

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18594

研究課題名(和文) 有用天然化合物を産する海綿動物とその共生微生物の多様性解明と分類学的基盤の確立

研究課題名(英文) Systematic study of sponges of the family Theonellidae (Desmospongiae, Tetractinellida) and diversity of its symbiotic bacteria Enthotheonalla

研究代表者

伊勢 優史 (Ise, Yuji)

名古屋大学・理学研究科・特任助教

研究者番号：20535108

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：日本産Theonellidae科カイメン類の既知種の分類学的再検討、日本新記録種および未記載種の発見、記載、Theonellidae科カイメン類の分子系統解析を行った。その結果、これまで3属9種が知られていた日本産Theonellidae科は、少なくとも3属20種からなることが判明した。有用天然化合物研究で多く用いられてきたTheonella swinhoeiは、少なくとも3種からなるカイメンであった。

Theonellidae科カイメン類の分子系統解析やDNAバーコーディングにおいて、ミトコンドリアのCO1遺伝子や細胞核のITS領域は不適であることがわかった。

研究成果の概要(英文)： Systematic study of Japanese sponges of the family Theonellidae (Desmospongiae, Tetractinellida) has been conducted. The study involved revision of known Japanese species, discovery and description of undescribed species and new records from Japan, and molecular phylogeny and DNA barcoding of theonellid sponges.

We revealed that Japanese theonellid sponges consist of 20 species of 3 genera that was drastically increased from 9 species and 3 genera until this study. Theonella swinhoei frequently used for natural product chemistry was revealed to be species complex, harbors at least three species.

Sequences of mitochondrial CO1 (cytochrome oxidase subunit 1) and nuclear ITS (internal transcribed spacer) region are improper for DNA barcoding of theonellid sponges. The latter can't be used for molecular phylogenetic study because of its intragenomic variation.

研究分野：海洋生物学

キーワード：海綿動物

1. 研究開始当初の背景

海綿動物はその共生微生物が産する天然化合物の宝庫であり、有用な活性を示すものは研究試薬や医薬品として応用利用されている。一方、本邦周辺海域における海綿動物相は未だほとんどわかっておらず、海綿動物の分類学的基盤の整備は関連する多くの応用研究にとって早急の課題である。

2. 研究の目的

本研究では、海綿動物の中でも最も多様な二次代謝産物をもつ Theonellidae 科(尋常海綿綱, 有星海綿目)に注目し、日本産全種の解明、分類体系の再構築を目的とし、天然化合物を産する共生微生物 *Entotheonella* と宿主であるカイメンとの共生関係の進化やその起源についての推定も行う。これらの研究を通してカイメンとその共生微生物、および二次代謝産物研究に向けての堅固な基盤を整備する

3. 研究の方法

本研究では、Theonellidae 科カイメン類のうち特に日本産の種の全容解明を目指し、詳細な形態情報、生態情報、カイメンと共生微生物の各種遺伝子の塩基配列情報を統合して包括的に研究を進めていく。特に分類学的手法に力を入れ、既知種のタイプ標本の観察を行い、タイプ産地での新たな標本採集を行うことで遺伝情報の取得も目指す。また複数個体を解析することで形態情報と遺伝情報の変異も含めた各種の実体を明らかにする。この手法を発見が確実な日本新記録種や未記載種についても適用する。それら形態および生態情報を得た同一標本を用いた全種の分子系統解析から属間や種間関係を解明し、分類体系の再検討に繋げる。

4. 研究成果

(1) 日本産既知種の分類学的再検討

日本産既知 9 種のうち、国立科学博物館に収蔵されている 4 種分のタイプ標本と他 4 種分の登録標本について精査を行った。この結果、*Discodermia jogashima* は *Discodermia japonica* のシノニムである可能性が示唆された。また、過去の研究者により *Discodermia emarginata* とされたカイメンは誤同定であると考えられる。天然化合物研究で多く用いられており、これまで *Theonella swinhoei* とされていたカイメンは、少なくとも 3 種からなる可能性が高いことが判明した。うち 1 種は未記載種の可能性が高く、3 種全て *T. swinhoei* ではなかった。一方、*T. swinhoei* と同定されるカイメンが新たに採集された (Takada *et al.*, 2016)。1 属 1 種でこれまで 1 個体しか採集されていない *Siliquariaspongia japonica* については、追加標本を得ることが出来なかった。

