

令和 4 年 5 月 21 日現在

機関番号：12604

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K03821

研究課題名(和文)放散虫のシリカ被殻形成過程の解明と分子系統解析から探るシリカ固定能の起源と進化

研究課題名(英文)Origin and evolution of the silica fixation ability of polycystine radiolarians based on molecular phylogenetic analysis.

研究代表者

高橋 修 (TAKAHASHI, Osamu)

東京学芸大学・教育学部・教授

研究者番号：20242232

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)：複数の放散虫種において大量の遊走子細胞を回収し、数種の放散虫においてゲノムデータを取得することに成功した。同時に、それぞれの放散虫種に共生する共生藻についての検討も行ない、共生渦鞭毛藻1種(*Zooxanthella nutricula*)および緑藻に属する新規の共生体2種の同定をおこなうことができた。未同定の緑藻共生体に関して、現在のところ、それらのうちのひとつは、ピコサイズの緑藻で、これまで記載されていないものと判明し、特異的に放散虫に共生する種と考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海洋原生生物放散虫とそれに共生する共生藻の形態および分子系統学的な検討を行った。本研究により、放散虫は種ごとに決まった種類の共生藻を後生的に獲得すること、ひとつの放散虫には複数の種の共生藻は存在しないこと、海域ごとに保持する共生藻は異なることが明らかになった。また、海洋原生生物放散虫とそれに共生する共生体のゲノム解析を行い、放散虫のバイオミネラリゼーションやその起源についての検討を行った。これらのことから、放散虫から共生体への、あるいは共生体から放散虫への遺伝子水平伝播の可能性を考察した。

研究成果の概要(英文)：We recovered a large number of reproductive cells from several species of radiolarians and succeeded in obtaining genome data for several species. At the same time, we also studied the radiolarian symbionts of dinoflagellates (*Zooxanthella nutricula*) and two new species belonging to green algae. One of the unidentified green algal symbionts is a pico-sized one that has never been previously described, and is thought to be a specific radiolarian symbiont.

研究分野：古生物学

キーワード：放散虫 共生藻 渦鞭毛藻 緑藻 ゲノム シリカ バイオミネラリゼーション

1. 研究開始当初の背景

放散虫は、北極海から亜熱帯、熱帯にかけての外洋に広く生息している大きさ数 10~数 100 μm の海生原生生物である。体部は中心囊と呼ばれる囊胞を持つ原形質と骨格ないし殻で構成され、仮足を細胞外に放射状に伸ばして終生浮遊生活を送る。現在の分類体系では、 SrSO_4 (硫酸ストロンチウム) の骨格や殻をもつアカンサリアと、 SiO_2 (シリカ) の骨格や殻をもつポリキスティナの 2 群からなり、その骨格や殻の形態は多様で、骨針だけを持つものや多孔質のかご状の殻をつくるものもある。

アカンサリアの硫酸ストロンチウムの殻は死後すぐに海水中に溶解するため、深海底に分布する放散虫軟泥を構成しているのは主としてポリキスティナの骨殻である。それらは化石として残ることも多く、最も古いポリキスティナの化石は、古生代カンブリア紀初頭(およそ 5 億 2000 万年前)のものが知られている (Braun et al. 2007)。

生物がシリカの被殻を形成する能力はシリカバイオミネラリゼーションと呼ばれ、真核生物の様々な系統で発現している。イネ科植物のプラントオパール、海綿動物の骨片、珪藻の殻などは、シリカバイオミネラリゼーションの代表例として特に有名で、形態学、生化学、分子細胞生物学など多方面からの研究が進んでいる。また、これらのいずれとも系統的に離れた、放散虫の属するリザリア系統群にもシリカの被殻を持つものが含まれ、そのうちの放散虫は、シリカの被殻形成を行なう最古級の真核生物である可能性が示唆されている (Sierra et al. 2013 など)。

