# 科学研究費助成事業 研究成果報告書



平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号: 17102 研究種目: 基盤研究(C) 研究期間: 2011~2013

課題番号: 23570118

研究課題名(和文)ヒドラとクロレラの共生の系統・進化学的解析

研究課題名(英文) Evolutional and phylogenetic analysis of the symbiosis between hydra and chlorella

#### 研究代表者

小早川 義尚 (Kobayakawa, Yoshitaka)

九州大学・基幹教育院・教授

研究者番号:20153588

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,500,000円、(間接経費) 1,350,000円

研究成果の概要(和文): ヒドラ属に属するクロレラを細胞内共生させているviridissimaグループのヒドラ(グリーンヒドラと総称されている)用いて、宿主のヒドラの分子系統のトポロジーと共生クロレラの分子系統のトポロジーが一致すること、共生クロレラが出芽による無性生殖・配偶子形成を伴う有性生殖いずれの場合でも垂直伝播することを明確にし、その起源の年代やその後の進化等について考察を行った。その結果、グリーンヒドラとクロレラの共生は、パンゲア大陸が分裂する以前に起こり、その後宿主であるグリーンヒドラと共生体であるクロレラが世界中に分布を広げながら共進化してきたという説を提起した。

研究成果の概要(英文): We reconstructed molecular phylogenetic trees of several strains of symbiotic chlo rella harbored in the endodermal epithelial cells of viridissima group hydra strains and investigated their congruence with the molecular phylogenetic trees of the host hydra strains. We also confirmed the vertical transition of the symbiotic chlorella through the both reproduction process, asexual budding and the oogenesis in the sexual reproduction. Based on the results, we proposed following hypothesis; Symbiosis with chlorella occurred once in ancestral viridissima group Hydra species, and once established, symbiosis has been conservative in nature and has continued over a long term with occasional cospeciation. We also suspected that the symbiosis between hydra and chlorella have its origin in the age before the breakup of Pangaea.

研究分野: 生物学

科研費の分科・細目: 基礎生物・進化生物学

キーワード: symbiosis green hydra chlorella brown hydra chlorococcum

## 1.研究開始当初の背景

クロレラと安定した共生を行っている viridissima グループのヒドラ(グリーンヒ ドラ)については、これまで生理学的な面から の研究がいるいると報告されているが、系 統・進化学的な研究はほとんどなかった。グ リーンヒドラとクロレラの間で相互に糖や アミノ酸のやりとりがあること、クロレラの 共生によってグリーンヒドラが飢餓に対す る耐性や重金属に対する耐性を増すこと等 が報告されていた。一方、viridissima グルー プに属するヒドラは、ヨーロッパ、北米、南 米、アジア、オーストラリアなどほとんど世 界中に分布していることが報告されている が、その系統進化学的研究・共生の起源につ いての研究はあまり進んでいなかった。4系 統の viridissima グループのヒドラを材料に 共生しているクロレラのリボゾーマル遺伝 子の塩基配列の解析から共生が複数回起こ ったとする報告 (Huss et al.1993) と自由生 活クロレラを人為的に共生クロレラが除去 されたヒドラへ再導入する実験によるクロ レラと宿主ヒドラとの種特異性についての 研究報告 (Kessler et al.1988) があるくらい であった。

そこで、申請者らは、遺伝学研究所に維持されていたグリーンヒドラ8系統を材料に、宿主のヒドラと共生緑藻クロレラの分子系統的解析を同時に行い、またその細胞内共生状況の形態学的観察等も行うことにより、ヒドラと緑藻の共生の進化過程の解析を始めていた。

# 2.研究の目的

刺胞動物が動物の進化のごく初期に動物界の大部分を占める左右相称動物から分岐した姉妹群に当たることから、刺胞動物における共生の起源を探ることは、動物全体における共生の研究に重要なものと考えられる。そこで、本研究では、淡水産の刺胞動物に属

するグリーンヒドラ(内胚葉の細胞内に緑藻を共生させているヒドラ)を材料に用いて、塩基配列情報に基づく系統解析を中心に集団遺伝学的解析や共生藻の有無による個体・細胞レベルでの適応度の差異の推定を行い、ヒドラと緑藻との共生の進化過程を明らかにすることを目的とした。

# 3.研究の方法

グリーンヒドラ種群内の系統関係をミトコンドリア DNA・核 DNA (nanos、EF1a) の塩基配列情報を基に推定し、グリーンヒドラに共生する緑藻間の系統関係は葉緑体 DNA である rbcL・核 DNA (18SrDNA)の塩基配列情報を基に推定し、両者を比較解析することにより共生の起源の回数・時期などを推定した。

