

令和 2 年 7 月 6 日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K05697

研究課題名(和文)液胞が有孔虫の貧酸素適応に果たす役割：立体構造解析と同位体ラベル実験

研究課題名(英文)The role of vacuoles on the adaptive ecology of benthic foraminifera in dysoxic sediments

研究代表者

野牧 秀隆(NOMAKI, Hidetaka)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・超先鋭研究開発部門(超先鋭研究プログラム)・主任研究員

研究者番号：90435834

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：単細胞真核生物である有孔虫の細胞形態、特に液胞と呼ばれる、周囲の海水や代謝物質を貯蔵する細胞構造が、その種が生息する溶存酸素濃度、硝酸塩濃度などどのように関連しているのかを明らかにした。貧酸素環境に生息する有孔虫種2種は、好気環境に生息する種に比べてそれぞれ特徴的な細胞構造、液胞分布を持っており、周囲の細胞小器官などとの関連から、これらの構造が貧酸素環境下における硝酸塩呼吸や嫌氣的代謝に関連していることが示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通じ、単細胞ながら多室にわかれ、大きな細胞サイズを持つ有孔虫の細胞形態、そして細胞小器官の組成、微生物共生の有無などが、種によって非常に多様であることを明らかにした。これら細胞形質や細胞小器官の多様性が、世界中の多様な海洋環境での繁栄に貢献していると考えられる。また、この現象の背景を解明することは、細胞の大型化、多細胞化の進化過程を考えるうえでも興味深い知見を与えてくれるはずである。

研究成果の概要(英文)：We investigated the cytoplasmic structures of bathyal benthic foraminifera, particularly focusing on vacuoles and surrounding ultrastructure. Two deep-infaunal species, which thrive below oxygen penetration depths, have unique cytoplasmic structures, while shallow infaunal species represent similar structures. The unique structures may have some links with their adaptive ecology in dysoxic environments, and further researches are ongoing in terms of functional and genetic traits.

研究分野：深海生態学

キーワード：貧酸素 底生有孔虫 細胞質立体構造 マイクロX線CT 連続切片観察

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

単細胞真核生物(原生生物)である有孔虫は、一般に数百マイクロメートルサイズの細胞を持ち、時にその大きさは10cmにも達することがある。その大きな有孔虫細胞の構造的特徴として、液胞と呼ばれる細胞小器官の豊富さが挙げられ、液胞内の溶存物質を用いて様々な代謝を行ったり、代謝産物を貯蔵、廃棄していると考えられている。有孔虫は、貧酸素/嫌気環境で硝酸塩呼吸を行う適応生態が報告されている。細胞内の硝酸塩濃度は周囲の海水の最大1000倍と高く、液胞に硝酸塩をため込んで硝酸塩呼吸に用いていると予想される。また、嫌気環境下の一部の有孔虫種の液胞縁辺には細菌が特徴的に分布しており、液胞が有孔虫自身や共生微生物の嫌気代謝に重要な役割を果たしていることを示す。

一方で、有孔虫細胞の液胞の数やサイズは種と生息環境により多様性が大きい。この多様性は、液胞内の溶存物質の量、液胞-細胞質間の表面積、液胞の形成タイミング等を反映していると考えられるが、有孔虫の液胞の構造や役割に関する知見は非常に少ない。

申請者は、細胞膜と細胞質を金属染色した有孔虫試料をX線CTで観察すると、液胞がX線吸収度の違いではっきりと識別でき、それらの体積、表面積の定量評価が可能であることを見出した。これに加え、申請者が継続してきた、同位体ラベルによる硝酸塩取り込み、利用の解析手法をあわせれば、液胞のサイズ・配置の多様性と貧酸素環境下での液胞への硝酸塩取り込みなどの関連を解明できると考えた。

2. 研究の目的

天然環境と環境制御培養実験での異なる環境下の有孔虫を用いて、マイクロX線CTなどによる細胞立体構造解析、液胞配置解析を行い、貧酸素環境下に生息する底生有孔虫が、好気環境下で生息する有孔虫と比較してどのような細胞構造を持つのかを明らかにする。さらに、同位体トレーサー実験による硝酸塩濃度測定、硝酸塩取り込み解析を行い、好気/貧酸素環境下での液胞形成による硝酸塩取り込み、利用過程を明らかにし、液胞の形態的多様性が硝酸塩呼吸による貧酸素適応と関連しているのかを解明する。

