していた。日本植物学会東北支部第21回福島大会、2008年12月15日、福島

(4)成田貴之・工藤創・横山潤・原慶明：パラオ海水湖群に生育するイワツタ属2種の遺伝的分化。日本植物学会東北支部第21回福島大会、2008年12月15日、福島

(5)藤原俊彦・宍戸雄太・工藤創・奥泉和也・原慶明：日本で飼育下したパラオ産タコクラゲ共生藻の由来を探る。日本植物学会東北支部第21回福島大会、2008年12月15日、福島

(6)Kushibinki A., Yokoyama A., Nagasato C., Motomura T. and Hara Y.:Phylogenetic and evolutionary significance of cell division in the Rhodophyceae. 5th Asian Pacific Phycological Forum 2008/11/10-14, Wellington, New Zealand.

(7)Shitara T., Takahira H., Hasei M. and Hara Y.:Taxonomy and phylogeny of *Ochromonas smithii* and *O. itoi*, the dominant algae inhabiting yellow snow in

Japan. 5th Asian Pacific Phycological Forum 2008/11/10-14, Wellington, New Zealand.

(8)Takahira H., Oe S., Shitara T., Kato S. and Hara Y.:Classification of freshwater raphidophyceans based on ultrastructure and phylogenetic relationship. 5th Asian Pacific Phycological Forum 2008/11/10-14, Wellington, New Zealand.

(9)Sato T., Nagasato C., Hara Y. and Motomura T.:Ultrastructure of nuclear and nucleomorph divisions and analysis on the cell cycle in *Pyrenomonas helgolandii*(Cryptophyta). 5th Asian Pacific Phycological Forum 2008/11/10-14, Wellington, New Zealand.

(10)佐藤友則・長里千香子・原慶明・本村泰三。クリプト藻 *Pyrenomonas helgolandii* におけるヌクレオモルフ分裂及びその分裂周期の解析。日本植物学会72回大会 2008年9月26日、高知。

(11)宍戸雄太、藤原俊彦・工藤創・原慶明：種分化した海水湖産タコクラゲにの共生する *Symbiodinium* 属藻類の遺伝的多様性と系統解析。日本植物学会72回大会 2008年9月26日、高知。

(12)設楽智文・高平花絵・長谷井稔・菓子野康浩・原慶明。日本産雪上藻類 *Ochromonas smithii* と *O. itoi* の寒冷適応特性と系統。日本植物学会72回大会 2008年9月26日、高知。

(13)平原知香・下永高弘・藤原祥子・藤田直子・横山亜紀子・原慶明・中村保典・都築幹夫。原子紅藻の *Porphyridium* における貯蔵多糖の構造とその結合性合成酵素の性質。日本植物学会72回大会 2008年9月25日、高知。

(14)原慶明：招待講演 日本電子顕微鏡学会シンポジウム、2008年5月1日、京都

(15)原慶明・設楽智文・鈴木明子・菓子野康

浩・佐藤和彦：寒冷適応した *Ochromonas smithii* と *O. itoi* の光合成特性。日本藻類学会 32 回大会、2008 年 3 月 25 日、東京

(16) 長谷井稔・原慶明：オオイシソウモドキ *Compsopogonosis japonica* Chihara の新産地と生態。日本藻類学会 32 回大会、2008 年 3 月 25 日、東京

(17) 穴戸雄太・工藤創・原慶明：パラオ海水湖のタコクラゲに共生する *Symbiodinium* 属藻類の多様性 2。日本藻類学会 32 回大会、2008 年 3 月 25 日、東京

(18) 村元京平・仲田崇志・設楽智文・原慶明・野崎久義：日本固有氷雪藻 *Culteria miwae* (緑藻綱・ボルボックス目) の分類学的再検討。日本藻類学会 32 回大会、2008 年 3 月 24 日、東京

(19) 横山亜紀子・原慶明、有孔虫に共生する単細胞性紅藻の生理生態的特徴および分類学的考察。日本藻類学会第 51 回大会、神戸、2007/3/26

(20) Yokoyama A. & Hara Y., Taxonomy and phylogenetic relationship of Porphyridium and red algal endosymbionts of foraminifera. International Symposium of Marine algae and Global Warming, Seoul, Korea, 2006.9/20

(21) Scott J., Yokoyama A., Hara Y., Billard C., Fresnel J & West J., Ultrastructural and molecular investigations of vegetative and dividing cells in the red algal unicell *Neorhodella cyanea* com.nov. International Symposium of Marine algae and Global Warming, Seoul, Korea, 2006.9/20

〔図書〕(計 4 件)

(1) 原慶明、西田睦編、海洋生命系ダイナミクスシリーズ、第 1 巻 海洋の生命史

東海大出版、東京、2009 印刷中

(2) 原慶明他 植物の百科事典、552 pp、

朝倉書店、東京、2009

(3) 原慶明、植物から見える共生と進化。仙道富士郎編「森と山と日本人」NTT 出版、228 - 248 頁、2008

(4) 原慶明他、レーガン/ジョンソン著 生物学(上) 519pp、培風館、東京、2006 (翻訳)

6. 研究組織

(1) 研究代表者 原慶明 (Hara Yoshiaki)
山形大学・理学部・教授
研究者番号：60111358

(2) 研究分担者 横山潤 (Yokoyama Jun)
山形大学・理学部・教授
研究者番号：80272011