

高度セシウム吸収藻 nak-9 の分類学的位置

中村 篤史 (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・目的

20 世紀末に、中山剛博士により事務用液体糊から緑色の単細胞藻が単離・培養された (nak-9 株)。本藻は、2011 年の東日本大震災以後に行われた、藻類による放射性物質回収試験によって水溶液中の放射性セシウムの高効率吸収・除去能が示され、放射性物質除去剤の 1 つとして特許出願された。予備的な観察により、nak-9 株は真正眼点藻綱に属すると考えられたが、詳細な系統・分類学的研究は未だ行われておらず、nak-9 株の分類学的位置は明らかになっていない。

真正眼点藻綱は 1971 年に黄緑色藻綱から独立分離して設立された分類群である。真正眼点藻綱の主な特徴として、葉緑体はクロロフィル *c* やガードルラメラを欠き、葉緑体 ER が核膜に連続しない、ときに突出型ピレノイドをもつ、細胞質に層状の貯蔵物質を含む小胞 (lamellate vesicle) をもつ、遊走子は細胞前端に葉緑体とは独立している赤い顆粒の集合からなる眼点をもつ、遊走子の葉緑体にはピレノイドを欠く、といったものがあげられる。自生孢子や遊走子による無性生殖を行い、有性生殖は確認されていない。多くは淡水や陸上に生育するが、海産種も知られる。

本研究では 18S rRNA を用いた分子系統解析と、光学顕微鏡や電子顕微鏡を用いた形態観察により、nak-9 株の系統・分類学的位置を明らかにすることを目的とした。

方法

nak-9 株を、20 °C、明時間 14 時間、暗時間 10 時間の環境下において AF6 培地で培養したものを観察に用いた。透過型電子顕微鏡 (TEM) による超薄切片の観察では、グルタルアルデヒドと四酸化オスmium で二重固定を行った細胞を樹脂包埋し、超薄切片を作成後に酢酸ウランとクエン酸鉛で染色した試料を用いた。分子系統解析には横山亜紀子博士より nak-9 株の 18S rRNA 塩基配列を提供していただき、RAxML を使い、最尤法を用いた系統樹推定を行うと共に、ブートストラップ解析を行った。

結果

真正眼点藻綱内での nak-9 株の系統的位を知るため、18S rRNA 遺伝子塩基配列を用いた分子系統解析を行った結果、真正眼点藻綱は大きく 2 つのクレードにわかれた。nak-9 株は、そのうち *Pseudostaurastrum* や *Goniochloris*、*Trachydiscus* を含むクレードと単系統群を形成した。

光学顕微鏡による形態観察の結果、nak-9 株の細胞は直径 8 - 9 μm 、円形や卵形、楕円形であった (Fig. 1)。細胞は平滑な細胞壁で囲まれていた。細胞の内周に沿うように 1~2 個の緑色の葉緑体が見られ、葉緑体は突出形のピレノイドをもっていた。葉緑体周辺には楕円形~棒状の明瞭な反射性顆粒が多数見られた。細胞質には発達した液泡が存在した。多くの細胞に 1~2 個の赤色の顆粒が細胞質中に見られた。自生孢子により増殖し、遊走子は観察されなかった。1 ヶ月間培養をしたものでは、稀

に細胞直径 30 - 40 μm で多数の葉緑体・赤色顆粒・反射性顆粒を含む巨大な細胞が見られた。

TEM による微細構造観察の結果、細胞周囲には厚さ 50 - 60 nm の明瞭な細胞壁で囲まれていた (Fig. 2)。葉緑体には整然と並んだ三重チラコイドラメラが存在し、ガードルラメラは見られず、また突出形のピレノイドが観察された。細胞質には lamellate vesicle が多数見られた。ミトコンドリアは典型的な管状クリステをもっていた。

考察

18S rRNA 遺伝子に基づく分子系統解析からは nak-9 株が真正眼点藻綱に属することが示され、今回観察された形態的特徴 (ガードルラメラの欠如、突出形ピレノイドや lamellate vesicle の存在など) はこの結果を支持している。真正眼点藻綱内において nak-9 株と形態的に類似するものとして、*Eustigmatos* 属が挙げられる。細胞は球状で細胞表面がなめらかであり、葉緑体が突出形のピレノイドをもつという共通の形態的特徴をもつが、*Eustigmatos* 属では遊走子が見られる点、最尤系統樹で nak-9 株とは別のクレードに属する点で nak-9 株とは異なる。最尤系統樹において nak-9 株と単系統群を形成した *Pseudostaurastrum* は細胞が腕状突起をもつこと、*Goniochloris* は細胞が多角形をしていること、*Trachydiscus* は細胞が円盤状をしていることが nak-9 株と形態的に異なる。以上の分子系統解析、微細構造観察の結果から nak-9 株は真正眼点藻綱の既知の属には当てはまらず、また黄緑色藻綱や緑藻として記載されているものの中にも該当する種がないことから、真正眼点藻綱の新属新種として扱うのが妥当であると結論した。

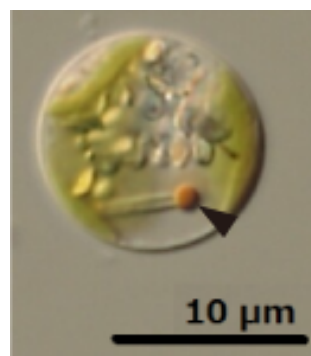


Fig. 1. nak-9 株の光学顕微鏡写真
矢頭：赤色顆粒

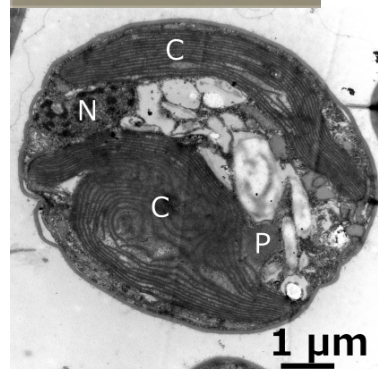


Fig. 2. nak-9 株の透過型電子顕微鏡写真
N：核、C：葉緑体、P：ピレノイド