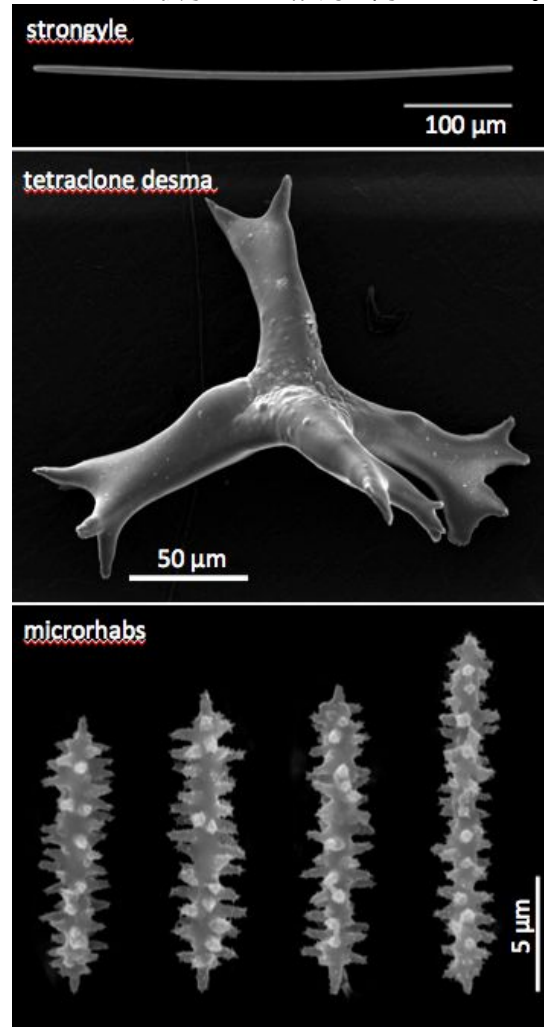
(2) 日本新記録種や未記載種の発見・記載

主に沖縄の浅海域や海底洞窟に棲息する種について形態的特徴と分子遺伝情報の取得を行った。この結果、新たに *Theonella* 属 7 種、*Discodermia* 属 2 種が見つかった。これ

らはいずれも未記載種と考えられる。また、属不明種が 3 種見つかった。属不明種は、*Siliquariaspongia* 属の可能性もあるが、*S. japmica* の遺伝情報を得ることが出来ていないため確定できていない。

(3) *Theonella swinhoei* の分類学的再検討

これまで、天然化合物研究や共生微生物研究における重要種として *Theonella swinhoei* と同定されてきたカイメンは、少なくとも 3 種からなることが判明した。そのうち特に有用な天然化合物を産する種は、分類学的再検討の結果、*Theonella mirabilis* であった(図)。一方、過去の研究から *T. mirabilis* と同定されていたカイメンについても問題があることが判明した。形態情報や天然化合物情報から明らかに別種と考えられる 2 集団が見いだされたが、これら 2 集団のミトコンドリアゲノムの CO1 遺伝子の塩基配列は同一であった。



Theonella mirabilis の骨片 (電子顕微鏡画像)

(4) Theonellidae 科の DNA バーコーディングと分子系統解析

合計 46 個体を用いた各種遺伝子解析の結果、ミトコンドリアゲノムの CO1 遺伝子 1200bp では近縁種間での配列の違いを検出することができなかった。細胞核の ITS2 領域では、ゲノム内変異により他種間の比較が非常に困難であることが判明した。少なくとも Theonellidae 科カイメン類については、現

在データベース上に登録されている遺伝子の塩基配列情報から種の同定を行うのは正確性に欠けることが判明した。科内の分子系統解析や Theonellidae 科の姉妹群の探索には、28SrDNA や 18SrDNA の塩基配列情報を用いた方が望ましい。

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 11 件)

Irie, R., Hitora, Y., Ise, Y., Okada, S., Takada, K. and Matsunaga, S. (2018) Poecillastrin E, F, and G, cytotoxic chondropsin-type macrolides from a marine sponge *Poecillastra* sp. *Tetrahedron* 74: 1430–1434.

