

Goniomonas 属の系統分類学的研究

柏木 志乃 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 中山 剛 (筑波大学 生命環境系)

背景・目的

Goniomonas は無色単細胞性鞭毛虫であり、海水から淡水にかけて広く普遍的に存在している。この属の特徴は細胞の前方に2本の鞭毛をもつこと、ペリプラストという細胞外被をもつこと、大小のエジェクソームをもつこと、基質上を這うように移動すること、などが知られている。また近縁な生物としては光合成能を持つクリプト藻類が知られている。クリプト藻類の葉緑体は紅藻由来の二次葉緑体であることが示唆されているが、*Goniomonas* のゲノム情報からは葉緑体の痕跡は見つかっておらず、クリプト藻類は *Goniomonas* との分岐後に葉緑体を獲得したと考えられている。このことは、クリプト藻において紅藻の二次共生が起こる前の姿を推定するためには、*Goniomonas* に関する情報が有用であることを示唆している。しかし *Goniomonas* はグループ内の研究があまり進んでいない。これまでの研究でクリプト藻類にはおよそ200種が報告されているが、*Goniomonas* は海水から3種、淡水から1種、計4種のみ記載にとどまっている (Martin-Cereceda 2010; Kim and Archibald 2013)。また分子系統解析から、*Goniomonas* の中には非常に大きな遺伝的多様性が存在し、また淡水産の系統群と海産の系統群に分かれることが示されているが、その情報を基にした分類学的整理行われていない。

本研究ではさまざまな場所から *Goniomonas* の培養株を作成し、その形態的特徴を光学顕微鏡や電子顕微鏡を用いて明らかにし、また分子系統解析を行うことで、属内の系統と形態の関係を整理し直すこと、及び *Goniomonas* 属内の多様性の解明を目的としている。

方法

日本各地から淡水や海水などのサンプルを収集し、マイクロピペット法を用いて単離、培養株確立を行った。培地は海産サンプルには ESM を、淡水産サンプルには AF-6 を用いた。餌はサンプルに含まれているバクテリアを用いた。

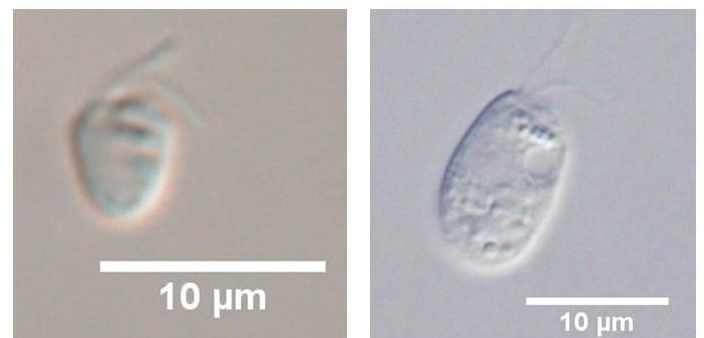
形態観察には光学顕微鏡と透過型電子顕微鏡を用いた。電子顕微鏡での観察は whole-mount 法を用いた。また培養株から DNA を抽出し、PCR によって 18S rDNA を増幅、塩基配列を決定した。これをもとに最尤法によって系統樹を作成した。

結果

採集したサンプルからの単離や他の方からの譲渡などにより、*Goniomonas* と考えられる5株を集めることができた(4海産株、1淡水産株)。光学顕微鏡観察では、いずれの株も、細胞前端隅から生じるほぼ等長の2本の鞭毛をもち、細胞前端に沿ったエジェクソーム、一方の面を常に下にして基質上を匍匐するように運動することなど確認された。海産株と淡水産株は、細胞の形態と運動、収縮胞の有無などに違いが見られたが、海産4株の間では明瞭な違いは見られなかった。電子顕微鏡観察の結果、海産株においては鞭毛上の小毛であるマストゴネマの存在が確認することができた。また分子系統解析の結果、海産株は海産系統群に、淡水産株は淡水産系統群に含まれ、また海産の株は互いに非常に近縁であることが示された。

考察と今後の展望

本研究で得られた海産の *Goniomonas* 株は形態的に互いに酷似しており、また18SrDNA塩基配列もほぼ同一であることから同種であると考えられる。これらの株は形態的な特徴からは、*G. pacifica* と同定できるが、*G. pacifica* として報告されている配列とはやや異なっており、今後の検討が必要である。また淡水産の株は形態形質からは *G. truncata* と同定できるが、*G. truncata* が含まれる淡水産系統群は非常に大きな遺伝的多様性を示すため、今後分類学的な整理のためにはさまざまな株を用いた形態的・遺伝的多様性の検討が必要である。また現時点では海産系統群と淡水産系統群の違いに対応する形質を発見できていないが、鞭毛小毛にその可能性があると考えている。現時点ではまだ観察が不十分であるが、観察法の改良などによりこの点を確認していきたい。またさらに様々な環境から培養株を作成することにより、*Goniomonas* の多様性を解明していきたい。



左) 海産株 右) 淡水産株