次に、グリーンヒドラから共生緑藻を除去しそこへ他系統のグリーンヒドラから抽出した緑藻を移植することによって、共生緑藻-宿主ヒドラ間の種特異性について解析しその結果から共生の起源、変遷について考察した。さらに、様々な環境条件下における共生緑藻の有無によるヒドラの適応度の変化を測定し、進化的に安定した共生関係の成立条件の検討を行った。また、ヒドラにおける実験形態学的手法の蓄積を利用し、組織移植実験により共生緑藻の有無による個体内における細胞レベルでの適応度の差異を測定し、共生の成立条件・初期過程について考察を深めた。

### 4. 研究成果

ヒドラ属に属するクロレラを細胞内共生させているviridissima グループのヒドラ6系統とそのうちの2系統から共生クロレラを除去した2系統のヒドラを用いて、宿主のヒドラの分子系統のトポロジーと共生クロレラの分子系統のトポロジーが一致すること、共生クロレラが無性生殖・有性生殖いず

れの場合でも垂直伝播することを明確にし、その起源の年代やその後の進化等について考察を行って論文,(Symbiosis between hydra and chlorella: Molecular phylogenetic analysis and experimental study provide insight into its origin and evolution. Kawaida, Hitomi; Ohba, Kohki; Koutake, Yuhki; Shimizu, Hiroshi; Tachida, Hidenori; Kobayakawa Yoshitaka. MOLECULAR PHYLOGENETICS AND EVOLUTION vol.66: 906-914) にまとめ発表した。

また、有性生殖時に共生クロレラが経卵的に垂直伝搬する過程を LSM を用いての観察等によって詳細に明らかにすることができた。更に、viridissima グループのヒドラ間では、人為的な共生クロレラの交換が比較的自由に可能で、その新しい共生関係が長期に渡って維持されることと共生クロレラが宿主の有性生殖に影響を与えることも明らかになりつつある。

さらに、vulgaris グループに属する複数のヒドラの系統においてクロロコッカムとの共生が起こり、長期にわたって維持されることやその共生クロロコッカムがヒドラ間を水平伝搬することも明らかになりつつある。

これらの成果は、上記論文での公表と同部 局確認用時に国内外の学会等においても発 表を行ってきた。

# 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 1 件)

Kawaida, Hitomi; Ohba, Kohki; Koutake, Yuhki; Shimizu, Hiroshi; <u>Tachida,</u> <u>Hidenori; Kobayakawa Yoshitaka</u>. Symbiosis between hydra and chlorella: Molecular phylogenetic analysis and experimental study provide insight into its origin and evolution. 2013
MOLECULAR PHYLOGENETICS AND EVOLUTION.
查読有, Vol.66
p.906-914.
10.1016/j.ympev.2012.11.018

# [学会発表](計 8 件)

YAMAGUCHI, J. AND KOBAYAKAWA, Y., VERTICAL TRANSMISSION OF SYMBIOTIC CHLORELLAEIN GREEN HYDRA.,
2013年09月, International Workshop
"Unravelling the Developmental
Regulatory Network in Early Animals",
Evangelische Akademie Tutzing,
Germany.

Ohba, K., <u>Tachida, H.</u>, <u>Kobayakawa,Y.</u>, Population structure of Hydra magnipapillata within and between ponds -s a pond population clonal or not?-., 2012年3月、日本生態学会第59回全国大会,大津

Kawaida H, Ohba K., Shimizu H, Fujisawa T, <u>Tachida H</u>, and <u>Kobayakawa Y</u>. Molecular phylogenetic study in genus Hydra.
2011 年 09 月, International Workshop "Searching for Eve: basal metazoans and the evolution of multicellular complexity",

Evangelische Akademie Tutzing, Germany

Ohba K., Koutake Y., Kawaida H., Shimizu H., <u>Tachida H</u>., and <u>Kobayakawa Y</u>. Molecular phylogenetic study on green hydra and its symbionts, Chlorella species. 2011年09月, International Workshop "Searching for

Eve: basal metazoans and the evolution of multicellular complexity", Evangelische Akademie Tutzing, Germany.

神武祐紀、<u>小早川義尚</u>、クロレラの再導入実験による宿主グリーンヒドラと共生クロレラの種特異性についての検討、2011年09月、日本動物学会第82回大会、旭川

笹原大輔、<u>小早川義尚</u>、グリーンヒドラの配偶子形成過程における mRNA5'Cap metyl-transferase(CMet )の発現、2011年09月、日本動物学会第82回大会、旭川

小川耕佑、<u>小早川義尚</u>、ヒドラの刺胞芽 細胞特異的に発現する新規遺伝子につい て、2011 年 09 月、日本動物学会第 82 回 大会、旭川

山口淳也、<u>小早川義尚</u>、グリーンヒドラの触手過剰変異体の解析、2011 年 09 月、日本動物学会第 82 回大会、旭川

[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

小早川 義尚 (KOBAYAKAWA YOSHITAKA)

九州大学·基幹教育院·教授

研究者番号:20153588

(2)研究分担者

舘田 英典(TACHIDA HIDENORI)九州大学・理学研究院・教授

研究者番号:70216985

(3)連携研究者

( )

研究者番号: