

## ユーグリファ目生物における珪酸被殻構築様式の多様性に関する研究

山梨 早希 (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)

## 背景および目的

ユーグリファ目生物は、リザリア系統群ケルコゾア門に属する有殻アメーバの一群で、その多くは珪酸質でできた複数枚の鱗片からなる壺型の被殻をもつ。被殻の形態や鱗片の形状・枚数などは種によって多様で分類の主要形質の一つにもなっている。本生物群の被殻形成様式は非常に特異的で、娘細胞のための被殻を細胞分裂より先に作っておくことが知られている (Ogden 1979)。また、鱗片は細胞後方の珪酸沈着小胞でつくられた後、細胞前方に移動し、細胞外へ分泌されセメント様の物質で他の鱗片と接着することがわかっている (Hedley *et al.* 1974; Anderson *et al.* 1994)。しかし、細胞外で鱗片がどのように組み立てられ、被殻が構築されるのかは一部の種で観察報告はあるが、多様性の観点から詳細に観察した例はなく、種によって異なる鱗片を持つユーグリファ目生物における被殻構築様式の多様性は未解明である。そこで、本研究では、被殻及び鱗片の構造が異なるユーグリファ目生物間で殻構築様式にどのような相違があるのかを明らかにすることを目的とした。

## 材料・方法

本研究では、被殻構造が異なる *Assulina muscorum* (CCAP1509/1), *Euglypha rotunda* (CCAP1520/1), *E. filifera* (MYN10), *Trinema lineare* (MYN11) の 4 種について、WarisH あるいは NCL 培地で培養し、観察に用いた。細胞形態は、光学顕微鏡を用いて観察した。被殻の微細構造や鱗片の形態は走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて観察した。また、個々の鱗片は、有機物質を溶解するパイプユニッシュにより、鱗片を細胞から剥がして観察した。殻構築過程の詳細な観察には、デジタルビデオカメラを搭載した倒立型光学顕微鏡を用いてタイムラプス撮影を行った。被殻構築前後の核の様子は、核を DAPI で染色し、蛍光顕微鏡で観察を行った。

## 結果

## 被殻と鱗片の形態

まず、光学顕微鏡と SEM 観察により 4 種の被殻形態を観察した。*T. lineare* の被殻は細長い卵形で、円形の開口部が頂端からやや外れた位置にあった。開口部には鋸歯をもつ鱗片が一層配置し、被殻の他の部分には円盤型の大きな鱗片 (直径約 3-6  $\mu\text{m}$ ) と、楕円形の小さな鱗片 (縦約 1.8-2  $\mu\text{m}$ 、横約 1-1.3  $\mu\text{m}$ ) の二つが観察された。被殻を構成する鱗片は一層で、円盤状鱗片の隙間を楕円形鱗片が埋めていた。

*E. rotunda* の被殻は扁平な壺型で、開口部は楕円形であった。被殻側面はやや角ばった楕円形の鱗片 (縦約 5.5  $\mu\text{m}$ 、横約 2.5  $\mu\text{m}$ ) が規則的に重なり合っていたが、頭頂部の鱗片は不規則に配置されていた。開口部の鱗片は鋸歯をもつ特殊な形をしていた。

*A. muscorum* の被殻も扁平な壺型で、開口部は楕円形であった。被殻は、楕円形の鱗片が規則的に配列してできており、開口部の鱗片に鋸歯等は観察されなかった。

*E. filifera* の被殻には 6-10 本程度の長い刺が観察された。これらの刺はセメント様物質で鱗片に接着しているようにみえた。

## タイムラプスビデオ撮影

次に、4 種のうち最も増殖のよい *T. lineare* において殻構築の様子をタイムラプスビデオ撮影した。まず、開口部から細胞の一部が突出すると同時に、その表面が鱗片で覆われた。細胞の突出が徐々に増大すると同時に鱗片が押し広げられ配置されるように見えた。構築途中の被殻にはある程度柔軟性があり、被殻形態が完成した後硬くなった。このように *T. lineare* では細胞質の移動と被殻の構築が同時に進行した。30 分ほどで被殻は完成し、その後 40 分ほどで細胞質が分裂し、娘細胞が新被殻に移動した。

## DAPI 染色

*E. rotunda* の被殻構築後の個体を DAPI で染色すると、親細胞内に核が二つあることが確認された。

## 考察

ユーグリファ目生物の被殻構築様式は、*Paulinella chromatophora* (野村 2010) と *E. rotunda* (Harald Netze 1972) において既に観察されている。*P. chromatophora* では、まず開口部の外側に新規鱗片を蓄え、太い仮足によって開口部側から鱗片が一枚一枚積み上げられる様子が観察されている。*E. rotunda* では、まず開口部の鱗片が配置され、続いて側面の新規鱗片 (3-4 枚の鱗片同士接着されたユニットをなす) を液胞の多い細胞質が押し出すようにして被殻が形成される。本研究で観察した *T. lineare* は、*P. chromatophora* のように鱗片を開口部に蓄えてから構築するのではなく、鱗片の排出と、構築が同時に行われる。また、*T. lineare* では構築中の殻内が細胞質で占められ、細胞質全体で鱗片を支えながら殻を構築する点で、*E. rotunda* の被殻構築様式に似る。また、構築中の被殻に柔軟性があることから、*P. chromatophora* のように構築と同時に鱗片同士が接着され固定されるのではなく、*E. rotunda* のように鱗片が緩く接着された状態で構築が進むと考えられる。SSU rRNA 遺伝子の系統解析から、*T. lineare* は *P. chromatophora* よりも *E. rotunda* と近縁であることがわかっている (Enrique Lara 2007)。今回、*T. lineare* の被殻構築様式が *P. chromatophora* よりも *E. rotunda* と類似していたことは系統解析の結果と合致する。しかし被殻構築様式の多様性の全体像を把握するには複数の種においてさらに被殻構築様式を観察する必要がある。

*E. acanthophora* と *E. strigosa* では、娘細胞の被殻形成後に母細胞内で核分裂がおこる (Ogden 1979)。今回被殻構築後の *E. rotunda* 細胞を DAPI で染色した結果、親細胞内に核を二つ確認したことから、*E. rotunda* も同様に、娘細胞の被殻構築後に母細胞内で核分裂が起こり、一方の核が娘細胞に移動すると考えられる。