

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：10103

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06801

研究課題名(和文) ウイルスのように「消える」多核単細胞アメーバ寄生菌の実体解明

研究課題名(英文) Endoparasite of Nivicolous myxomycetes: their host, ecology and characters

研究代表者

矢島 由佳 (Yajima, Yuka)

室蘭工業大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：10587744

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)：変形菌の細胞内に寄生していると思われるシスト様の菌類の実体を解明するために、多様な変形菌を対象に野外調査および遺伝子解析を実施し、寄生が確認された標本を用いた培養実験、各種観察を行なった。この菌類は変形菌の孢子期に変形菌細胞に感染可能であることが示唆された。これまで好雪性のルリホコリ属の変形菌でのみ本菌類の寄生が知られていたが、本研究によりさらに2属が新たな宿主として追加され、またそのすべてが好雪性変形菌であった。したがって本菌類は、根雪の融雪下のような水分の多い低温環境を好む生態をもつ可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

変形菌は一般に、細菌や菌類の捕食者であるとされる。しかし自然界における生物間関係はより複雑であると考えられ、変形菌も他の生物の被食者に位置していることがあり、その一例が菌類による寄生である。本研究では、好雪性変形菌の細胞内に寄生すると思われる菌類の実体を調査した。この菌類が属すると考えられるグループは、環境中の遺伝子情報でのみ知られることが多く、その実体を見つけ出し研究することが困難となっている。本研究によって、宿主の変形菌の生態的特徴情報を利用することで本菌の実体を得やすくなることが明らかとなり、当該菌の研究をさらに進めることにつながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Transparent cyst-like bodies were found in fruiting bodies of *Lamproderma* spp., a group of snowbank (nivicolous) myxomycetes as an early diverging lineage of the Fungi. To investigate this fungus in more detail, field survey and morphological and molecular studies were conducted. Additional specimens of fruiting bodies of the nivicolous species harboring the cyst-like bodies were collected in Japan. The endoparasite was only found in nivicolous species, however the host species was not limited to the genus *Lamproderma*. Based on their host habitats and culture experiments, it is suggested that they prefer cold and wet environments.

研究分野：変形菌分類学

キーワード：変形菌 粘菌 シスト様菌類 Cryptomycota Rozellomycota 寄生菌

1. 研究開始当初の背景

変形菌の細胞内に寄生していると思われるシスト様構造が見つかり、菌類の基部系統群に位置する可能性が示唆された。しかし報告された標本数は少なく、この現象が偶然起きたものか定常的に起こっているのか、また特定の変形菌の種類に起こる現象なのか否かも不明であった。さらに当初はシストと呼ばれる休眠状態に類似の形態でしか見つかっておらず、宿主の変形菌標本も採集された後に年数が経過していたことから、その生きた姿も不明であった。

基部系統群に位置する菌類は実体や宿主が不明であることが多く、野外でピンポイントに当該菌類を得ることは困難とされる。これらが詳細な研究進展の障壁の一つとなっているが、その一群と考えられる変形菌寄生菌が宿主の採集に伴ってその実体を確保できることは利点である。これを活用し本研究によって詳細に研究することにより、自然界における変形菌の生態的位置の考察のみならず、当該菌類の研究の発展に寄与できる可能性があると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、変形菌に細胞内寄生していると思われる菌類の実体を明らかとすることを目的とした。特に、当該現象は定常的に起こっているのか、変形菌の特定の種類に寄生しているのか、シスト様構造の形成過程や感染過程、変形菌内での増殖といった生きた姿の観察が可能かを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

北海道および本州の根雪地域において 4-5 月に好雪性変形菌の野外調査を実施し、また 6-11 月に北海道で非好雪性変形菌の野外調査を実施した。宿主と考えられる変形菌の同定を行い、寄生有無の形態、染色および PCR 法による分子からの検出方法の確立を行った。当該菌類は変形菌の子嚢壁、孢子壁、および自身のシスト様構造の壁で覆われた状態になっていることから、常法での DNA 抽出が困難であったため、抽出方法の最適化を行った。当該菌類および宿主の変形菌の超微細形態観察では、当初予定していた手法がコロナ禍により実施不可であったため、各種手法の組み合わせにより観察を実施した。宿主の変形菌は特定の種類を除き培養が困難であり、本研究では宿主と考えられた好雪性変形菌の培養および共培養系の確立を目指し条件検討を行い、生きた状態での当該菌類変形菌細胞内での増殖の可視化を試みた。