3. 研究の方法

研究期間を通じ、相模湾漸深海域、アリューシャン海底谷、スウェーデンのフィヨルド底、および南極海で好気 貧酸素環境の堆積物試料を採取し、そこから抽出した有孔虫試料の解析を行った。相模湾、アリューシャン海底谷の試料を用いて、陸上や船上の実験室での同位体培養実験も行った。

サンプリングでは、マルチプルコアラーを用いて表層堆積物を採取し、底生有孔虫を採取するとともに、堆積物の生息環境の環境計測を行った。有孔虫個体はグルタルアルデヒドで固定した後に導電染色し、樹脂包埋して、高知大学の所有するマイクロフォーカスX線CTで細胞質の立体構造を観察した。また、相模湾の漸深海底から採取した有孔虫一種については、厚さ500nmの連続厚切り切片を1個体につき400枚以上作成し、連続切片観察を行った。その後、特徴的な構造について画像解析ソフト上でトレースし、その構造を3次元立体構築して細胞内での分布を明らかにした。

同位体培養実験では、相模湾深海底で採取した有孔虫種1種について、海水中の酸素濃度と硝酸塩濃度を变化させた室内培養実験を行った。培養期間中の細胞内硝酸塩濃度の測定、および培養実験開始前の個体、培養後の個体の細胞微細構造観察などを行うとともに、硝酸塩については15Nで標識し、有孔虫細胞内への取り込みを解析した。

4. 研究成果

相模湾の有孔虫については、計9種について観察した結果、特に貧酸素環境に生息する有孔虫2種のうち*Globobulimina affinis*の細胞質において、外部環境とつながる巨大な空隙と、その周囲に特徴的に配置されている細胞小器官を見出した。この巨大な空隙は、3次元観察により外界とのつながりが明確に示され、さらにその巨大な空隙の周囲を透過型電子顕微鏡観察した結果、ペルオキシソームとミトコンドリアの凝集体が取り囲んでいることがわかり、嫌気環境下で周囲の海水中の溶存化学物質を用いて何らかの代謝を行っていることが示唆される。また、フィヨルド内で採取された同じ*Globobulimina*属の2種は、同属である相模湾の*Globobulimina affinis*とほぼ同様の細胞構造を見せ、細胞構造が、属レベルでは似通っていることを示唆した。さらに、フィヨルドの2種では、石灰質殻の周りに薄く堆積物で覆ったシストを特徴的に保持していた。これらの個体について、樹脂包埋個体から超薄切片を作成して透過型電子顕微鏡で観察した結果、シストのすぐ内側に、2-3層になった泡状の細胞質が存在していた。石灰質殻の周りにこれらの泡状細胞質を展開し、薄く堆積物で覆うことで、環境とのバフファァーなどに利用している可能性がある。

同じく貧酸素堆積物に特徴的な種である*Chilostomella*について、連続切片観察によ

る3次元構造解析を行い、細胞質や液胞の分布、形態を明らかにしたところ、細胞質を隔てたり、液胞の内面に特徴的に分布する板状の構造を多数発見した。この構造は概ね板状の構造をしていること、初室側、また細胞の縁辺部では、構造がさらに収縮し葉巻状に丸まった状態に変化することがわかった。この構造に対し、複数の化学染色手法を用いてその組成を調べた結果、キチン質でできた構造であることが分かった。この構造沿いに細胞質を展開していることから、細胞質の表面積を細胞内で増加させるための仕切り板のような構造の可能性があるほか、液胞の壁面沿いに展開されることもあることから、キチンの板を代謝反応の触媒として利用している可能性についても検討し、現在論文を準備中である。

また、 ^{15}N で標識した硝酸塩を添加して培養した相模湾の有孔虫種について、共同研究者とともに ^{15}N 濃度の面的マッピングを行い、好气的環境、嫌气的環境でどのように細胞内の窒素代謝に違いがあるのかを解析した。こちらも、研究協力者とともに論文としてまとめている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nomaki H, LeKieffre C, Meibom A, Escrig S, Yagyu S, Richardson EA, Matsuzaki T, Murayama M, Geslin E, Bernhard JM	4. 巻 138
2. 論文標題 Innovative TEM-coupled approaches to study foraminiferal cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Marine Micropaleontology	6. 最初と最後の頁 90-104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.marmicro.2017.10.002	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 該当する

