

## 新規無色鞭毛虫 SRT310 株はマリモナス目（ケルコゾア）の再検討を促す

渡邊 晃太郎（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

ケルコゾア門は SSU rDNA 配列を用いた分子系統解析の結果をもとに設立された分類群であり、多様な形態（鞭毛虫、アメーバ）や栄養様式（捕食性、光合成性、寄生性）の原生生物によって構成されている。近年ケルコゾア生物に関する研究は盛んに行われているものの、分類群の多くは未だに分子系統解析の結果のみに基づいて提唱されており、分類形質となる形態的特徴が明らかになっていない。さらに、環境 DNA の解析から多くの未記載ケルコゾア生物の存在も示唆されており、ケルコゾア生物の形態的特徴及び多様性の把握は重要な研究課題であるといえる。

ケルコゾア門の 1 綱として、一般的に珪酸質の殻を持つインブリカテア綱がある。その中には無殻の鞭毛虫のグループであるマリモナス目が属しており、珪藻寄生性の *Pseudopirsonia mucosa*、大型で 4 本鞭毛の *Auranticordis quadriverberis*、匍匐性鞭毛虫の *Abollifer globosa* の 3 種が知られている。マリモナス目は SSU rDNA 配列の分子系統解析の結果に基づいて設立された分類群で、環境配列が多数含まれている。また既知種に分類形質となる形態的な共通点も見られないため、さらなる多様性の把握と分類体系の整理・構築が必要とされている。

SRT310 株は 2013 年にパラオの海水湖中堆積物から単離された従属栄養性鞭毛虫の培養株である。予備的な形態観察において本生物は細胞の形状や 2 本の不等長鞭毛の配置等の点でケルコゾア門ケルコモナス目に属する生物と共通する特徴を示した。しかし既知種との明確な類似性は観察されず、本生物はこれまでに報告のないケルコゾア生物であることが示唆された。そこで本研究では 1) SSU rDNA 及び LSU rDNA を用いた分子系統解析、2) 光学顕微鏡、透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いた詳細な形態観察を行い、SRT310 株の分類学的位置について検討した。

## 方法

SRT310 株から DNA を抽出して SSU rDNA 及び LSU rDNA の塩基配列を決定し、分子系統解析に用いた。分子系統解析は RAxML による最尤系統樹の作成及び最尤法に基づく検定を行った。外部形態の観察には光学顕微鏡を用い、内部の微細構造は超薄切片を作製して透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて観察した。TEM による観察ではグルタルアルデヒドと四酸化オスミウムにより二重固定を行った細胞を樹脂包埋し、超薄切片を作製、それらを酢酸ウランとクエン酸鉛で染色した試料を用いた。

## 結果

SSU rDNA 配列を用いた分子系統解析の結果、SRT310 株はマリモナス目に属する *Pseudopirsonia mucosa* が含まれるクレードと強い支持 (ブートストラップ値 100%) で単系統群を形成した。しかし、本株を含めたマリモナス目の単系統性に対する支持は低かった。そこで LSU rDNA 配列を用いて分子系統解析を行ったところマリモナス目は単系統にならず、本株はサルコモナス綱の基部に位置した。

光学顕微鏡による形態観察から、SRT310 株は柔軟性のある円型～楕円型の細胞概形で 2 本の不等長鞭毛を持ち、匍匐性であることが分かった。仮足やアメーバ状の細胞は観察されなかった。前鞭毛は細胞前方で激しく波打つのに対し、後鞭毛は後ろに引きずられるように伸びていた。

TEM による微細構造観察では、クロマチンの凝集した核が細胞前部に位置しており、核内部には核小体が観察された。2 つの基底小体は非平行 (約 60°) で細胞前端部に位置し、鞭毛移行帯には板状構造が見られた。ゴルジ体は核と基底小体の間に位置し、ミトコンドリアクリステは平たい管状であった。細胞膜直下には粗面小胞体と複数のシリンダー型の射出装置が観察された。

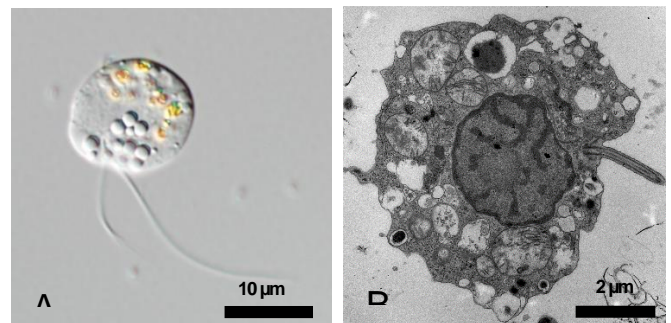


図 1. SRT310 株

(A) 光学顕微鏡写真、(B) 透過型電子顕微鏡写真

## 考察

予備的な形態観察では SRT310 株はケルコモナス目の生物との近縁性が示唆されたが、詳細な顕微鏡観察の結果、仮足をもたない点やミトコンドリアクリステ及び射出装置の形状が既知のケルコモナス目の生物とは異なることが明らかとなった。分子系統解析でも SRT310 株はケルコゾア系統に含まれるもののケルコモナス目との近縁性は示されず、本株はケルコモナス目に所属させるべきではない。また、既知ケルコゾア生物のいずれにも同定されないことから、本株は新属新種のケルコゾア生物であると考えられる。

SSU rDNA 配列を用いた分子系統解析では、SRT310 株はマリモナス目の *Pseudopirsonia mucosa* と近縁であることが強く示された。しかし、SRT310 株の形態的特徴はマリモナス目の既知種には見られないものが多く、マリモナス目の形態的共通性の乏しさが改めて浮き彫りになった。さらに、LSU rDNA 配列を用いた分子系統解析でマリモナス目が再現されなかったことからマリモナス目の単系統性には疑問が生じる。したがって、マリモナス目は鞭毛装置などの微細構造観察や他の遺伝子を用いた複合的な分子系統解析を通して再検討される必要がある分類群であると考えられる。