Irie, R., Takada, K., Ise, Y., Ohtsuka, S., Okada, S., Gustafson, K.R., and Matsunaga, S. (2017) Structure Revision of Poecillastrin C and the Absolute Configuration of the β -Hydroxyaspartic Acid Residue. *Organic Letters* 19: 5395–5397.

Ise, Y. (2017) Taxonomic Review of Japanese Sponges (Porifera). In: Species Diversity of Animals in Japan (Eds) Motokawa, M. and Kajihara, H. Springer Japan, Tokyo. Pp. 343–382.

Hitora, Y., Takada, K., Ise, Y., Okada, S. and Matsunaga, S. (2016) Dragmacidins G and H, Bisindole Alkaloids Tethered by a Guanidino Ethylthiopyrazine Moiety, from a *Lipastrotethya* sp. Marine Sponge. *Journal of Natural Products* 79: 2973–2976.

Takada, K., Imae, Y., Ise, Y., Ohtsuka, S., Ito, A., Okada, S., Yoshida, M. and Matsunaga, S. (2016) Yakushinamides, polyoxygenated fatty acid amides that inhibit HDACs and SIRT6, from a Marine Sponge *Theonella swinhoei*. *Journal of Natural Products* 79: 2384–2390.

小松原純子, 宮地良典, 伊勢優史. 2016. 千葉市の沖積層内湾堆積物から発見された海綿動物化石. *GSJ 地質ニュース* 5: 233–234.

Peddie, V., Takada, K., Okada, S., Ise, Y., Morii, Y., Yamawaki, N., Takatani, T., Arakawa, O., Okada, S. and Matsunaga S. (2015) Cytotoxic Glycosylated Fatty Acid Amides from a Marine Sponge *Stelletta* sp. *Journal of Natural Products* 78: 2808–2813.

Takahashi, E., Takada, K., Hashimoto, M., Itoh, Y., Ise, Y., Ohtsuka, S., Okada, S. and Matsunaga, S. (2015) Cytotoxic linear acetylenes from a marine sponge *Pleroma* sp. *Tetrahedron* 71: 9564–9570.

Koyama, S., Nishi, S., Tokuda, M., Uemura, M., Ishikawa, Y., Seya, T., Cho, N., Ise, Y., Hatada, Y., Fujiwara, Y. and Tsubouchi, T. (2015) Electrical retrieval of living microorganisms from cryopreserved marine

sponges using a potential-controlled electrode. *Marine Biotechnology* 17: 678–692.

Moran, D.A.P., Takada, K., Ise, Y., Bontemps, N., Rohan, D., Furihata, K., Okada, S. and Matsunaga, S. (2015) Two Cell Differentiation Inducing Pyridoacridines from a Marine Sponge *Biemna* sp. and Their Chemical Conversions. *Tetrahedron* 71: 5013–5018.

高田健太郎, 伊勢優史. 2015. 海綿動物由来の海洋天然物と分類の関係-有用天然物探索における生物の統合的な分類と同定. *遺伝* 69: 387–392.

[学会発表](計 14 件)

藤田喜久, 水山克, 下村通誉, 伊勢優史, 井口亮, 岡西政典. 琉球列島の海底洞窟における甲殻類相と生息環境. 日本甲殻類学会第 55 回大会. 東京大学大気海洋研究所, 千葉. 10 月 7, 8 日, 2017 年.

Ise, Y. Diversity of Japanese sponges: implication for future study of natural products chemistry. The Japanese Society for Fisheries Science 85th Anniversary-Commemorative international Symposium “Fisheries Science for Future Generations”. 22–24 September, 2017.

泉貴人, 伊勢優史, 柳研介, 上島励. 同骨海綿類に共生するテンブライソギンチャク(仮称)の分類及び生態. 日本動物学会第 88 回大会. 富山大学, 富山. 9 月 21–23 日, 2017 年.

