

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21780191

研究課題名（和文）有毒渦鞭毛藻ディノフィシスが捕食する繊毛虫およびその餌料生物の多様性と分子系統

研究課題名（英文）Genetic diversity and phylogenetic relationship of ciliates and its algal prey ingested by toxic dinoflagellate *Dinophysis* spp.

研究代表者

西谷 豪（NISHITANI GOH）

東北大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：70450781

研究成果の概要（和文）：本研究では、養殖二枚貝類に下痢性貝毒を引き起こす原因生物である海洋性植物プランクトンのディノフィシス属を主な研究対象とした。成果として、主要なディノフィシス属が現場海域で捕食する繊毛虫はミリオネクタと呼ばれるものであり、そのミリオネクタはある特定のクリプト藻種を選択的に捕食していることが判明した。また、ディノフィシスの中には 100 種類以上を超える葉緑体を細胞内に保持している種も存在し、ディノフィシスが複雑な海洋生態系の中で果たしている役割の一端を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：This study showed the ecological relationship among *Dinophysis*, ciliate, and cryptophyte in Japanese coastal areas. Many *Dinophysis* species ingested the ciliate *Myrionecta rubra*, and further the ciliate preferentially ingested the cryptophyte *Teleaulax amphioxeia*. We also revealed that *Dinophysis mitra* retained more than 100 kinds of plastids robbed from algal prey.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：水産学

科研費の分科・細目：水産学一般

キーワード：下痢性貝毒・プランクトン・生態

1. 研究開始当初の背景

下痢性貝毒とは、食物連鎖を通じて毒化した二枚貝を人間が摂食した場合に起こり、人に下痢・嘔吐・吐き気・腹痛等の症状を伴う消化器系障害を引き起こす症状のことである。この下痢性貝毒の生産者は、海産植物プランクトンである渦鞭毛藻 *Dinophysis* 属であり、これらの渦鞭毛藻を餌とするホタテガイ

などに大量の毒が蓄積する。しかしながら原因生物である *Dinophysis* 属の生理・生態に関しては未だ不明な点が多く残されている。

2. 研究の目的

本研究では *Dinophysis* 属が餌にしている繊毛虫、さらにその繊毛虫が餌にしているクリプト藻との 3 者間の関連性を明らかにするこ

とを主な目的とし、調査研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 繊毛虫の餌料生物：日本沿岸複数地点から繊毛虫を多数単離し、遺伝子解析によりその餌料生物を検出した。

(2) *Dinophysis* 属の葉緑体起源：日本沿岸数カ所から *Dinophysis* 属を多数単離し、どのようなクリプト藻種の葉緑体が検出されるかを調査した。

(3) *Dinophysis* 属の餌料生物の探索：
Dinophysis 属が現場海域においてどの繊毛虫を摂食しているかを遺伝子解析により探索した。

4. 研究成果

(1) 日本沿岸計7海域（北海道能取湖，北海道噴火湾，青森県陸奥湾，兵庫県播磨灘，広島県広島湾，大分県猪串湾，熊本県八代海）から繊毛虫 *Myrionecta rubra* を134細胞単離した。これら全ての細胞からDNAを抽出し、配列を調べた結果，*M. rubra* 細胞から検出された配列のほとんどがクリプト藻 *Teleaulax amphioxeia* のものであり，この結果は現場海水中の *M. rubra* が数あるクリプト藻種の中でも特に *T. amphioxeia* を餌料として選択的あるいは優先的に摂食していることを示唆している。この成果により，現場における *Dinophysis* 属，その餌料である繊毛虫 *M. rubra*，さらにその餌料であるクリプト藻 *T. amphioxeia* を含む複雑な生態の一端が初めて明らかにされた。これらは *Dinophysis* 属の発生予測に貢献するものであり，ひいては下痢性貝毒の発生予測にも繋がる成果である。

(2) *Dinophysis* 属細胞から得た配列もまた *T. amphioxeia* のものがほとんどであり，*Dinophysis* 属の葉緑体がほぼ単一のクリプト藻種に由来することを明らかにした。しかし例外として，北海道噴火湾から単離した *Dinophysis* 属からは，*T. amphioxeia* とは異なる未知のクリプト藻配列が検出された。海域によっては（特に北方海域では），複数のクリプト藻種が *M. rubra* の餌料および *Dinophysis* 属の葉緑体起源になっていることも考えられる。

国内から採取した *Dinophysis mitra* 細胞の解析を詳細に行った。本藻の葉緑体DNAを解析した結果、ハプト藻・ディクティオカ藻・ペラゴ藻・珪藻・プラシノ藻など多分類群にわたる計123種類の配列が検出された。また、*D. mitra* の餌料であると推察した葉緑体を保持する繊毛虫の1種である *Spirotonion grandis* の葉緑体DNAも同様に解析した。その結果、上記で得た *D. mitra* が

持つ葉緑体と類似した構成であることが明らかとなった。興味深いことに、繊毛虫の細胞内に残されていた葉緑体は、プラシノ藻などの緑藻起源の微細藻類よりもハプト藻などの紅藻を起源とする微細藻類が大半を占めていた。今後は *D. mitra* に上記のような繊毛虫を餌料として培養実験を行い、*D. mitra* の餌料生物を特定する必要がある。

