

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：12604

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23540545

研究課題名(和文) 原生生物放散虫の被殻成分の進化とその起源

研究課題名(英文) Evolution and origin of the chemical composition of radiolarian test during geologic time scale

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：polycystine放散虫の遊走子を、SSU rDNA，光学および電子顕微鏡を用いて解析した。遊走細胞は、2つの鞭毛を備えた5～10 μmの西洋ナシのような形をしており、油滴や液胞に囲まれたSrSO₄の結晶が細胞質中に存在することがわかった。これらのことは、SiO₂の骨殻をもつpolycystineとSrSO₄の骨殻をもつacantharialに共通の祖先があったことを示す。一方、放散虫に共生する渦鞭毛藻をGymnodiniumの新種と同定した。この結果は、少なくとも放散虫が2つの共生体をもち、それらが19世紀以来Zooxanthella nutriculaとして混同されてきたことを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Reproductive swarms of the polycystine radiolarians were examined using light, scanning and transmission electron microscopy. The swarmer cells were about 8 μm in length with a pear-like shape and a conical end with two flagella. Lipid droplets and characteristically a vacuole-bound SrSO₄ crystal were present in the cytoplasm. The morphological features and molecular phylogeny of the reproductive swarms show evidence of ancestral traits of radiolarians; acantharians and polycystines have a common ancestry. Symbiotic dinoflagellate isolated from polycystine radiolarians was described using both natural and cultured materials. Motile cells were obtained in culture showed unarmored nature and the characteristics suggested it as Gymnodinium. Our results suggest that at least two dinoflagellate symbiont species existed in the radiolarians and they have been possibly reported as "Zooxanthella nutricula" since the 19th century.

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 硫酸ストロンチウム シリカ 骨殻 被殻 共生藻 渦鞭毛藻

1. 研究開始当初の背景

海洋浮遊性原生生物である放散虫は、堅固な非結晶シリカの殻をもつポリキスティネアおよび硫酸ストロンチウムの殻をもつアカンサリアの2つの系統からなる。これらの骨殻はどちらも複雑で多様な形態を持っており、このような骨殻構造が生体内でどのような過程で、またどのような機構が働いてつくられているのかなど未知の部分も多い。

海洋における生物遺骸の生産量は、円石藻、有孔虫、珪藻などについて放散虫が多いとされ、なかでも、レアメタルであるストロンチウムを主たるバイオミネラルとして利用している生物群はアカンサリアの他には例がない(腕足類等で海中のストロンチウムがその殻形成に重要な役割を担っている事例などが報告されているだけである(たとえば Bidwell et al. 1985, Biol. Bull. 170, 75-90))。さらにポリキスティネアにおいても、遊走子にはその細胞内に硫酸ストロンチウムの結晶をもつことが報告されており (Anderson 1981, Silicon and Siliceous Structures in Biological Systems, 347-380), 生物圏のストロンチウム循環に放散虫は重要な役割を演じているものと考えられる。

分子系統上で放散虫の系統の初期に分岐するアカンサリアとポリキスティネアがその発生初期に硫酸ストロンチウムの結晶をもつことは、両者共に硫酸ストロンチウムを固定する能力があり、とくにポリキスティネアは成長の段階で硫酸ストロンチウムからシリカへと骨殻形成に使う成分の発現をスイッチさせている可能性が考えられる。これら骨殻形成の進化やその生物学的なしくみを明らかにすることは、生物圏のシリカやストロンチウムの循環を考察する上で重要な知見をもたらすものと考えられる。

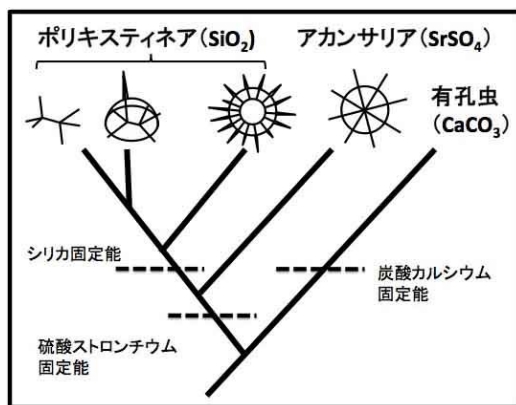


図 SSU 分子系統樹と骨殻成分獲得のタイミング

2. 研究の目的

Anderson (1983) をはじめ、アカンサリアの EDS 解析や溶解実験 (Simmen et al. 2009, Bull. Tokyo Gakuji Univ. 61, 55-62),

連携研究者の松岡によるポリキスティネアの殻形成過程の報告 (Matsuoka 1992, Mar. Micropaleontol., 19, 287-297) などにより、放散虫の骨殻形成過程については少しずつ明らかにされてきているが、「放散虫の殻の形成をコントロールしているものは何なのか?」については未だ不明のままである。

同じ原生生物である珪藻においては、シリカを生物体内で生成する能力にシリカ骨殻の形態制御に関するタンパク質である silicatein や silaffin などが関わっていることが指摘されている (Kroger et al. 2002, Science 298, 584-586)。このようなシリカ固定能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、珪藻、海綿、有殻アメーバなど)、これら真核原生生物の 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、それら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を示唆する。

