

複数遺伝子によるクロララクニオン藻の系統解析

清水 天馬 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 石田 健一郎 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

クロララクニオン藻は捕食性原生生物と緑藻との二次共生によって葉緑体を獲得した海産単細胞真核生物の一群である。細胞は基本的にアメーバ性質をもつが、1本の鞭毛が細胞を螺旋状にとりまいて遊泳する遊泳性の種や、細胞壁をもつ球状の種も存在するなど、生活環は複雑で多様である。細胞内共生した緑藻由来の葉緑体には、ヌクレオモルフという縮小した共生藻の核が消失せずに残っており、二次共生の中間ステージを示す例だと考えられている。そのため二次共生を介した葉緑体獲得の進化を解明する上で重要な生物群の一つとして注目されている。また、本藻群は1984年にその存在が認識され、それ以来8属14種が記載されてきた。これらの系統関係は主に18SrDNAの分子系統解析によって推定され、各属の単系統性は強く支持されている。一方、属間の系統関係については強い統計的支持のある結果は得られておらず、本藻群における属より上位の科、目レベルの分類は大きくたち遅れている。本研究では、クロララクニオン藻における高次分類体系整備のための基礎データの一つとして、核コードの18SrDNA、28SrDNAの塩基配列とHSP90のアミノ酸配列を用いた複数遺伝子による系統解析を行い、属間の系統関係を明らかにすることを目的とした。

方法

系統解析に用いた一部の種の18SrDNAの塩基配列と28SrDNAの塩基配列、HSP90アミノ酸配列については、データベースに既に登録されているものを用いた。

SRT040株の18SrDNA配列は白鳥峻志氏より、*Chlorarachnion reptans*、*Amorphochlora amoebiformis*、*Lotharella globosa*、*Bigelowiella natans*のHSP90配列は平川泰久博士より、*Gymnochlora stellata*、*Gymnochlora dimorpha*のHSP90配列は矢吹彬憲博士より未発表のデータを提供いただいた。

28SrDNAの配列決定についてはOta et al.(2009)で用いられたクロララクニオン藻核コード28SrDNAプライマーを用いてPCR、シーケンスを行うことにより配列決定した。

HSP90の配列決定に関しては既知HSP90配列より特異的プライマーを設計し、PCR、シーケンスを行うことにより配列決定した。

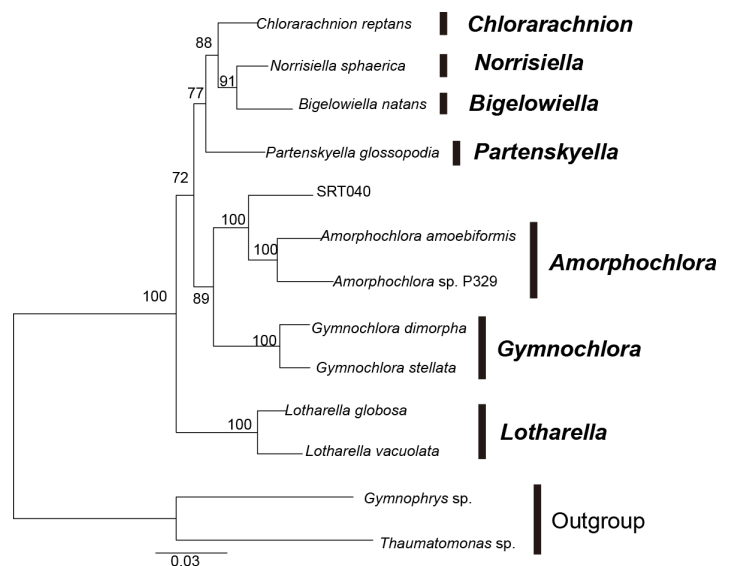
28SrDNA、18SrDNA、HSP90の複数遺伝子データセットを作成し、RAxML (ver.7.2.6)により計算、最尤系統樹を作成した。

結果と考察

本研究では、クロララクニオン藻SRT040株の28SrDNAとHSP90の配列、*Partenskyella glossopodia*、*Amorphochlora* sp. P329、*Lotharella vacuolata*、*Norrisiella sphaerica*のHSP90の配列を新たに取得した。これらの配列とデータベースや他研究者から取得した配列を用いて、複数遺伝子系統解析を行なった。

得られた系統樹(図1)から、複数種の配列を解析に用いた属(*Amorphochlora*、*Gymnochlora*、*Lotharella*)は、これまでの18SrDNAによる系統解析結果と同様に、それらの属の単系統性が強く支持された。一方、18SrDNA配列を用いた先行研究において系統的な位置が定まっていなかった*Lotharella*属の位置は、今回の解析では既知のクロララクニオン藻の中で最初に分岐したことが、ある程度の統計的支持(72%)で示唆された(図1)。また、その他のクロララクニオン藻は大きく2つの系統(*Amorphochlora*/*Gymnochlora*/SRT040系統と*Partenskyella*/*Chlorarachnion*/*Norrisiella*/*Bigelowiella*系統)に分かれることも、それぞれ89%、77%のブーツストラップ値で示唆された(図1)。

今回、クロララクニオン藻において初めて上記3つの高次系統群の存在が示唆された。得られた系統関係に基づくと、それら3つの系統群に対応する科あるいは目の高次分類群の設立が検討される。しかし、*Lotharella*属のみからなる系統群を除く他の2つの系統群には、それぞれを特徴づける明確な共有派生形質と呼べる特徴は見つかっていない。加えて、各系統群の統計的支持も十分とはいえないことを考えると、今回の分子系統解析の結果のみで分類学的な結論を出すのは次期尚早と思われる。今後、今回示唆された3つの系統群について、明確な共有派生形質がないか、詳細な検討を行うとともに、さらに頑健な系統樹の構築を目指して解析に加えるOUTと遺伝子数の増加をはかる必要がある。



(図1) クロララクニオン藻核コード28SrDNA、18SrDNA、HSP90を用いた最尤系統樹
BP値は100回反復により計算
28SrDNA、18SrDNAの塩基配列(4481bp)はGTR+Γモデルを用いて、HSP90のはアミノ酸配列(660aa)列はをLG+F+Γモデルを用いて、RAxMLにより計算