(3) 有毒渦鞭毛藻 *Dinophysis mitra* の餌料生物の探索を試みた。青森県陸奥湾より、何らかの餌料生物を摂食した直後であると思われる *D. mitra* 細胞を現場隣接の実験室内で単離し、即座に全DNAを抽出した。この抽出物中には本体である *D. mitra* のDNA以外にも餌料生物のDNAが含まれているはずであり、18S rDNAをターゲットにしたユニバーサルプライマーにてPCR増幅とクローニングを行った。また、同様にして広島県広島湾より単離した *Dinophysis acuminata*, *Dinophysis fortii* についても餌料生物の解明を試みた。まず *D. mitra* の結果であるが、クローニングにより得た277配列のうち181配列は *D. mitra* 本体のものであったが、残りの96配列は他生物のものであった。それらは繊毛虫・鞭毛虫・黄金色藻・珪藻など多岐の分類群にわたるものであった。*D. mitra* がこれら全てを餌料にしているのか、あるいは媒介者の存在があるのかどうかは今後の課題であろう。*D. acuminata* と *D. fortii* の細胞内からは、他生物のDNAとして繊毛虫の *Myrionecta rubra* のDNAのみが検出された。この結果は上記2種が現場海域において特定の繊毛虫を選択的に摂食している可能性を示唆している。

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 6 件)

- ① Nishitani G, Nagai S, Hayakawa S, Kosaka Y, Sakurada K, Kamiyama T, Gojyobori T. (2012) Multiple plastids collected by the dinoflagellate *Dinophysis mitra* through kleptoplastidy. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 813-821. 査読有
- ② Matsuyama Y, Nishitani G, Nagai S. (2010) Direct detection of harmful algae from the oyster spat and live fish transporting trailers. *Proceedings of 13th International Conference on Harmful Algae*, 185-189. 査読有
- ③ Nishitani G, Nagai S, Baba K, Kiyokawa S, Kosaka Y, Miyamura K, Nishikawa T, Sakurada K, Shinada A, Kamiyama T. (2010) Genetic analyses of the cryptomonad nucleomorph in natural *Myrionecta rubra* cells reveal a simple lineage of *Dinophysis kleptoplastids*. *Proceedings of 13th International Conference on Harmful Algae*, 175-179. 査読有
- ④ Nagai S, Nishitani G, Sakamoto S, Sugaya T, Lee CK, Kim CH, Itakura S, Yamaguchi M. (2010) Genetic structuring and gene flow of marine dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* in Japanese and Korean coastal waters revealed by microsatellites. *Proceedings of 13th International Conference on Harmful Algae*, 171-174. 査読有
- ⑤ Genovesi B, Nishitani G, Wang J, Masseret E, Grzebyk D, Berrebi P, Nagai S. (2010) Genetic structure of Asian geographic populations in *Alexandrium catenella* (Dinophyceae): a study using microsatellite markers. *Proceedings of 13th International Conference on Harmful Algae*, 161-165. 査読有
- ⑥ Nishitani G, Nagai S, Baba K, Kiyokawa S, Kosaka Y, Miyamura K, Nishikawa T, Sakurada K, Shinada A, Kamiyama T (2010) High-level congruence of *Myrionecta rubra* prey and *Dinophysis* species plastid identities as revealed by genetic analyses of isolates from Japanese coastal waters. *Applied and Environmental Microbiology* 76, 2791-2798. 査読有

[学会発表] (計 9 件)

- ① 山田雄一郎 西谷 豪 気仙沼・舞根湾における生物環境調査-3 プランクトンの現況 平成 24 年度日本水産学会春季大会 2012 年 3 月 26 日～30 日 東京海洋大学
- ② 阿部博和 西谷 豪 女川湾に出現する多毛類浮遊幼生の同定と季節変動 平成 24 年度日本水産学会春季大会 2012 年 3 月 26 日～30 日 東京海洋大学
- ③ 遠藤宜成 西谷 豪 オキアミ類に付着する繊毛虫の分類学的研究 2012 年度日本海洋学会春季大会 2012 年 3 月 26 日～30 日 茨城県つくば市
- ④ 西谷 豪 海洋プランクトン 森は海の恋人シンポジウム「海と共に生きる」 2011 年 12 月 21 日 仙台市民会館
- ⑤ 阿部博和 西谷 豪 形態及び分子生物学的手法を用いた多毛類浮遊幼生の同定の試み 2011 年度日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会 2011 年 9 月 16 日～19 日 高知大学
- ⑥ 西谷 豪 海産繊毛虫 *Spirotontonia grandis* から検出された葉緑体配列の遺伝的多様性 日本藻類学会第 35 回大会 2011 年 3 月 27 日 富山県富山市
- ⑦ 神山孝史 西谷 豪 有毒渦鞭毛藻 *Dinophysis tripos* の増殖特性と毒生産 平成 22 年度日本水産学会秋季大会 2010 年 9 月 22 日～25 日 京都府京都市
- ⑧ 西谷 豪 渦鞭毛藻 *Dinophysis mitra* 1 細胞から検出した葉緑体遺伝子配列の多様性 平成 21 年度日本水産学会秋季大会 2009 年 9 月 30 日～10 月 3 日 岩手県盛岡市
- ⑨ 神山孝史 西谷 豪 夏季石巻湾における下痢性貝毒原因種 *Dinophysis* 属と繊毛虫類の出現変動の関係 平成 21 年度日本水産学会秋季大会 2009 年 9 月 30 日～10 月 3 日 岩手県盛岡市

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西谷 豪 (NISHITANI GOH)
東北大学・大学院農学研究科・助教
研究者番号：70450781