

パラオ産無色ストラメノパイル SRT167 株の分類学的研究

村山 拓未 (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>

ストラメノパイルは、褐藻や珪藻などの光合成を営む藻類や捕食性の鞭毛虫、動植物の寄生虫などといった多様な栄養形態の生物を含む真核生物の主要系統群の一つである。光合成性や腐生性のストラメノパイルの多様性は研究が進んでいる一方で、捕食性の生物群の多様性は不明瞭な点が多い。ストラメノパイル全体の分子系統樹を見ると、捕食性の生物群はより根本付近で見られ、光合成性の生物群に比べ、より祖先的であると考えられるため、捕食性のストラメノパイルの多様性を理解することは光合成性のストラメノパイルの進化を理解する上で重要である。

SRT167 株は、筑波大学生命環境科学研究科の白鳥峻志氏によりパラオの海水湖から単離された捕食性の鞭毛虫の培養株である。18S rDNA の部分配列を用いた BLAST 検索の結果、本株はストラメノパイルに属することが示唆された。

本研究では 18S rDNA 配列を用いた分子系統解析と、光学顕微鏡及び電子顕微鏡を用いた形態観察により、SRT167 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>

SRT167 株を、20°C、明期 14 時間、暗期 10 時間の環境下におき、50%海水の ESM 培地で培養したものを研究に用いた。本株の DNA を抽出し、PCR 法によって 18S rDNA を増幅し、大腸菌に形質転換させた。これを PCR 法によって更に増幅した後、シーケンシングを行うことで本株の 18S rDNA の部分配列を取得した。18S rDNA は一度のシーケンシングでは全長を読み取れないため、抜けている中間部分の配列を、プライマーを変えてさらにシーケンシングを行い、得られた全配列を繋げることで本株の 18S rDNA 配列とし、分子系統解析に用いた。分子系統解析では RAxML を使用し、最尤法を用いた系統樹作成を行うとともにブートストラップ(BP)解析を行った。透過型電子顕微鏡による観察では、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用い、酢酸ウランで染色した試料をホルマウント観察した。また、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観察した。

<結果>

・分子系統解析

ストラメノパイル内での SRT167 株の系統的位置を知るため、18S rDNA 配列を用いた分子系統解析を行った結果、SRT167 株はプラシディア綱の 2 属 2 種 *Placidia cafeteriopsis* と *Wobblia lunata* 及びそれらに近縁な配列と BP 値 100 で単系統を形成した。

・顕微鏡観察

光学顕微鏡による形態観察の結果、SRT167 株の細胞は直径 2 - 8 μm 、球形で鞭毛基部が突出した形態をしていた(図 1)。 unequal 鞭毛を 2 本有していた。基本的に遊泳性に主に回転遊泳を行い、匍匐運動は見られなかった。遊泳時は両鞭毛を後方に伸ばしていた。

ホルマウントでの透過型電子顕微鏡観察の結果、SRT167 株にストラメノパイル特有の管状小毛は観察できなかった(図 2)。また、鞭毛先端にアクロネマ構造が観察された。超薄切片による微細構造観察では、一つの核とその内部に明瞭な核小体、管状クリステのミトコンドリアが観察された(図 2)。

<考察>

18S rDNA 配列に基づく分子系統解析から、SRT167 株はストラメノパイルのプラシディア綱と単系統群を形成する一方、同綱の既知の 2 種との遺伝的距離は大きいことが示された。

プラシディア綱は、2 属 2 種 *Placidia cafeteriopsis* と *Wobblia lunata* が記載されている、海産の捕食性鞭毛虫である。2 本の不等長鞭毛を持ち、前鞭毛にはストラメノパイル特有の管状小毛がある。後鞭毛を用いて基質の上を匍匐運動する。回転遊泳を行う際は前鞭毛を前に伸ばす。今回観察された本株の形態的特徴(運動様式、管状小毛の有無、アクロネマ構造など)はプラシディア綱の形態的特徴と大きく異なるものであった。2 本の equal 鞭毛でアクロネマ構造を持ち、管状小毛を持たないという点で類似しているストラメノパイルとして *Adriamonas peritocrescens* と *Cyathobodo petersen* が挙げられる。*A. peritocrescens* は、分子系統解析によりピコエカ綱に属することが示され、細胞の大きさが長さ 7 - 9 μm 、幅 3 - 5 μm と本株より大きいこと、遊泳時に前鞭毛を前方に伸ばすこと、鱗片を持つことといった特徴から本株とは異なる。*C. petersen* は、多核体が存在するという点で本株と異なる。

以上の分子系統解析、顕微鏡観察の結果から SRT167 株はプラシディア綱の既知の属には当てはまらず、また無色ストラメノパイルとして記載されている他の生物にも該当する種がないことから、プラシディア綱の新属新種として扱うことが妥当であると結論した。

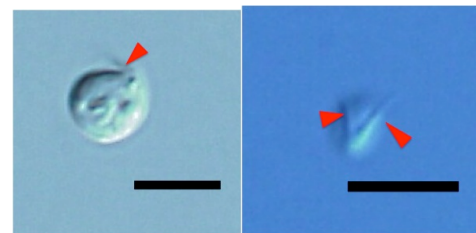


Fig. 1. SRT167 株の光学顕微鏡写真
スケールバー：10 μm 、矢頭：鞭毛

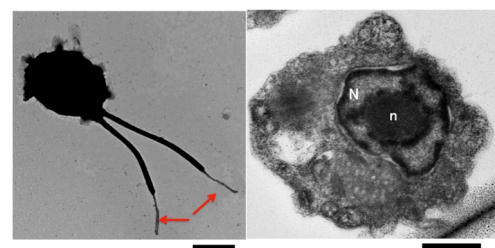


Fig. 2. SRT167 株の電子顕微鏡写真
スケールバー：500 nm、矢印：アクロネマ構造
N：核、n：核小体