HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Diversity of endosymbiotic diatoms and photosynthetic pigments in dinoflagellates [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	山田, 規子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第11809号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58898
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Norico_Yamada_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（理学）　　氏　名　山田　規子

学 位 論 文 題 名

Diversity of endosymbiotic diatoms and photosynthetic pigments in dinoflagellates
（渦鞭毛藻における共生珪藻と光合成色素の多様性）

渦鞭毛藻は現在までに約 2000 種類が知られている原生生物の一群で、水圏生態系の主要な構成員である。本グループの生物に見られる葉緑体の獲得現象の複雑さは他の生物では例を見ない。95%以上の光合成性渦鞭毛藻が紅藻由来の葉緑体（典型的葉緑体）を保持している一方で、いくつかのグループではその典型的葉緑体を捨て、新たに他の微細藻類を取り込むことで異なる起源の葉緑体を獲得している。これまで渦鞭毛藻における葉緑体進化に関する研究は、典型的葉緑体のゲノム解析、共生藻遺伝子の宿主細胞への水平伝搬に関する分子生物学的研究などが主で、多様性そのものに着目した研究は多くなかった。本論文は葉緑体の進化と光合成色素の多様性に焦点を当てた 2 部構成となっており、珪藻を取り込んで葉緑体を獲得した渦鞭毛群における葉緑体の共生進化の実態を明らかにすること（1 章）、渦鞭毛藻が生息域の環境に応じて光合成色素組成をどのように多様化させているのか（2 章）を調べることを目的としたものである。

珪藻由来の葉緑体を持つ渦鞭毛藻（dinotom）はこれまでに 12 種類が知られているが、培養株が確立されている種は 2 種のみで、分子生物学的・細胞学的な研究はこの 2 種に集中して行われてきた。また、dinotom の共生珪藻は *Nitzschi*a を含む 4 属 4 種の多様な自由生活性珪藻に由来することが知られているが、多くの dinotom が難培養性であることから共生珪藻の詳細な系統学的な位置は不明な部分が多く、特に共生 *Nitzschi*a 種の単系統性は再検証される必要があった。以上の背景から 1 章では、(1)各地でサンプリングを行い新たな dinotom の培養株確立を試みること、(2)各 dinotom の共生珪藻種を分子系統学的手法を用いて特定しその多様性の実態を明らかにすること、(3) 形態および分子データから培養株の分類学的な位置を確定することを目的とした。サンプリングは南アフリカ共和国、日本各地で行い、未記載種を含む 7 種の dinotom の培養に成功した。

1 章 1 部では、共生珪藻の葉緑体コードの *rbc*L 遺伝子と核コードの 18S rDNA に基づいた分子系統解析を行い、共生珪藻種の特定を試みた。その結果、培養に成功した 7 種の dinotom は全て *Nitzschia* を共生珪藻としていること、各 dinotom はそれぞれ異なった 6 種の *Nitzschia* 種を保持していること、つまり各共生 *Nitzschia* 種は宿主の渦鞭毛藻種にほぼ 1 対 1 で対応していることが明らかになった。既知の dinotom の結果を加えると、4 属 9 種もの珪藻が dinotom に葉緑体として利用されていることが本研究から示され、共通祖先から進化した dinotom が種分化後に共生珪藻を頻繁に入れ替えていることが示唆された。

1 章 2 部では、未記載種 3 種について分類学的研究を行った。1 章 1 部で申請者は南アのタイドプールで採集された 2 種の dinotom、*Durinskia capensis* と *Durinskia* sp.（Marina Beach 株）が系統的に非常に近縁であるにもかかわらず異なる珪藻種を保持していることを明らかにしたが、さらに両者は鎧板配列の形態において区別できること、培養時の栄養要求性が異なることから、Marina Beach 株を新種と同定し *Durinskia kwazulunatalensis* として記載した。さらに、砂地に生息するベントス性（底生性）2 種については、それぞれ、*Galeidinium*

phymatodeum と *G. conglobatum* として記載した。これらは既知種である *Galeidinium rugatum* と系統的に近縁であるが、不動細胞の形態が異なることから容易に区別され、また 2 種同士も細胞外形の違いによって区別できることからそれぞれ新種とした。一方、これら 3 種は砂地のベントス性である、生活環のほとんどを不動細胞で過ごす、宿主の渦鞭毛藻が近縁で単系統となる、共通の珪藻種を保持していること等、他の dinotom と異なった特徴を共有することからこれら 2 新種は既存の *Galeidinium* 属に所属させることが妥当であると結論した。

2 章では渦鞭毛藻の生活形と光合成色素組成との関連を考察した。77%以上の渦鞭毛藻は海産のプランクトン性（浮遊性）種であるが、200 種程度は海産ベントス性として砂浜、潮間帯、海底などに生息している。同じグループでも光合成色素組成が生育環境によって異なることは海藻類などでもよく知られており、渦鞭毛藻でも生育環境と光合成色素組成の関係は興味深い。しかしながらこれまで渦鞭毛藻における色素分析の研究は、プランクトン種を対象にしたものが大多数でそのような観点からの研究は皆無である。そこで本章では、渦鞭毛藻の生活形タイプと光合成色素組成との関係を明らかにすることを目的として、dinotom に加え、典型的葉緑体をもつ渦鞭毛藻を含めた 2 タイプの葉緑体をもつ計 40 種 45 株について HPLC による色素分析を行った。分析した渦鞭毛藻は、砂地に住むベントス性、タイドプール性、プランクトン性の 3 タイプの生息場所に分けて解析した。生活形のタイプごとに色素分布を比較したところ、砂地に住む渦鞭毛藻に特異的に検出される 10 以上の色素が発見された。

2 章 1 部では特にクロロフィル *a* の分解産物である 13^2,17^3-cyclopheophorbide *a* enol（cPPB-*a*E）に着目した。cPPB-*a*E は蛍光を発しない、ピーク 425、451、625nm の吸収波長をもつ特異な色素である。1986 年の発見以来、この色素は海産無脊椎動物や海底の堆積物からのみ検出・報告されてきた。このことから微細藻類を捕食する動物や単細胞性従属栄養生物の体内でクロロフィル *a* の過剰励起を抑えるためにこの色素が産出されていることが先行研究により推測されていた。本研究により一部の光合成生物でも cPPB-*a*E が生成されることが初めて発見され、これまで推測されてきた機能とは異なり光合成生物では光過剰条件下における消光作用のためにこの色素が使われているものと推測された。さらにこの色素が砂地性渦鞭毛藻 6 種からのみ検出されたことから生息域と光合成色素組成の関連性が示唆された。

2 章 2 部では分析した 40 種 45 株の渦鞭毛藻を上記 3 つの生息場所と 2 つの葉緑体タイプに分け、光合成色素組成との関係性を解析した。その結果、典型的葉緑体をもつ砂地性渦鞭毛藻のみからプランクトン性種には見られない 12 の未知のカロテノイドが見つかり、同様の傾向は珪藻由来の葉緑体タイプでも見られた。このことは色素組成と生活形の関連性を強く示唆するものである。さらに自由生活性の珪藻と dinotom の色素を比較し、共生珪藻は渦鞭毛藻に獲得された後に大幅な色素改変が起こっていることを発見した。

以上本研究は、渦鞭毛藻においては dinotom の系統で共生珪藻を入れ換えが頻繁に起こっており、さらに色素組成が葉緑体タイプに関わらず生育環境への適応の結果大幅に改変されていることを初めて示したもので、渦鞭毛藻における葉緑体の進化過程および光合成色素組成の環境適応に関して新知見を得たものである。