

平成 22 年 6 月 14 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20770062

研究課題名（和文） 原生生物有中心粒太陽虫のEST解析

研究課題名（英文）

EST analysis of the centroheliozoan *Raphidiophrys contractilis*

研究代表者

坂口 美亜子（SAKAGUCHI MIAKO）

長崎大学・熱帯医学研究所・助教

研究者番号：50400651

研究成果の概要（和文）：

*Raphidiophrys contractilis*のcDNAライブラリを用いたパイロシーケンスによるランダムなクローニングの遺伝子配列決定を行った。これらのうち、127遺伝子配列によるデータセットを用いて分子系統解析を行った結果、*R. contractilis*は*Telonema subtilis*やcryptomonad、haptophyteと共に単系統を形成した。また、この単系統グループはStramenopiles、Alveolates、Rhizariaと姉妹群となることが示された。以上の解析の結果から、有中心粒太陽虫はchromalveolateスーパーグループに近縁性を持つことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Phylogenetic analyses of 127 genes from 72 species indicated that centroheliozoan *Raphidiophrys contractilis* form a monophyletic clade with *Telonema subtilis*, cryptomonad, and haptophyte. Furthermore, the analyses also showed that this group is closely related to Stramenopiles, Alveolates, and Rhizaria, and *R. contractilis* is closely related in the supergroup of chromalveolate.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：分子系統、原生生物、太陽虫、最尤法、分子進化

1. 研究開始当初の背景

現在までに、形態情報に加えて遺伝子配列を

用いた分子系統解析、遺伝子重複や融合、インサージョンなどの分子情報を基にして真

核生物の生物グループの系統関係が明らかになりつつある。真核生物はそれぞれの生物グループの近縁性から6つのスーパーグループに分けることができると考えられているが、真核生物の中にはどのスーパーグループに所属するのか不明な生物グループが存在する。有中心粒太陽虫はそのような生物グループのひとつであり、形態的な特徴から他の太陽虫グループや放散虫、アメーバなどと共に肉質虫類に含まれている。近年の分子系統解析の結果から、これら肉質虫類の生物グループが複数のスーパーグループに分類されることが明らかとなったが、有中心粒太陽虫はその培養の困難さから分子データが乏しく、分子系統解析による系統的位置の探求がほとんどなされておらず、他の生物グループとの近縁性は不明なままであった。

2. 研究の目的

真核生物全体の進化過程を考える上で、それぞれの生物グループの近縁性を明らかにし、スーパーグループがどのように分岐していったのかを探るのは極めて重要なことである。不足している生物グループの分子データを加えることによってさらに真核生物全体の情報量を増やすことで、得られた分子系統解析の結果をより強固なものにし、信頼性を高めることができると考えられる。所属不明な生物グループのひとつである有中心粒太陽虫は、形態情報からアメーボゾアと近縁であるとされていたが、アメーボゾアはオピストコンタと共に真核生物の祖先的生物グループである可能性が示唆されている。有中心粒太陽虫はアメーボゾア及びオピストコンタ以外の生物グループの中で、初期に分岐した可能性が示唆されているが、まだ明確な結果は得られていなかった。そこで有中心粒太陽虫の一種、*Raphidiophrys contractilis* を

用いて、有中心粒太陽虫と他の真核生物グループとの系統関係を明らかにし、真核生物における系統的位置を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) *R. contractilis* の cDNA ライブラリを用いて網羅的なパイロシーケンスを行い、ランダムなクローンの遺伝子配列決定を行った。

(2) 遺伝子データベースに登録されているさまざまな生物グループの既知の遺伝子配列とパイロシーケンスから得られた遺伝子配列結果を用いてアラインメントを行い、大規模なデータセットを作成した。そして、生物種間の進化速度に極端な相違がある場合にも頑健な推定を与えるとされる最尤法を用いた分子系統解析を行い、系統樹を推定した。その際、各遺伝子の分子進化の過程において座位間の進化速度の相違を考慮した rate across site モデルを使用し、long branch attraction など予想されるアーティファクトを最小限にとどめるようにした。

(3) また、最尤系統樹の探索する際に使用するモデルとして、生物種毎に各遺伝子配列を連結させた状態で最尤系統樹を導き出す concatenate モデルと、それぞれの分子種毎に対数尤度を推定し、その和が最大となるような系統樹を選択する separate モデルを用いて解析し、有中心粒太陽虫が真核生物においてどのような系統的位置を示すのか検討を行った。

