

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06792

研究課題名（和文）ディスコーバ生物群の真の多様性把握と祖先真核細胞像のより正確な推定

研究課題名（英文）Taxonomic studies on novel discobids for more precise understanding of their diversity and the form ancestral eukaryotic cell.

研究代表者

矢吹 彬憲 (Yabuki, Akinori)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・地球環境部門(海洋生物環境影響研究センター)・グループリーダー

研究者番号：20711104

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）：本課題において主要研究対象であったYPF-PP株は、少なくとも新亜門相当の新規ディスコーバ生物であった。YPF1504株は、解析の結果、ディスコーバ生物ではないものの同様に初期分岐系統の一つであるアプソモナディダ目の未記載種であることが判明しPodomonas kaiyoaeとして記載報告するに至った。また、真核生物全体の系統分岐関係の把握に向けた解析からは、ディスコーバの系統的位置の把握に加え、新規巨大生物群の検出に成功し、その報告と新たな呼称を提唱することができた。新規ディスコーバ生物を探索する過程で、創出した培養株からこれまでに原生生物から報告のなかったウィルスを検出し報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

確立した培養株を用いた系統分類学的研究から、人類および地球という惑星における資源・資産である生物多様性に関する情報を更新する成果を創出することができた。特に、YPF-PP株に関する研究で把握した鞭毛周辺構造とその近縁生物種との比較からは、それらの特徴が真核生物進化の初期から存在していた可能性を見出した。これらの知見は、地球史における一大未解明事案である真核生物の初期進化、特に祖先真核細胞の姿形に迫る成果となっている。そこから、生物の多様性や進化のより正確な理解に貢献するだけでなく、真核細胞が元来有していた機能に関する理解の深化にも貢献するに至った。

研究成果の概要（英文）：The strain YPF-PP, which was one of the main targets in this research project, was identified as an undescribed species belonging to a novel subphylum in Discoba by molecular analyses and morphological observation. The strain YPF1504 was described as a new species in Apusomonadida, which was also one of the early branching eukaryotic lineages. It had been suggested as a member of Discoba in the initial observation, but it turned out that it was an apusomonad. The large-scale phylogenetic analysis was conducted to understand the phylogenetic position of Discoba as well as the whole eukaryotic relationship, and based on this result, a novel eukaryotic assembly was proposed. A novel nanovirus was also detected and reported from the one protist strain that was established in this research project.

研究分野：進化原生生物学

キーワード：系統分類 多様性 微細構造 原生生物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

地球上に生息する生物は、真核生物、古細菌、真正細菌の3グループに大別でき、真核生物は我々ヒトに代表される多細胞動物から、植物やアメーバなど広範な生物を含む巨大生物群である。真核生物は、他の二つの生物群と比較し、核やミトコンドリアといった細胞内小器官を含む複雑な細胞構造をもち、捕食や細胞内消化に代表される多様な運動能と細胞機能を有している。近年の解析から、真核生物は古細菌の中から生じたことが明らかになりつつあるが、現存する古細菌と真核生物の間にはその細胞構造の複雑さにおいて大きな隔たりがあり、真核細胞の成立や初期進化に関しては未だ多くのことがわかっていない。この生物進化における一大ミステリーをより詳細に明らかにするためのアプローチの一つとして、現存する真核生物の中で特に祖先的と考えられる生物群であるディスコーバ生物群の多様性情報にもとづき、そこから祖先型を類推する手法が想定できるが、ディスコーバ生物群には未だ詳細がわかっていない複数の系統が存在していることが環境DNA解析等から示唆されていた。それらの系統を含めた真のディスコーバ生物の多様性が明らかにすることは、真核生物の真の多様性理解のために重要なだけでなく、真核細胞の祖先形態の類推に資する知見が得られる可能性があることから、その実効が期待されていた。