4. 研究成果

北海道および本州の複数の根雪地域を対象に野外調査を実施し、得られた好雪性変形菌、非好雪性変形菌の標本 600 点以上の寄生有無を調査した。その結果、当該菌類のシスト様構造やその遺伝子が確認されたのは全体の 5%程度であった。このうち、寄生が確認されたすべての標本は好雪性変形菌であり、非好雪性変形菌では確認されなかった。研究開始当初は、好雪性変形菌のうちルリホコリ属の 1 種類でのみこの現象が観察されていたが、本研究によってルリホコリ属の複数種類でこの現象が見られること、さらに他の 2 属でも当該現象が見られることが明らかとなった。したがってこの変形菌寄生性菌類は、変形菌であればどのような種類であっても寄生できるというわけではなく、特定の環境条件に生息する生態的グループに寄生すると考えられる。また北海道の複数地域、および本州でもこの現象が複数年度にわたって確認されたことから、日本の根雪地域では頻度は高くないものの当該現象が定常的に起こっていることが示唆された。

また本研究では、変形菌の孢子内でシスト様構造が形態的に認識され検出できる場合と、構造が観察されずとも PCR 法によりその存在を検出できることが明らかとなった。新鮮標本の超微細形態観察により、シスト様構造の壁は変形菌の原形質内で徐々に形成されていくような姿が確認されることから、構造が観察されない場合にはこの形成過程の初期段階か、生活環の別ステージである可能性がある。各種染色法により、このシスト様構造が見られない段階でも寄生有無を検出できるかどうかを検討したが、明瞭に区別できる方法は見出されなかった。

本研究ではコロナ禍の緊急事態宣言が 2 年続いて好雪性変形菌の子実体形成時期に重なったため、その 2 年は得られた標本数も減り新鮮標本を用いた実験が十分には行えず、変形菌細胞内での増殖の可視化を試みたものの目的とする現象は認識できなかった。一方、共培養実験の過程で、低温かつ水中の培養条件下にて、変形菌の孢子に侵入を試みているような小さな構造が観察された。その侵入時の姿は直径がシスト様構造より小さく、シスト壁に特徴的な構造も見られなかったことから、シストの状態から脱し変形菌の細胞内あるいは細胞外で細胞を分裂させ、より小型となった生活環ステージにおいて感染する可能性が考えられる。しかし観察数は少なく、この菌類の感染様式や増殖様式について、さらなる調査研

究が必要である。

本研究の結果より、この現象は頻度こそ高くないものの特定の環境下において定常的に起こっていることが考えられた。また本菌は、変形菌の中でも好雪性変形菌が確認されるような根雪の融雪下といった水分の多い低温環境を好む生態を持ち、水中で変形菌に感染する可能性が示唆された。変形菌は一般に、細菌や菌類といった分解者の捕食者であるとされるが、実際の自然界における生物間の関係性はより複雑であると考えられる。本研究で確認された現象は、特定の環境条件にて生活環を一巡させることが可能な変形菌のグループに対して基部系統群に位置する菌類が寄生することを示しており、自然界における変形菌と周辺生物との関係性が多様であることを示す一例であると言える。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shchepin Oleg, Novozhilov Yuri, Woyzichovski Jan, Bog Manuela, Prikhodko Ilya, Fedorova Nadezhda, Gmshinskiy Vladimir, Borg Dahl Mathilde, Dagamac Nikki H. A., Yajima Yuka, Schnittler Martin	4. 巻 31
2. 論文標題 Genetic structure of the protist <i>Physarum albescens</i> (Amoebozoa) revealed by multiple markers and genotyping by sequencing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Ecology	6. 最初と最後の頁 372 ~ 390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mec.16239	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yajima Y, Seto K, Degawa Y, Inaga S, Hoshino T.
2. 発表標題 New intracellular fungal parasite of snowbank myxomycetes.
3. 学会等名 Biology of Winter Gordon Research Conference (Accepted, postponed until 2022 due to COVID-19) (国際学会)
4. 発表年 2020年 ~ 2022年

1. 発表者名 矢島由佳
2. 発表標題 変形菌子実体形成過程における自浄作用.
3. 学会等名 日本菌学会第64回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢島由佳, 石田大祐, 瀬戸健介, 出川洋介, 稲葉重樹, 星野保
2. 発表標題 好雪性変形菌 <i>Lamproderma</i> 属種に細胞内寄生する菌類
3. 学会等名 日本菌学会第63回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三浦 翔太, 矢島 由佳
2. 発表標題 変形菌に寄生する祖先的菌類の新しい宿主の報告
3. 学会等名 日本原生生物学会第54回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuka Yajima
2. 発表標題 Snowbank myxomycetes (true slime molds): a nest of cryptic microorganisms under snow cover.
3. 学会等名 Biology of Winter (国際学会)
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------