(4) さらに、得られた最尤系統樹で示された有中心粒太陽虫の系統的位置に対し、他の系統的位置の可能性を調べるため、approximately unbiased テストによる検定を行った。

4. 研究成果

(1) まず、*R. contractilis* の cDNA ライブラリからパイロシーケンスによる配列決定を行った結果、平均 232bp の 363,490 の遺伝子配列が得られ、そのうち 327,570 配列から 30,120 のコンティグを作成することができた。

(2) 得られた遺伝子配列から 127 遺伝子配列によるデータセットを用いてまず concatenate モデルによる分子系統解析を行った。その結果、*R. contractilis* は *Telonema subtilis*、そしてスーパーグループのひとつである chromalveolate に含まれる cryptomonad や haptophyte と共に ML ブートストラップ値 70% で単系統を形成することが明らかとなった。さらに、この単系統グループは chromalveolate に含まれる Stramenopiles や Alveolates、そして Rhizaria (SAR グループ) と ML ブートストラップ値 65% で姉妹群となることが分かった。

(3) 次に、87 遺伝子配列によるデータセットを用いて separate モデルによる分子系統解析を行った。その結果、concatenate モデルによる解析結果と同様に *T. subtilis*、そして chromalveolate に含まれる cryptomonad や haptophyte と共に RELL ブートストラップ値 69% で単系統を形成することが明らかとなった。また concatenate モデルの場合と同様に、この単系統グループは SAR グループと RELL ブートストラップ値 92% で姉妹群となることが示された。

(4) 最後に、上記で示された最尤系統樹における有中心粒太陽虫の系統的位置に対し他の系統的位置の可能性があるかどうかを調べるために、各候補となるトポロジーを最尤系統樹とそれぞれ比較し approximately unbiased テストによる検定を行った。その結果、比較検討された 351 トポロジーのうち 19

トポロジーが有意水準 5% で棄却されず、さらにこのうち 18 トポロジーに最尤系統樹で単系統グループとして示された *R. contractilis*、*Telonema subtilis*、cryptomonad、haptophyte、Stramenopiles、Alveolates、Rhizaria が含まれており、これらの生物グループが互いに高い近縁性を持つことが分かった。

以上の解析の結果、これまで真核生物において所属不明とされていた有中心粒太陽虫は、cryptomonad や haptophyte、Stramenopiles、そして Alveolates を含む chromalveolate スーパーグループに近縁性を持つことが示唆された。

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 3 件)

① Sakaguchi M, Takishita K, Matsumoto T, Hashimoto T, Inagaki Y: Tracing back EFL gene evolution in the cryptomonads-haptophytes assemblage: Separate origins of EFL genes in haptophytes, photosynthetic cryptomonads, and goniomonads. *Gene* 441(1-2): 126-131, 2009 査読有

② Inagaki Y, Nakajima Y, Sato M, Sakaguchi M, Hashimoto T: Gene sampling can bias multi-gene phylogenetic inferences: the relationship between red algae and green plants as a case study. *Mol Biol Evol* 26 (5): 1171-1178, 2009 査読有

③ Burki F, Inagaki Y, Bråte J, Archibald JM, Keeling PJ, Cavalier-Smith T, Sakaguchi M, Hashimoto T, Horak A, Kumar S, Klaveness D, Jakobsen K, Pawlowski J, Shalchian-Tabrizi K. Large-scale phylogenomic analyses reveal that two enigmatic protist lineages, *Telonemia* and *Centrohelioczoa*, are related to photosynthetic chromalveolates. *Genome Biol Evol* 1: 231-238, 2009 査読有

〔学会発表〕（計 2 件）

①稲垣祐司, Fabien Burki, Jon Brate, John Archibald, Patrick Keeling, Thomas Cavalier-Smith, 坂口美亜子, 橋本哲男, Ales Horak, Dag Klaveness, Kjetill Jakobsen, Jan Pawlowski, Kamran Shalchian-Tablizi: 遺伝子データ解析によるテロネマ類と有中心粒太陽虫の系統的位罫. 日本進化原生生物研究会. 2009 年 7 月 5 日, 仙台市・宮城教育大学

②M. Sakaguchi, K. Takishita, T. Matsumoto, T. Hashimoto, Y. Inagaki: Updating the distribution of elongation factor-like genes in eukaryotes. International society for evolutionary protistology. 2008 年 7 月 23 日, カナダ・ハリファックス大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂口 美亜子 (SAKAGUCHI MIAKO)

長崎大学・熱帯医学研究所・助教

研究者番号：50400651

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし