

環境から分離した糸状仮足アメーバの系統分類学的研究

竹内 涼（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】

ヌクレアリア類は自由生活性のアメーバで、鞭毛をもたず球状または扁平の細胞から放射状に伸ばした糸状仮足を有する。細胞は粘液の皮膜や内因性の珪質鱗片、珪藻の殻や砂粒といった外因性物質に覆われているものも知られている。ヌクレアリア類は世界中の淡水、海水などの水域、土壌に生息しており、種によって細菌、シアノバクテリア、真核藻類などを捕食することが知られる。これまでの分子系統解析によってヌクレアリア類は菌類とともにオピストコンタのホロマイコータを形成することが明らかとなっている。そのため後生動物や菌類といった生物群を含んだオピストコンタの起源や進化、多様性を理解する上でヌクレアリア類の研究は重要である。

しかしヌクレアリア類の研究はほとんど行われておらず、特に分子系統学的研究は非常に少ない。これまでに分子データが報告されているのは 5 属のみであり、形態学的特徴からヌクレアリア類に分類されてきた 6 属はその系統的位置が不確実である。また属内の分類について最も研究が多い *Nuclearia* についても形態学的に記載された 12 種のうち分子データが報告されているのは 4 種のみである。さらに多くの形態学的特徴が種を反映していない可能性があり、分子系統解析と合わせた再検討が必要である。

これまでの環境 DNA 解析の結果から複数の環境クレードが確認されており、海産種のみからなるクレードの存在も示唆されている。しかし、近年行われている研究の多くは淡水環境を対象としたものであり、海水に生息するヌクレアリア類の形態的情報と結びついた分子情報はほとんどない。

そこで本研究は、1) 一般的な淡水及び海水環境におけるヌクレアリア類の生息状況、培養の可能性を調査し、今後の研究利用可能性を探る、2) 研究の進んでいない海水域のヌクレアリア類について形態学データと結びついた分子データを取得し、系統分類学的研究を行う、の 2 点を目的に行った。

【材料・方法】

サンプリング

2022 年 4 月から 2023 年 1 月にかけてつくば市周辺の湖沼、東京湾を中心に複数の水域でサンプリングを行った。サンプルはプランクトンネットのほか、水底の堆積物、大型藻類の表面などから採取した。淡水サンプルは AF-6, CSI、海水サンプルは滅菌海水、ESM などの液体培地を使用して培養を行った。

I. 形態観察

細胞の観察は微分干渉顕微鏡 (DIC) を用いて行った。また鱗片を有する個体は走査型顕微鏡 (SEM) による鱗片構造の観察を行った。

II. 分子系統解析

8 月に千葉県船橋市海老川河口において得られた海水サンプルの混合培養物 TK2208 株 (珪藻、鞭毛虫等を含む) からマイクロピペットを用いて単一細胞を単離し、DNA 抽出、18S rRNA

遺伝子配列の PCR 増幅をおこなった。その後、シーケンシングした配列を GenBank から取得した近縁配列に加えてデータセットを作成した。データセットは MAFFT v7 によるアラインメント、TrimAl v1.2 および手動でトリミングを行った。最尤系統樹は IQTree v1.6 を用いて作成した。

【結果・考察】

1) ヌクレアリア類の生息調査

調査を行った淡水 6 地点、海水環境 3 地点でヌクレアリア類の細胞が観察された。またこれらの多くが液体培地中でも生存した。今回見つかった細胞はほぼすべてが *Nuclearia* と同定された。*Nuclearia* は淡水、海水に比較的豊富に生息していることが報告されており、今回の結果はそれを裏付けていると考えられる。それ以外の属については長野県上田市のため池において *Pompholyxophrys* sp. を確認した。*Nuclearia* 以外の属については報告例が少なく、また光学顕微鏡での同定は困難であることから、過小評価している可能性がある。

2) 新規海産個体の系統分類学的研究

今回新たに得られた TK2208 株 (図 1) の 18S rRNA 遺伝子の部分配列を用いて系統解析を行った結果、この個体は *Pompholyxophrys* や *Lithocolla* を含むクレードの基部から分岐しており (図 2)、*Nuclearia* クレードとは異なるクレードに含まれることが明らかとなった。

現在、SEM を用いた表面超微細構造の観察を行い、属及び種の同定を進めている。

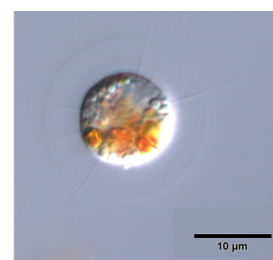


図 1 ヌクレアリア様アメーバ (TK2208)

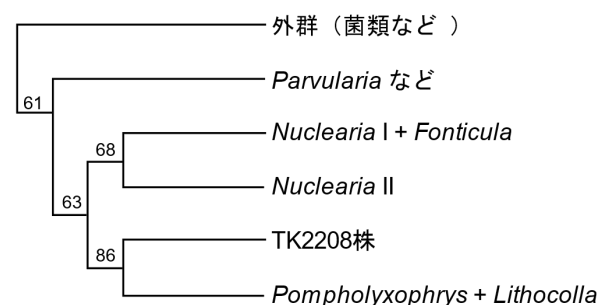


図 2 18S rRNA 遺伝子を用いたヌクレアリア類の ML 系統樹の概略