1. 著者名 Koho KA, LeKieffre C, Nomaki H, Salonen I, Mabilieu G, Geslin E, Sogaard Jensen LH, Reichart GJ	4. 巻 138
2. 論文標題 Changes in ultrastructural features of the foraminifera Ammonia spp. in response to anoxic conditions: field and laboratory observations	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Marine Micropaleontology	6. 最初と最後の頁 72-82
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.marmicro.2017.10.011	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 該当する

1. 著者名 Bernhard JM, Tsuchiya M, Nomaki H	4. 巻 138
2. 論文標題 Ultrastructural observations on bacterial associates of benthic foraminifera: food, mutualistic symbionts, or parasites?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Marine Micropaleontology	6. 最初と最後の頁 33-45
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.marmicro.2017.09.001	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 該当する

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 3件/うち国際学会 8件）

1. 発表者名 Nomaki H, Heinz P
2. 発表標題 Trophic ecology of foraminifera and methods to identify prey items
3. 学会等名 The 2nd FRESCO Summer School（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nomaki H, Tsuchiya M, Tame A, Matsuzaki T
2. 発表標題 Variation in foraminiferal cytoplasm structures and its possible relationships between environmental conditions
3. 学会等名 International Symposium on Foraminifera (FORAMS) 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nomaki H
2. 発表標題 Foraminiferal ecologies revealed by in situ and laboratory experiments
3. 学会等名 International Symposium on Foraminifera (FORAMS) 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nomaki H, Rastelli E, Amaro T, Tsuchiya M, Seike K, Kitahashi T, Suga H, Miyamoto N, Ogawa NO, Danovaro R, Nunoura T, Ohkouchi N
2. 発表標題 Abyssal ecosystems and biogeochemical cycles revealed by in-situ experiments
3. 学会等名 15th Deep-Sea Biology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nomaki H, Tsuchiya M, Tame A, Matsuzaki T, Murayama M
2. 発表標題 Variations in 3-D cytoplasmic structures of foraminifera (protistan meiofauna): microfocus X-ray CT and TEM observations
3. 学会等名 17th International Meiofauna Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野牧秀隆・Chen Chong・小田加也・土屋正史・松崎琢也・多米晃裕・植松勝之
2. 発表標題 底生有孔虫Chilostomella細胞内の板状構造と推察される役割
3. 学会等名 日本古生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koho KA, LeKieffre C, Nomaki H, Salonen I, Geslin E, Mabilieu G, Sogaard Jensen L, Reichart GJ
2. 発表標題 Ultrastructure of Foraminifera (Ammonia spp.) in Oxidic and Anoxic conditions
3. 学会等名 ASLO ocean science meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koho KA, LeKieffre C, Nomaki H, Salonen I, Geslin E, Mabilieu G, Sogaard Jensen L, Reichart GJ
2. 発表標題 Ultrastructures of foraminifera (Ammonia spp. tepida morphocomplex) in oxidic and anoxic conditions
3. 学会等名 52nd European Marine Biology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nomaki H, Heinz P
2. 発表標題 Trophic ecology of foraminifera
3. 学会等名 The 1st FRESKO Summer School (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野牧秀隆・土屋正史・多米晃裕・矢生晋介・松崎琢也・村山雅史
2. 発表標題 底生有孔虫 <i>Globobulimina affinis</i> の細胞立体構造・微細構造の特徴と貧酸素環境への適応戦略
3. 学会等名 日本古生物学会第167回例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 土屋正史・野牧秀隆
2. 発表標題 嫌気環境下における底生有孔虫 <i>Ammonia</i> sp.の適応機構
3. 学会等名 日本古生物学会2017年年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 D. Langlet・野牧 秀隆・藤原 義弘
2. 発表標題 Sediment geochemistry and living benthic foraminifera in the hypoxic Bering Sea
3. 学会等名 2017年度微古生物学リファレンスセンター研究集会
4. 発表年 2018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