

無殻渦鞭毛藻類のクレプトクロロプラストにおけるクリプト藻取り込み後の微細構造的变化 Morphological changes in kleptochloroplasts after ingestion in the unarmored dinoflagellates

大沼 亮^{1*}, 堀口健雄²Ryo Onuma^{1*}, HORIGUCHI, Takeo²¹ 北海道大学理学院自然史科学専攻, ² 北海道大学大学院理学研究院自然史科学部門¹Dept. Nat. His. Sci., Grad. Sch. Sci., Hokkaido Univ., ²Dept. Nat. His. Sci., Fac. Sci., Hokkaido Univ.

渦鞭毛藻類は海水、淡水に広く生息する単細胞性原生生物で、現在記載されている約2000種のうち約半数が光合成性で、その葉緑体は紅藻に由来するものと考えられている。渦鞭毛藻類の残りの半数は、渦鞭毛藻類の多様化の過程で葉緑体を二次的に失った従属栄養性種である。渦鞭毛藻類の中には紅藻由来の葉緑体を珪藻、ハプト藻、緑藻の葉緑体と取り替えた種もあり、葉緑体の進化という観点から見ると、渦鞭毛藻類は複雑な進化史を辿った生物群である。このような永続的な葉緑体の他に、'クレプトクロロプラスト(盗葉緑体)'と呼ばれる特殊な葉緑体をもつ種もいる。クレプトクロロプラストとは、もともと葉緑体をもたない生物が他の光合成藻類から盗んだ葉緑体のことで、その葉緑体は細胞内で一時的に保持・使用されるが、宿主との共生関係が確立していないためにやがては失われてしまう。無殻渦鞭毛藻、*Amphidinium poecilochroum* (海産)、*Gymnodinium aeruginosum* (淡水産)は互いに近縁な種であり、クリプト藻に由来するクレプトクロロプラストをもつ。海産の*A. poecilochroum*は、クリプト藻の種を問わず取り込み、クレプトクロロプラストの分裂は確認されていない。一方で、淡水産の*G. aeruginosum*は*Chroomonas*属を特異的に取り込む。細胞内のクレプトクロロプラストは1つのみであるが、渦鞭毛藻の細胞分裂に合わせてクレプトクロロプラストも分裂させ、娘細胞に受け継ぐことができる。このようなことから、*G. aeruginosum*の示すクレプトクロロプラスト現象は*A. poecilochroum*より進化的であり、クレプトクロロプラスト性無殻渦鞭毛藻の系統内でクレプトクロロプラストから'真の葉緑体'へと進化しつつあると考えられる。それゆえ、本系統の渦鞭毛藻類は細胞内共生確立の研究をする上では格好の生物であると言える。しかしながら、これまでの研究では一般的な微細構造の研究はなされているものの、クリプト藻の取り込み後、そのクレプトクロロプラストが細胞内でどのように変化し、消失していくのかはわかっていない。そこで、本研究では、飢餓状態にして無色化した渦鞭毛藻にクリプト藻を与えて、クレプトクロロプラストの微細構造を光学顕微鏡、単細胞TEM法を用いた透過型電子顕微鏡によって経時的に観察し、海産種と淡水産種の差異を比較した。

取り込まれた直後のクリプト藻の細胞を比較してみると、両種ともクリプト藻の葉緑体、核、ミトコンドリア、エジェクトソームがクリプト藻の細胞質と共に取り込まれており、クリプト藻の細胞質と渦鞭毛藻の細胞質の間には1枚の膜が観察された。*A. poecilochroum*は、クリプト藻の取り込み後、葉緑体は次第に拡大されるものの、取り込み1時間後までにクリプト藻のミトコンドリア、エジェクトソームを細胞質ごと食胞に移し、3時間後にはクリプト藻の核も葉緑体から切り離され、消化されることが明らかとなった。一方、*G. aeruginosum*では細胞質は葉緑体の周縁に残存し、クリプト藻のミトコンドリア、核は細胞質に残されたままであった。葉緑体は取り込み後6時間から急激に拡大を始め、取り込み後3日後にはクレプトクロロプラストは多数のピレノイドを形成しながら細胞全体に広げられた。クリプト藻核は杯状に広げられたクレプトクロロプラストの内側に位置していた。5日後にはクリプト藻核の周囲でヌクレオモルフの分裂も確認された。本研究によって、*G. aeruginosum*の方が*A. poecilochroum*よりもクレプトクロロプラストを大きく拡大することができ、クリプト藻の核などのオルガネラをより長く温存できることが明らかとなった。細胞内共生における共生体の核の役割についてはまだ解明されていない問題が多数あるが、クリプト藻に由来するクレプトクロロプラストをもつ織毛虫*Mesodinium rubrum*ではクリプト藻の核がクレプトクロロプラストの維持に重要であることが明らかとなっている。また、珪藻の葉緑体を獲得した渦鞭毛藻類は細胞内に珪藻の核も保持しており、細胞分裂時に珪藻の核も同調して分裂させることができる。このように、クレプトクロロプラストから真の葉緑体獲得への進化過程では、共生体の核を保持する方向に進化する傾向にあり、クリプト藻核を長く温存する*G. aeruginosum*のクレプトクロロプラストは*A. poecilochroum*よりも進んだ進化段階にあると考えられる。