このように、先カンブリア時代末の真核生物の爆発的進化の時期に、真核生物の枝の中で、シリカ被殻の形態制御に関する遺伝子が、いくつもの系統に広く受け渡されたことは、それ以降の地質時代における真核生物の生存戦略にとって重要な意味を持つものと考えられる。シリカを固定する最古級の真核生物とされる放散虫の被殻形成に関する研究は、シリカバイオミネラリゼーションの起源・進化を探るうえで、非常に重要なものとなるであろう。

2. 研究の目的

本研究では、1) 放散虫のシリカ被殻形成過程を明らかにし、その過程を、現在知られている他の真核生物の例 (例えば有殻アメーバや海綿など) と比較すること、および、2) シリカ被殻を持つ真核生物が普遍的に保持するシリカ被殻の形態制御に関するシリコントランスポーター遺伝子を放散虫のゲノムから探索し、放散虫のシリカ被殻形成にもそれらが関与していることを明らかにすること、これらを本研究の目的とした。

他のシリカ被殻を持つ真核生物では、シリカ沈着小胞 (Silica Deposition Vesicle: SDV) 内にシリカが沈着することで被殻が形成されていくことがすでに知られている。しかし、放散虫では、これまで培養が確立されていなかったことから、詳細なシリカ被殻の形成過程を明らかにすることは困難であった。

海綿の骨針のシリカ沈着過程を研究した Annenkov and Danilovtseva (2016) では、骨針の形成を開始した SDV の周辺部に、他の SDV が付加していくことによってシリカ骨針が成長していく様子が示されている。また、有殻アメーバのシリカ沈着過程を明らかにした Nomura and Ishida (2016) では、有殻アメーバでは、SDV の拡充とともに鱗片が形成されていくことが報告されている。放散虫でも、おそらく被殻形成初期には細胞膜直下に存在する SDV 内部でシリカの固定・沈着が開始されると考えられるが、放散虫は、これらの例よりも、より幾何学的で複雑な形態の被殻を形成していると考えられた。すなわち、放散虫のシリカ被殻形成過程を明らかにし、真核生物内の他の生物群の被殻形成メカニズムと比較することで、真核生物におけるシリカ被殻形成能の多様性と普遍性についての形態学的な知見が新たに得られるものと考えた。

一方、最近、Marron et al. (2016) によって、真核生物内でのシリカ被殻形態制御に関する遺伝子 (SITs / SITLs) の探索が行われ、これらの遺伝子が真核生物の祖先から垂直伝播で真核生物全体に広がった可能性が示唆された。Marron et al. (2016) はその中で、シリカの骨殻をつくるポリキスティナは SITLs を持つが、硫酸ストロンチウムの骨殻をつくるアカンサリアは SITLs を持たないとした。しかし、リザリア系統群内でももっとも早い時期に出現したと考えられるアカンサリアが SITLs を持たないということは、SITLs 遺伝子が垂直伝播ではなく、他の生物群から水平伝播でポリキスティネアにもたらされたという可能性を捨てきれない。

現段階で SITLs の解析は、ポリキスティネアとアカンサリア 1 種ずつでしか行われていない。そこで、本研究の第 2 の目的として、ポリキスティネアとアカンサリア複数のゲノムから SITLs の探索を行い、先カンブリア時代末~古生代初頭に起こったリザリア系統群内の遺伝子伝播のシナリオを、また、真核生物のシリカ被殻形態制御に関する遺伝子 (SITs / SITLs) の進化のシ

ナリオをつきとめ、それにより、地質時代における真核生物の遺伝子受け渡しの方策や、環境変化に対する生き残りの戦術を知ることができるものと考えた。

3. 研究の方法

1) 本研究では、シリカ被殻を生体染色できる **PDMPO** あるいは **NBD-N2** などの染色試薬を用いて、蛍光顕微鏡下で放散虫の被殻形成の様子をとらえる。さらに、**PDMPO** などで処理した個体の超薄切片を作成し、透過型電子顕微鏡観察を行うことで、**SDV** が放散虫の細胞のどの部位から現れ、そこにどのようにシリカが沈着して骨格や殻が形成され、成長していくのか、放散虫における **SDV** へのシリカ沈着の様式とシリカ被殻形成の過程を明らかにする。