そこで、本研究では、アカンサリアの殻の溶解過程やシスト形成 (硫酸ストロンチウム固定) 過程の観察などから、アカンサリアが死後すぐに溶解する殻をどのように次世代が再利用するのか、また、どのようなしくみでストロンチウムのような微量成分を濃集させるのかなどを明らかにしたい。さらには、ポリキスティネアはもちろんのことアカンサリアについてもそれらの cDNA ライブラリの作成から、silicatein や silaffin などをコードしている遺伝子を探索し、アカンサリアもシリカ固定能を潜在的に持つのかなど、真核生物におけるバイオミネラリゼーションの進化を探ることを目的とする。

3. 研究の方法

飼育実験と位相差顕微鏡による観察から、アカンサリアの骨殻の溶解とシスト形成、それに続く遊走子の放出という生活環の一部を観察し、硫酸ストロンチウムの殻溶解や形成の過程を明らかにする。ポリキスティネアについても同様に遊走子の観察をおこない、そこから硫酸ストロンチウムの生体における役割を考察する。また、アカンサリアの殻断面やポリキスティネアの遊走子を走査型電子顕微鏡や透過型電子顕微鏡で観察、同時にエネルギー分散型 X 線分光装置 (EDS) 等を用いて観察・分析をおこない、硫酸ストロンチウム殻の形成の抑制要因や促進要因および、放散虫が遊走子の段階で硫酸ストロンチウムの微小結晶を保持しているのか、成長によってその結晶は維持されるのかについて明らかにする。

1) 生態学的なアプローチ: アカンサリアにおいては骨殻の溶解、シストの形成、遊走子の放出という生活環の一部を観察。SrSO₄

の殻の溶解や形成のしくみを明らかにする。

2) 形態学的なアプローチ: ポリキスティネアの遊走子の超薄切片観察およびEDS解析から、遊走子のステージでのSrSO₄の存在の有無とそのふるまいについて明らかにする。

3) 分子系統学的なアプローチ: ポリキスティネアおよびアカンサリアとそれらの遊走子、さらに共生体のcDNAライブラリを作成し、そこからsilicateinおよびsilaffinをコードしている遺伝子部位を探索する。

4. 研究成果

放散虫数種の遊走子と共生体の電子顕微鏡観察および遺伝子解析を行い、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、放散虫の微細構造および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でサンプリングした *Sphaerozoum punctatum*, *Acanthodesmia vinculata*, *Euchitonia elegans*, および *Pterocanium praetextum* の4種である。これらの遊走細胞は、2つの鞭毛を備えた5~10 μmの大きさの西洋ナシのような形をしており、核・ミトコンドリア・ゴルジ体・油滴、および液泡に囲まれた単一で大きなSrSO₄の結晶が細胞質の中に存在することがわかった。これらの遊走子の形態(とくに内包したSrSO₄結晶)および分子系統は、SiO₂の骨殻をもつ polycystine が、同じSrSO₄の骨殻をもつ acantharia との共通祖先が存在したことを示す。

一方、polycystine 放散虫に共生する渦鞭毛藻を *Gymnodinium* の新種と同定した。培養して得られた渦鞭毛藻の運動性細胞は非装甲であり、広義の *Gymnodinium* の特性である段差のついたcingulumと、核膜にnuclear chamberが、左回りの馬蹄形をした頂点の溝をもっていた。さらに、分子系統解析では、広義の *Gymnodinium* のクレードにそれが属することを示し、この結果は、少なくとも放散虫は2つの渦鞭毛藻の共生体 (*Brandtodinium nutricula* および *Gymnodinium* sp.) をもち、それらが19世紀以来「*Zooxanthella nutricula*」として混同されて報告されてきたことを示唆するものとする。

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2件)

Tomoko Yuasa, Osamu Takahashi, Ultrastructural morphology of the reproductive swimmers of *Sphaerozoum punctatum* (Huxley) from the East China Sea.

10.1016/j.ejop.2013.12.001

European Journal of Protistology 50, 194-204, 2014. 査読有

Tomoko Yuasa, Takeo Horiguchi, Shigeki Mayama, Atsushi Matsuoka, Osamu Takahashi, Ultrastructural and molecular characterization of cyanobacterial symbionts in *Dictyocoryne profunda* (Polycystine radiolaria). 10.1007/s13199-012-0174-2 *Symbiosis* 57 51-55, 2012. 査読有

[学会発表](計2件)

Ultrastructural and molecular characterization of cyanobacterial endosymbionts in polycystine radiolarians.

Osamu Takahashi, Tomoko Yuasa, Takeo Horiguchi, Protist 2012, Oslo, Norway.

Ultrastructure and molecular phylogeny of dinoflagellate symbiont from solitary polycystine radiolarian. Tomoko Yuasa, Takeo Horiguchi, Osamu Takahashi, Protist 2012, Oslo, Norway.

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 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

(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・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・教授
研究者番号：40222103