キーワード: 渦鞭毛藻, クレプトクロロプラスト, 微細構造

Keywords: dinoflagellate, kleptochloroplast, ultrastructure

動物が葉緑体を細胞内に一時的に取り込み光合成を行う盗葉緑体現象の野外での適応的意義

Algivore or Phototroph? *Plakobranthus ocellatus* (Gastropoda) Continuously Acquires Kleptoplasts and Nutrition

前田 太郎^{1*}, 広瀬 裕一², 力石 嘉人³, 河戸 勝³, 瀧下 清貴³, 吉田 尊雄³, Heroen Verbruggen⁴, 田中 次郎⁵, 島村 繁³, 高木 善弘³, 土屋 正史³, 岩井 憲司⁶, 重信 秀治¹, 丸山 正²

Taro Maeda^{1*}, Euichi Hirose², Yoshito Chikaraishi³, Masaru Kawato³, Kiyotaka Takishita³, Takao Yoshida³, Heroen Verbruggen⁴, Jiro Tanaka⁵, Shigeru Shimamura³, Yoshihiro Takaki³, Masashi Tsuchiya³, Kenji Iwai⁶, Shuji Shigenobu¹, Tadashi Maruyama²

¹ 基礎生物学研究所, ² 琉球大学, ³ 海洋研究開発機構, ⁴ メルボルン大学, ⁵ 東京海洋大学, ⁶ 沖縄県水産海洋研究センター
¹National Institute for Basic Biology, ²University of the Ryukyus, ³Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology, ⁴The University of Melbourne, ⁵Tokyo University of Marine Science and Technology, ⁶Okinawa Prefectural Fisheries and Ocean Research Center

盗葉緑体現象とは、藻類食者の一部の種が、摂食した藻類の葉緑体を自らの細胞内に取り込み、数日から数ヶ月間保持し、その葉緑体が生産する光合成産物を栄養として利用する現象である。葉緑体は次世代には受け継がれず、毎世代ごとに新規に獲得される。軟体動物門嚢舌目に属するウミウシ類は、後生動物で唯一本現象が観察されるグループである。中でもインド洋・太平洋の熱帯域に分布するチドリミドリガイ (*Plakobranthus ocellatus*) は、最も長期間光合成能を保持し、その期間は10ヶ月にも及ぶ。本種では、葉緑体の形態観察等から、緑藻類のアオサ藻類を摂食し葉緑体源とすることがわかっていたが、野外では摂食行動が観察されないことから、摂食と葉緑体の獲得は生活史の初期等に稀にしか行わず、多くの時期を、葉緑体の光合成から得た栄養に依存して過ごしていると考えられてきた。

我々は、この仮説を検証し、盗葉緑体現象の適応的意義の解明を試みた。最初に、今まで種レベルでは不明であった自然環境下での葉緑体源を、チドリミドリガイが持つ葉緑体の *rbcl* 遺伝子のクローニング解析から同定し、その季節変化を t-RFLP 法により調査した。結果、チドリミドリガイはアオサ藻類の中でもサボテングサ科に属する8種の藻類を摂食し、複数種の藻類の葉緑体がチドリミドリガイ一個体中に共存することがわかった。また体内の葉緑体組成は季節によって異なっていた。これら葉緑体組成の特徴は摂食による葉緑体補充が頻繁に行われた結果と考えられた。また明らかになった葉緑体源は、アオサ藻類の中では微小な種類であり、これが野外での摂食観察を困難にしていた可能性が示唆された。

次に、アミノ酸の窒素安定同位体比から栄養段階を計測する手法を用いて、野外個体の光合成への依存度を解析した。結果、飼育下で光合成にのみ依存させた個体は、同位体比から算出した栄養段階が1.3と、生産者に近い値となったが、野外から採集直後の個体は栄養段階1.9と植物食者の値を示した。この値は野外個体が光合成よりも摂食から多くの栄養を得ていることを示しており、葉緑体組成の結果と同様に、頻繁に摂食を行なっていることを示している。

