

平成22年5月10日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19540491

研究課題名（和文） 分子系統からさぐる原生生物のシリカ細胞外被形成能の進化

研究課題名（英文） Evolution of the ability to form a siliceous test of protists based on the molecular phylogeny

研究代表者

高橋 修 (TAKAHASHI OSAMU)

東京学芸大学・教育学部・准教授

研究者番号：20242232

研究成果の概要（和文）：

一般に、生きている放散虫類は共生藻をもっている。それらは黄緑色ないし黄褐色の微小な球状で、そのサイズは3～10マイクロメートルの大きさである。共生体を持っている現生の放散虫類の大部分が共生体から光合成によって固定された炭素の供給をうけ、貧栄養環境下でその共生関係を維持している。この研究では、*Euchitonia elegans* (Ehrenberg), *Dictyocoryne truncatum* (Ehrenberg), および *Spongaster tetras* Ehrenberg の分子系統および超薄切片観察により、Dinoflagellates、chlorophytes、および haptophytes などの藻類がこれらの放散虫に共生していることを特定した。そのうえ、これまで共生藻をもたないとされていた *Dictyocoryne profunda* Ehrenberg の表面に、数多くのシアノバクテリアが共生していることを明らかにした。

本研究の結果、異なった種の放散虫は異なった共生体を持ち、それらは強い特異性もつことを示した。もし、仮に同じ放散虫が異なった藻類を複数、共生体として持つならば、それは選択の柔軟性があることを示すかもしれない。しかしながら、現在の結果はこの仮説を否定する。これらの間の柔軟性の欠如は、放散虫に共生体の認識と選別ための一般的なメカニズムがある事を示すものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：

Living radiolarians generally possess algal symbionts. They are generally recognized as yellow-green or yellow-brown, minute spheres, and variable in size, about 3 to 10 micrometers. The majority of modern symbionts-bearing radiolarians appear to depend on their symbionts to provide photosynthetically fixed carbon and to maintain the radiolarians in low nutrient environments (e.g., Anderson, 1978). In this study, Dinoflagellates, chlorophytes, and haptophytes were identified as endosymbionts of radiolarians of *Euchitonia elegans* (Ehrenberg), *Dictyocoryne truncatum* (Ehrenberg), and *Spongaster tetras* Ehrenberg by molecular and ultrastructural analyses. Moreover, I made clear that *Dictyocoryne profunda* Ehrenberg, which have been considered to not have algal symbionts, harbor many cyanobacteria symbionts on the surface.

The present results show that the different species of radiolarians can have different symbionts and they can be strong specificity. If the same radiolarian species does associate with different algae, this might be the flexibility in choice of symbionts; however, the present results possibly reject this hypothesis. The non-flexibility of these interactions probably suggests Radiolaria have a common mechanism for the recognition and selection of symbionts.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：地球科学

科研費の分科・細目：古生物学

キーワード：放散虫・共生藻・分子系統・18S rDNA・シリカ・骨殻

1. 研究開始当初の背景

放散虫 (Radiolaria) の殻は堅固な非結晶シリカからなる。最も古い放散虫化石の報告は、先カンブリア時代末あるいは古生代初頭と思われるものがあり、放散虫が地球生物史のなかで環境中のシリカを固定する最も古い真核生物の候補のひとつであることは疑いない。現在、シリカを生物体内で生成する能力 (シリカバイオミネラルゼーション) は、真核生物の様々な系統で出現しており (例えば放散虫の他、ケイソウ、カイメン、有殻アメーバ、イネのプラントオパールなど)、ここではシリカ骨格の形態制御に関するタンパク質である silicatein や silaffin などが重要な役割を担っていることが指摘されている (Kroger et al., 2002, Science 298, 584-586; Morse, 1999, Trends in Biotechnology 176, 230-232)。もし、これら真核生物の silicatein や silaffin が、放散虫のもつ silicatein や silaffin と同じ起源をもつものであるならば、それは、地質時代において、種の壁を越えて遺伝子が取り込まれる現象 (遺伝子水平伝播) によって受け渡されたものである可能性がでてくる。

2. 研究の目的

本研究では、放散虫とその共生体の分子系統解析から、地質時代をさかのぼって、これら相互の間での遺伝子水平伝播の可能性を探ることを目的とした。

1) 現生放散虫 (Polycystinea, Phaeodarea, Acantharea) とそれに共生する藻類の分子系統解析を行い、それらの系統進化を明らかにする。それによって、共生体の獲得が単なる偶然によるものなのか、それとも世代を超えて受け継がれたものなのかを探る。

2) 放散虫やその共生体の silicatein や silaffin による分子系統解析から、放散虫

とその共生体の間での、シリカ固定能の遺伝子水平伝播の可能性を考察する

3. 研究の方法

(時間断面の探査) 放散虫 Polycystinea, Acantharea, Phaeodarea のそれぞれについて、SSU, LSU, actin など数多くの遺伝子部位の分子系統解析を行い、真核生物全体の中でのそれらの系統上の位置について考察する。また、シリカ固定能力についてコーディングしている silicatein および silaffin 部位を増幅させることも平行して試みる。

(空間断面の探査) 現在という時間断面の中で、水平的な (ノルウェー・沖縄・佐渡) あるいは垂直的な (深度分布) 遺伝子形の差異、形態の差異、共生体の差異 (種類・量) を探り、遺伝子と形態の多様性についての情報を得る。