伊勢優史, 水山克, 泉貴人, 藤田喜久. 琉球列島の海底洞窟に生息する *Placospongia* 属カイメン類(尋常海綿綱: 穿孔海綿目: Placospongiidae 科). 日本動物学会第 88 回大会. 富山大学, 富山. 9 月 21–23 日, 2017 年.

浅海竜司, 松森健人, 石原信司, 金城章, 大城大輝, 成瀬貴, 上村立, 水山克, 伊勢優史, 藤田喜久, 坂巻隆史, Shen C-C. 琉球列島産硬骨海綿の骨格記録と古海洋環境復元の可能性. 日本第四紀学会 2017 年大会. 福岡大学, 福岡. 8 月 26–30 日, 2017 年.

Asami, R., Matsumoto, T., Ishihara, S., Kinjo, A., Oshiro, D., Naruse, T., Mizusawa, M., Ise, Y., Fujita, Y. and Sakamaki, T. Paleocyanographic proxy and skeletal records of sclerosponges from the Ryukyu Islands, Japan. JpGU-AGU Joint Meeting 2017. Makuhari Messe, Chiba, Japan. 20–25

May, 2017.

伊勢優史, 水山克, 成瀬貫, 藤田喜久. 琉球列島の海底洞窟から得られたイシカイメン類・*Callipelta* 属の一種 (尋常海綿綱: 四放海綿目: Neopeltidae 科). 沖縄生物学会第 54 回大会. 琉球大学, 沖縄. 5 月 19 日, 2017 年.

藤田喜久, 伊勢優史, 水山克, 下村通誉. 沖縄島宜名真海底鍾乳洞 (通称: 辺戸ドーム) で採集された甲殻類. 沖縄生物学会第 54 回大会. 琉球大学, 沖縄. 5 月 19 日, 2017 年.

伊勢優史, 田尻理恵, 水山克, 成瀬貫, 藤田喜久. 琉球列島の海底洞窟に生息する硬骨海綿類. 第 19 回日本サンゴ礁学会. タイムスビル, 沖縄. 12 月 1 日-4 日, 2016 年. 小松原純子, 宮地良典, 伊勢優史. 千葉市の沖積層ボーリングコア中の内湾堆積物から発見された海綿動物化石. 炭酸塩コロキウム. 東北大学, 宮城. 3 月 10 日, 2017 年.

藤田喜久, 成瀬貫, 伊勢優史, 水山克, 川端潮音, 久保弘文. 琉球列島の海底洞窟に生息する無脊椎動物相. 第 18 回日本サンゴ礁学会. 慶応義塾大学, 東京. 11 月 26 日-29 日, 2015 年.

伊勢優史. 海綿動物の分類, 系統, 多様性. 2015 年度日本付着生物学会シンポジウム「動くのをやめた海の生き物たち - 海洋付着生物の分類と生態 - ». 東京大学, 東京. 10 月 2, 3 日, 2015 年.

伊勢優史, 田尻理恵, 水山克, 成瀬貫, 藤田喜久. 宮古諸島下地島の海底洞窟より得られた本邦初記録の硬骨海綿 *Stromatospongia*. 日本動物学会第 86 回大会, 新潟大学, 新潟. 9 月 17 日-19 日, 2015 年.

伊勢優史, 田尻理恵, 川端潮音, 水山克, 成瀬貫, 藤田喜久. 宮古諸島下地島の海底洞窟より得られた日本初記録の硬骨海綿 *Stromatospongia* (尋常海綿綱: Agelasida: Astroscleridae). 第 51 回日本動物分類学会, 広島大学, 広島. 6 月 13 日-14 日, 2015 年.

〔図書〕(計 1 件)

伊勢優史. 2017. 1 章 海綿類. (編) 日本付着生物学会. 新・付着生物研究法. 恒星社厚生閣. pp. 1-14.

〔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

伊勢 優史 (ISE, Yuji)
名古屋大学大学院・理学研究科・特任助教
研究者番号: 20535108

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()