本結果から、野外のチドリミドリガイの光合成に対する栄養依存は小さく、頻繁に摂食を行い葉緑体を更新していることが明らかになった。これは盗葉緑体現象を示す生物において、生息環境での光合成への依存程度を初めて明らかにしたものである。今後、ウミウシにおける盗葉緑体現象の適応的意義は、摂食に対する補助としての観点(ビタミン様物質の生産や、短期間の飢餓時期の栄養源)からも研究する必要があると考えられる。

キーワード: 盗葉緑体, 嚢舌目ウミウシ, アオサ藻, 共生

Keywords: kleptoplasty, sacoglossan, ulvophyceae, symbiosis

細胞内共生クロレラが原生動物・後生動物に創出するシンクロロソームの進化 Evolution of symchlosomes driven by endosymbiosis of zoochlorellae in freshwater protozoa and metazoa

早川 昌志^{1*}, 洲崎敏伸¹

Masashi Hayakawa^{1*}, Suzaki Toshinobu¹

¹ 神戸大学大学院理学研究科生物学専攻

¹Department of Biology, Graduate School of Science, Kobe University

淡水環境では、細胞内に共生クロレラ（単細胞緑藻類）を持つ捕食性のマイクロ生物が、多くの原生動物や後生動物で知られている。さまざまな宿主生物における共生クロレラの細胞ない共生について共通する特徴を調べる為に、4種の緑色生物：ミドリマヨレラ（アメーバ類）、ミドリゾウリムシ（繊毛虫類）、ミドリラッパムシ（繊毛虫類）、グリーンヒドラ（刺胞動物）について、凍結置換法による透過型電子顕微鏡観察を行った。細胞内共生クロレラは、とても制御された膜で覆われた光合成オルガネラ構造を形成しており、我々はこれをシンクロロソームと名付けた。シンクロロソームは、PV膜と呼ばれる宿主食胞膜由来の1重の生体膜で覆われた共生クロレラの複合構造であり、疑似的な葉緑体として見ることができる。我々が観察した4種緑色生物における全てのシンクロロソームにおいて、PV膜と共生クロレラの間隔は均一で25-50 nm程度であること、宿主ミトコンドリアと相互作用しているという、普遍的特徴が得られた。シンクロロソームは、淡水における多くのマイクロ生物の捕食者でみることができ、それらは広い真核生物の系統群で、多発的に創出されてきている。また、未報告の共生クロレラを持つ宿主種や、未報告共生クロレラも数多く存在しており、我々も、未報告宿主種のハリタイヨウチュウや、これまでに報告のないサイズを持つ“巨大な”共生クロレラなどを発見してきた。シンクロロソームを持つ生物は、淡水の微小環境における複合栄養生物としての、これまであまり議論されてこなかったニッチを持つため、生態学的にも重要である。我々がこれまでに行ってきた微細構造学的な研究を通して、シンクロロソームの生態学的・進化学的研究の可能性を紹介したい。

キーワード: 原生動物, 藻類, 細胞内共生, 共生クロレラ, シンクロロソーム

Keywords: protozoa, algae, endosymbiosis, zoochlorella, symchlosome

放散虫に共生する藻類の微細構造および分子解析 Fine-structure and molecular analyses of symbiotic algae in Radiolaria

湯浅 智子^{1*}

Tomoko Yuasa^{1*}

¹ 東京学芸大学

¹Tokyo Gakugei University

海洋性プランクトンである放散虫は細胞内に藻類を共生させている。放散虫は、これら藻類から光合成産物を受け取り、貧栄養下の環境に適応してきており、この共生藻の存在が地質時代の数々の生物絶滅イベントを放散虫が乗り越えられた理由の一つであると考えられている。放散虫の共生体にはこれまで、シアノバクテリア、渦鞭毛藻、ハプト藻、およびブラシノ藻が報告されているが、放散虫内に共生している状態では、これらは数 μm のプロトプラスト状で、たとえば鎧板や鞭毛といった藻類を同定するための形質や形態が観察できない。そのため、これまで種レベルでの同定することは困難であったが、今回、放散虫に共生する藻類を培養し、その微細構造観察と SSU rDNA を用いた分子系統解析を行った結果、放散虫にはペリディニウムタイプの渦鞭毛藻が共生していることが明らかになった。また、いくつかの放散虫種において、細胞質内に共生している状態での他の共生藻の微細構造観察と SSU rDNA の解析を行なったところ、シアノバクテリア (*Synechococcus* sp.)、ハプト藻 (*Chrysochromulina* sp.)、および緑藻が共生していることがわかった。同じ Rhizaria の有孔虫と同様に、この共生体の多様性は、サンゴが渦鞭毛藻 (*Symbiodinium*) しか共生させていないのと対照的である。放散虫の共生体のひとつのシアノバクテリア *Synechococcus* sp. および *Prochlorococcus* sp. が、海洋環境下において普遍的に存在するもので、それらを放散虫が共生体としてとりこんでいることから、ひとつの仮説として、放散虫の藻類の共生は自由生活をしている藻類を外界から取り込むことで成立しているのかもしれない。しかしながら、私たちが知る限り、今回報告する放散虫特有の共生渦鞭毛藻が海洋環境下で自由生活をしているという報告はない。