2. 研究の目的

多様性の理解が未だ十分ではないディスコーバ生物群に所属する原生生物およびその近傍、あるいは真核生物進化の比較的初期に分岐した原生生物を対象に系統分類学的な研究の実施を目指した。具体的には、海水や海底泥などを対象に、対象生物の探索と単離培養株の確立を行い、得られた培養株を用いた詳細な形態観察と系統的位置の推定を実施し、各培養株の分類学的取り扱いを検討するとともに得られた情報から生物進化、特にディスコーバ生物および真核生物の祖先形態の類推を目指した。

3. 研究の方法

海洋研究開発機構が実施した研究航海や自身で行ったサンプリングによって、海水や海底泥等の試料を収集した。試料は、過去に行われた環境DNA解析や研究代表者らによる予備的な観察から、未同定のディスコーバ生物が含まれている可能性が高いものを優先的に用いた。試料は、これまでに多様な原生生物の培養株化に実績のある Hemi, KLB, CeroK 等の複数培地を用いた。粗培養過程で出現した原生生物は倒立顕微鏡下で観察し、マイクロキャピラリーを用いて単離することで培養株として確立した。確立した培養株は、一般的な方法でDNA抽出を行い、18SrRNA 遺伝子情報にもとづく系統的位置を推定するとともに、高い新規性が確認された株については次世代シークエンサーを用いた網羅的な分子情報の収集とそれに基づく大規模分子系統解析を実施した。また、各培養株は光学顕微鏡下の観察に加え、新規性に応じて透過型電子顕微鏡および走査型電子顕微鏡の観察を行い、細胞内部構造、特に鞭毛装置に代表される細胞骨格構造と細胞表面の構造把握を実施した。また得られた情報を活用し、真核生物全体の系統分岐関係を大規模分子系統解析によって推定した。一部の培養株は、真核生物におけるウィルス感性の実態解明に向けた研究にも活用した。一連の研究で得られたデータを精査することで、ディスコーバ生物群の多様性とその初期形態像の推定を行った。

4. 研究成果

本研究課題の中で合計13株の原生生物を新たに培養株として確立することに成功した。これらの株に加えて、過去に確立済みであった培養株を対象として研究を展開した。予備的な研究から新規ディスコーバ生物であることが確認されていた YPF-PP 株については、ミトコンドリアゲノムの完全解読と大規模分子系統解析によるディスコーバ内での系統的位置の解明、鞭毛装置構造の把握を含む微細構造情報の収集を行った。その結果、YPF-PP 株は、1) ディスコーバ生物群のサブグループであるユーグレノゾアに特徴的な盤状のミトコンドリアクリステを持つこと、2) ユーグレノゾア生物群の特徴とされている他の形態形質、例えば、鞭毛の付属小毛や鞭毛付属構造であるパラキシアルロッド、棒状の射出装置、などは欠くこと、3) 3本の微小管性鞭毛根と1 fiber からなる細胞骨格構造を持ち、ユーグレノゾアと他のディスコーバ生物の中間的な構造であること、が確認された。これらの観察結果は、分子配列情報解析から、1) YPF-PP 株がユーグレノゾア生物群の外側から分岐すること、2) ユーグレノゾア生物群のミトコンドリアゲノムの特徴である断片化した遺伝子がみつからないこと、からも整合的であり、YPF-PP 株は、ユーグレノゾア生物群の姉妹群に当たる新規ディスコーバ生物であり、新門もしくは新亜門相当であるとの結論を得た (Yabuki et al. 準備中)。ディスコーバ生物群の新たな分子情報を含めた大規模分子系統解析からは、真核生物ドメイン内の新たな巨大系統を認識することがで