2) 放散虫は、この 20 年ほど共同研究を行っている琉球大学および新潟大学の実験船でサンプリングを行い、できるだけ数多くの種について検討する。申請者らは、これまでに実験室内でアカンサリアやポリキスティナの遊走子を放出させることに成功しているため、多量の遊走子を用いてこれまで困難であった **SITLs** の探索を行う事が可能となった。遊走子細胞から **RNA** を抽出、**cDNA** ライブラリーを作成し、**SITLs** の探索を行う。これにより、**SITLs** などのシリカ被殻の形態制御に関する遺伝子が放散虫に普遍的に存在するのを確認し、さらには、他の系統群の **SITLs** との比較を試みる。

これまでの申請者らの研究から、放散虫のアカンサリアとポリキスティネアは共通してその遊走子に硫酸ストロンチウムの結晶を持つことが分かっている。つまり、系統発生の初期の段階でそれぞれが硫酸ストロンチウム固定能を持っていたのである。その後、ポリキスティネアが独立にシリカ固定能を獲得したのか、それともさらに古いシリカ固定能を持つ生物群が存在し、シリカ固定能はそこから受け渡され、アカンサリアに関しては地質時代のある時期に **SITLs** が消失したのか、今回の申請では、放散虫のゲノムを解析することで、この地質時代における被殻成分の進化の謎に迫りたいと考えた。

4. 研究成果

複数の放散虫種において大量の遊走子細胞を回収し、数種の放散虫においてゲノムデータを取得することに成功した。同時に、それぞれの放散虫種に共生する共生藻についての検討も行ない、共生渦鞭毛藻 1 種 (**Zooxanthella nutricula**) および緑藻に属する新規の共生体 2 種の同定をおこなうことができた。未同定の緑藻共生体に関して、現在のところ、それらのうちのひとつはピコサイズの緑藻で、これまで記載されていないものと判明している。また、特異的に放散虫に共生する緑藻の 1 種と考えられる。

本研究により、1) 放散虫は種ごとに決まった種類の共生藻を後生的に獲得すること、放散虫の遊走子のサイズは数 μm と、共生藻の大きさよりも小さく、有性生殖では子孫に共生藻を受け渡すことは不可能であると結論づけた。2) ひとつの放散虫には複数の種の共生藻は存在しないこと、3) 海域ごとに保持する共生藻は異なること、4) 放散虫の、アカンサリアとポリキスティネアのうち、いくつかの種において遊走子放出の現象を確認し、**SEM**, **TEM**, 分子系統解析をおこなった。それらの結果から、放散虫とそれに共生する共生体のゲノム解析を行い、放散虫のバイオミネラリゼーションやその起源についての検討をあわせて行った。これらの結果により、放散虫から共生体への、あるいは共生体から放散虫への遺伝子水平伝播の可能性を考察することができた。

<参考文献>

Braun et al. (2007) First Early Cambrian Radiolaria. Vickers-Rich, P. & Komarower, P. (eds) The Rise and Fall of the Ediacaran Biota. Geological Society, London, Special Publications 286, 143–149.

Sierra et al. (2013) Deep relationships of Rhizaria revealed by phylogenomics: A farewell to Haeckel's Radiolaria. Molecular Phylogenetics and Evolution 67, 53–59.

Annenkov and Danilovtseva (2016) Spiculogenesis in the siliceous sponge *Lubomirskia baicalensis* studied with fluorescent staining. Journal of Structural Biology 194, 29–37.

Nomura and Ishida (2016) Fine-structural observations on siliceous scale production and shell assembly in the testate amoeba *Paulinella chromatophore*. Protist 167, 303–318.

Marron et al. (2016) The evolution of silicon transport in eukaryotes. Mol. Biol. Evol. 33 3226–3248.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tomoko Yuasa, Masanobu Kawachi, Takeo Horiguchi & Osamu Takahashi	4. 巻 58
2. 論文標題 Chrysochromulina andersonii sp. nov. (Prymnesiophyceae), a new flagellate haptophyte symbiotic with radiolarians	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Phycologia	6. 最初と最後の頁 211-224
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00318884.2018.1541271	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------