

クロララクニオン藻に近縁な無色ケルコゾア生物の探索

加藤 雄大 (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

ケルコゾア門に属する海産の単細胞藻類であるクロララクニオン藻類は、緑藻を内部共生者とする二次共生により葉緑体を獲得した生物群である。クロララクニオン藻類はクロロフィル a/b を含む緑色の葉緑体を持ち、葉緑体周縁区画にはヌクレオモルフと呼ばれる構造を持つことが知られている。このヌクレオモルフはクロララクニオン藻類の内部共生者の核の残滓と言われており、このような構造はクロララクニオン藻類以外にはクリプト藻類のみ確認されている。このことからクロララクニオン藻類は二次共生の中間段階にある生物であると考えられ、葉緑体のオルガネラ化やそれに伴う内部共生者の核の退化的進化を研究する上で興味深い生物群であると言える。一方でこれまでの分子系統解析ではクロララクニオン藻類に近縁な環境配列クレードが多く存在することが示されている。これらの未知の系統群に属する生物はクロララクニオン藻類の葉緑体獲得の過程を理解する上で重要であると考えられ、その実体の解明が求められている。本研究ではクロララクニオン藻類に近縁な生物を環境中から発見し、培養株として確立することの第一歩として、特異的プライマーを用いた PCR により環境サンプルからクロララクニオン藻類に近縁な生物の検出を行った。

手法

・特異的プライマーの作成

先行研究で示されているクロララクニオン藻類の周辺の環境 18S rRNA 遺伝子配列をもとにした Blast 検索によりクロララクニオン藻類及びそれらに近縁な環境由来の 18S rRNA 遺伝子配列を収集した。収集した配列を用いて RAxML による分子系統解析を行い、その結果を元に特異的プライマーを作成した。

・環境サンプルからのクロララクニオン藻類に近縁な生物の検出
千葉県袖ヶ浦市長浦港(5月16日)、葛西臨海公園(8月2日、9月16日)、港区港南大橋(9月16日)の3か所において3Lの海水を採集した。各サンプルはまず3 μ m孔のフィルターでろ過した後、さらに0.6 μ m孔のフィルターでろ過した。フィルター上に残った生物からDNAを抽出し、設計した特異的プライマーを用いてPCRを行った。その後増幅されたDNA断片をクローニングし、配列を取得した。得られた配列を用いてRAxMLによる分子系統解析を行った。

結果・考察

Blast 検索の結果、70のクロララクニオン藻類に近縁な環境配列を収集することができた。これらの配列は北極海、太平洋、大西洋など世界中の海域で発見され、また表層海水、深海、熱水噴出孔など多様な環境から採集されたものであった。収集した70の環境配列に対して系統解析を行ったところ、環境配列はクロララクニオン藻に近縁な3つのクレード(近縁な順にクレード1、2、3とする)に分かれた。このうちクレード2は主に100m以深の海

洋や熱水噴出孔から採集された環境配列で構成された。これらの環境配列の系統解析の結果から、クロララクニオン藻に近縁な18S rRNA 遺伝子配列を持つ生物はこれまで考えられていたより系統的に多様であり、様々な環境に生息しているということが示唆された。

系統解析の結果示された3つの環境配列クレードをさらに7つのグループに分け、それぞれのグループに対し特異的プライマーを作成した。長浦港、葛西海浜公園、港南大橋で採集されたサンプルに対して、特異的プライマーを用いたPCRを行ったところ、複数のプライマーペアで明瞭なシングルバンドが確認された。このうち長浦のサンプルを用いたPCRでは、クロララクニオン藻類と最も近縁なクレード1に特異的なプライマーにより増幅されたバンドが確認された。このバンドの配列を取得し、Blast 検索で収集された70の環境配列とともに分子系統解析を行ったところ、クレード1と単系統を形成した。長浦港の他に葛西臨海公園、港南大橋のサンプルでも同じ特異的プライマーにより増幅されたバンドが確認されたことから、東京湾にはクロララクニオン藻類と最も近縁なクレードに所属する生物が広く生息していることが分かった。

今後の展望

今回の研究により、東京湾にはクロララクニオン藻類と最も近縁なクレードに所属する生物が存在していることが明らかになった。このクレードはクロララクニオン藻類の葉緑体獲得の過程を解明する上でとりわけ重要な位置を占めると考えられる。このことから、今後は特にこのクレードに属する生物に焦点を当て、培養株を確立することを目指す。