きた。当該系統は、一次植物・クリプチスタ生物群・*Microheliella maris* から構成されており、本解析以前までは有意な統計的支持が得られていないものであった。これは、当該解析で新たに複数の新規生物群の情報を加えたことで、分子系統解析における解像度の上昇が促された結果として得られた成果であり、その新規生物群名の提唱とともに、生物進化を議論する上で重要なバックボーン情報としてその系統分岐関係を報告した (Yazaki, Yabuki et al. 2022a)。また、合わせて完全解読に至った初期分岐真核生物の 1 種である *M. maris* のミトコンドリアゲノムについても報告することができた (Yazaki, Yabuki et al. 2022b)。さらに確立した培養株を用いた副次的な成果として、ストラメノパイルに属す原生生物より新規ナルナウイルスに由来する配列を検出し、報告することができた (Chiba et al. 2023)。本成果は、真核生物ドメイン内におけるウイルス感染の実態とウイルス多様性に迫るものであり、原生生物の多様性把握を主目的とする本課題の成果に基づき、近い将来に進展する課題を前倒しで実施できた成果となっている。さらに、ディスコーバ生物のみならず多様な真核微生物においても適応可能な、多様性と存在量を同時に推定可能な新たな環境 DNA 解析手法の構築し公表した (Yabuki, Hoshino et al. 2024)。これら一連の成果は、ディスコーバ生物の多様性のみならず真核生物の初期分岐系統の多様性の理解を大きく推し進める成果となっており、本課題は当初の予定を超えて進展したと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yabuki Akinori, Tame Akihiro, Mizuno Keiko	4. 巻 70
2. 論文標題 Podomonas kaiyoe n. sp., a novel apusomonad growing axenically	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Eukaryotic Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jeu.12946	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 -
1. 著者名 Chiba Yuto, Yabuki Akinori, Takaki Yoshihiro, Nunoura Takuro, Urayama Syun-ichi, Hagiwara Daisuke	4. 巻 38
2. 論文標題 The First Identification of a Narnavirus in Bigyra, a Marine Protist	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbes and Environments	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1264/jsme2.ME22077	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 -
1. 著者名 Yazaki Euki, Yabuki Akinori, Nishimura Yuki, Shiratori Takashi, Hashimoto Tetsuo, Inagaki Yuji	4. 巻 10
2. 論文標題 Microheliella maris possesses the most gene-rich mitochondrial genome in Diaphoretickes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fevo.2022.1030570	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 -
1. 著者名 Yazaki Euki, Yabuki Akinori, Imaizumi Ayaka, Kume Keitaro, Hashimoto Tetsuo, Inagaki Yuji	4. 巻 12
2. 論文標題 The closest lineage of Archaeplastida is revealed by phylogenomics analyses that include <i>Microheliella maris</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Open Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsob.210376	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 -

1. 著者名 Yabuki Akinori, Hoshino Tatsuhiko, Nakamura Tamiko, Mizuno Keiko	4. 巻 13
2. 論文標題 The copy number of the eukaryotic rRNA gene can be counted comprehensively	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 MicrobiologyOpen	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mbo3.1399	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 -

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 2件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 矢吹彬憲
2. 発表標題 真核生物の大系統と初期細胞像の理解
3. 学会等名 国立環境研究所 所内セミナー(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢吹彬憲, 藤井千早, 大林由美子, 高尾祥丈
2. 発表標題 新規アセトスポラ綱原生生物が持つミトコンドリアRNA編集
3. 学会等名 第5回日本共生生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akinori Yabuki
2. 発表標題 Expanding Cryptista, illuminated by the study of <i>Microheliella maris</i> .
3. 学会等名 ESOP 2(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yabuki A., Fujii C., Yazaki E., Tame A., Mizuno K., Obayashi Y., Takao Y.
2. 発表標題 Mitochondrial RNA editing in ascetosporean amoebae.
3. 学会等名 IX European Congress of Protistology & Annual Congress of the International Society of Protistologists (ECOP/ISOP 2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 矢崎 裕規・新倉 保・猪飼 桂・矢吹 彬憲・永宗 喜三郎・松崎 素道・白鳥 峻志・島野 智之・小林 富美恵	4. 発行年 2023年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 452
3. 書名 原生生物学事典	

〔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
研究分担者	白鳥 峻志 (Shiratori Takashi) (70800621)	筑波大学・生命環境系・助教 (12102)	
研究分担者	石田 健一郎 (Ishida Ken-ichiro) (30282198)	筑波大学・生命環境系・教授 (12102)	

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