4. 研究成果

放散虫 4 種の超薄切片による電子顕微鏡観察を行い、これまで分子系統解析より得ていた結果と照らし合わせ、放散虫に共生する藻類の同定を試みた。

観察に用いた放散虫は、沖縄県本島北西部瀬底島沖合、新潟県佐渡島、およびノルウェーソグンダルフヨルドでサンプリングした *Euchitonia elegans* (Ehrenberg), *Dictyocoryne truncatum* (Ehrenberg), *Spongaster tetras* Ehrenberg, および *Dictyocoryne profunda* Ehrenberg の 4 種である。超薄切片観察の結果、*E. elegans*, *D. truncatum*, および *S. tetras* のそれぞれから渦鞭毛藻、ハプト藻、緑藻の特徴を持つ共生体が確認できた。分子系統解析の結果からは、*D. truncatum* の共生藻は、浮遊性有孔虫の持つ共生藻類と近縁であったが、*E. elegans* に共生している渦鞭毛藻は、染色体

が凝集した核，三重チラコイドを持つ葉緑体といった渦鞭毛藻の特徴が確認され，分子解析より，既知の *Gymnodinium* 属の種と単系統を形成することが支持され，これまでサンゴやシャコガイから報告されているスエシア目 (Suessiales) の種ではなく，Daugbjerg et al. (2000) で定義された狭義の *Gymnodinium* 属の種であることが明らかになった。

また，これまで藻類は共生していないと考えられていた *D. profunda* の超薄切片を観察した結果，殻表面に数多くのシアノバクテリアが共生していることが確認された。

#### 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 5 件)

- ① Molecular identification of reproductive cells released from *Cypassis irregularis* Nigrini (Radiolaria). K. Kimoto, T. Yuasa, and O. Takahashi, Environmental Microbiology Report, in press, 2010.
- ② A simple technique for extracting small subunit ribosomal DNAs from both the host and symbiont of a single radiolarian specimen. Tomoko Yuasa, Osamu Takahashi, Shigeki Mayama, News of Osaka Micropaleontologists Special Volume 14, 2009.
- ③ Molecular phylogenetic position of *Hexacontium pachydermum* Jorgensen (Radiolaria). Yuasa, T., Dolven J.K., Bjorklund, K.R., Mayama, S., and Takahashi, O., Marine Micropaleontology, 73, 129-134, 2009.
- ④ SEM observations of the fracture morphology of Acantharea (Radiolaria) from the East China Sea, Okinawa, Japan. K. Shimmen, O. Takahashi, and T. Yuasa, Bull. Tokyo Gakugei Univ., Nat. Sci., 61, 55-62, 2009
- ⑤ Molecular diversity of alveolates associated with nertic north atlantic radiolarians. J. K. Dolven, Charlotte Lindqvist, Victoe A. Albert, Kjell. R. Bjorklund, Tomoko Yuasa, Osamu Takahashi, Shigeki Mayama, Protist, 158, 65-76, 2007.

[学会発表] (計 10 件)

- ① *Hexacontium pachydermum* Jorgensen の

分子系統. 琉球大学熱帯生物圏センター共同利用研究会「有殻原生生物プランクトン研究はどこに向かうのか」高橋 修, 沖縄・琉球大, 2008.

- ② Molecular phylogenetic position of parasitic algae in radiolarians. International Symposium on Protistology "Evolution and Diversity," T. Yuasa, O. Takahashi, K.R., Bjorklund, 筑波, 2008.
- ③ 現生放散虫の細胞内に寄生するピコプランクトン Marine Alveolate Group I. 湯浅智子・K.R. Bjorklund・真山茂樹・高橋 修 日本古生物学会 2008 年年会, 70, 2008.
- ④ Molecular phylogenetic position of parasitic and symbiotic algae in radiolarians. T. Yuasa, T. Horiguchi, S. Mayama, O. Takahashi, Workshop on molecular systematics of Amoebozoa and Rhizaria, スイス・ジュネーブ, 2009.
- ⑤ 放散虫に共生する藻類の分子解析と微細構造観察. 湯浅智子・堀口健雄・真山茂樹・高橋 修, 日本藻類学会第 33 回大会, 沖縄, 2009.
- ⑥ 放散虫に共生する渦鞭毛藻, ハプト藻, 緑藻およびシアノバクテリアの微細構造観察. 湯浅智子・堀口健雄・真山茂樹・高橋 修, 日本古生物学会 2009 年年会, 千葉, 2009.
- ⑦ 放散虫に共生する藻類の多様性と種特異性. 湯浅智子・堀口健雄・高橋 修・真山茂樹, 第 4 回日本進化原生生物研究会 (JSEP), 仙台, 2009.
- ⑧ Molecular phylogenetic position of *Hexacontium pachydermum* Jorgensen, O. Takahashi, T. Yuasa, J.K. Dolven, K.R. Bjorklund, S. Mayama, 12th Meeting of the International Association of Radiolarian Paleontologists, 南京, 2009.
- ⑨ Molecular and fine-structural studies of symbiotic algae in Radiolaria. T. Yuasa, T. Horiguchi, S. Mayama, O. Takahashi, 12th Meeting of the International Association of Radiolarian Paleontologists, 南京, 2009.

- ⑩ Molecular phylogenetic and fine-structural studies of Radiolaria. T. Yuasa, T. Horiguchi, O. Takahashi, and S. Mayama, JSPS Radiolarian Biology based on Paleoceanography workshop, 福岡, 2009

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 修 (TAKAHADHI OSAMU)  
東京学芸大学・教育学部・准教授  
研究者番号：20242232

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

真山 茂樹 (MAYAMA SHIGEKI)  
東京学芸大学・教育学部・准教授  
研究者番号：40199914

松岡 篤 (MATSUOKA ATSUSHI)  
新潟大学・理学部・教授  
研究者番号：00183947

竹村 明洋 (TAKEMURA AKIHIRO)  
琉球大学・理学部・准教授  
研究者番号：40222103