キーワード: 放散虫, 共生, 藻類, 微細構造, 分子系統

Keywords: Radiolaria, Symbiosis, algae, ultrastructure, molecular phylogeny

円石藻 *Braarudosphaera bigelowii* の進化史とシアノバクテリアとの共生 Symbiotic relationship between *Braarudosphaera bigelowii* and cyanobacteria

萩野 恭子^{1*}, 河地正伸²

Kyoko Hagino^{1*}, Masanobu Kawachi²

¹ 岡山大学地球物質科学研究センター, ² 国立環境研究所

¹Institute for Study of the Earth's Interior Okayama University, ²National Institute for Environmental Studies

円石藻 *Braarudosphaera bigelowii* (ハプト植物門プリムネシオ藻綱) は海洋の沿岸性の単細胞性微細藻類で、細胞の表面をペンタリスと呼ばれる正五角形の石灰質鱗片 12 枚で覆われている。ペンタリスは化石として保存されやすく、*Braarudosphaera* 科の化石記録は白亜紀前期、*B. bigelowii* の化石記録は白亜紀後期まで遡ることができる。*B. bigelowii* のペンタリスの形態は、白亜紀から現在まで、全くと言ってもいいほど変化していない。その一方で、地質時代と現生のいずれにおいても、同種のペンタリスの大きさにはバリエーションがあることが知られている。現生の *B. bigelowii* は、ペンタリスの大きさの違いに基づいて 4 つの morphotype に分類されており、morphotype はそれぞれ、18S rDNA 塩基配列に基づいて分類された genotype と対応している。そのため現生の *B. bigelowii* は、サイズが異なった複数 (4 種以上) の cryptic species から成る、species complex であると考えられている (Hagino et al. 2009)。

最近の研究により、*B. bigelowii* sensu stricto (morphotype Intermediate form-B, 18S rDNA Genotype III) と石灰質鱗片をもたない *Chrysochlomulina parkeae*、そして、窒素固定型シアノバクテリア UCYN-A と共生関係を持つ未知のハプト藻 (未同定) が、18S rDNA 塩基配列において非常に近縁であることが明らかになった (Thompson et al. 2012)。*B. bigelowii* と *C. parkeae* は共にハプト藻であるという点では同じだが、細胞の外観は全く似ていない。また、沿岸生の *B. bigelowii* と外洋生の UCYN-A (ならびに UCYN-A と共生関係にあるハプト藻) では、地理分布が一致していない。そのため、*B. bigelowii* と *C. parkeae*、そして、UCYN-A と共生関係にあるプリムネシオ藻が近縁であるということは、Thompson et al. (2012) の研究まで全く予想されていなかった。

B. bigelowii と *C. parkeae* の関係を明らかにするために、私達は、*B. bigelowii* (Intermediate form III) と *C. parkeae* の細胞構造を透過型電子顕微鏡下で観察した。その結果、*B. bigelowii* と *C. parkeae* の両方の細胞内から、形態的特徴がよく似た未知のオルガネラを発見した。このオルガネラの起源を特定するために、別の *B. bigelowii* (Intermediate form B) の細胞から 18S rDNA と 16S rDNA 塩基配列を取得して、分子系統解析を行った。

本発表ではまず、*Braarudosphaera* 科の化石記録の変遷と地球環境変動の関連について紹介する。また、電子顕微鏡観察と分子系統解析の結果に基づいて、*B. bigelowii* と *C. parkeae* の系統関係、シアノバクテリアとの共生関係について議論する。その上で、*Braarudosphaera* 科の進化史とシアノバクテリアとの共生について考えたい。

References:

Hagino, K., Takano, Y. and Horiguchi, T., 2009. Pseudo-cryptic speciation in *Braarudosphaera bigelowii* (Gran and Braarud) Deflandre. *Marine Micropaleontology*, 72: 210-221.

Thompson, A.W. et al., 2012. Unicellular Cyanobacterium Symbiotic with a Single-Celled Eukaryotic Alga. *Science*, 337: 1546-1550.

キーワード: 円石藻, シアノバクテリア, 共生

Keywords: coccolithophores, cyanobacteria, symbiosis