



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Diversity of endosymbiotic diatoms and photosynthetic pigments in dinoflagellates
Author(s)	山田, 規子
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
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/2115/59801
Type	doctoral thesis
File Information	Norico_Yamada_summary.pdf



学 位 論 文 の 要 約

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。本グループの生物は数々のユニークな生物学的特性を示すが、葉緑体の獲得現象の複雑さも他の生物に例を見ない渦鞭毛藻の特徴である。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、典型的葉緑体の起源やその葉緑体ゲノム解析、または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が占め、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・光合成色素の進化と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一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）、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。

1 章では、珪藻由来の葉緑体を持つ渦鞭毛藻（dinotom）について、その共生珪藻と宿主の渦鞭毛藻の起源と多様性について調査した。これまでに 12 種類の dinotom が知られているが、培養株として確立されている種は 2 種のみであり、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 *Chaetoceros*, *Cyclotella*, *Discostella*, *Nitzschia* の 4 属 4 種の多様な自由生活性珪藻に由来することが報告されてきたが、その中で *Nitzschia* 由来の共生藻を持つ種が多いこと、宿主の渦鞭毛藻が単系統群であることから、dinotom の共通祖先が 1 度 *Nitzschia* を取り込み、その後その共生珪藻を他の属の珪藻に入れ替えたのではないかと考えられてきた。このことから dinotom の共生 *Nitzschia* 種は同一種に由来すると推測されてきたが、多くの dinotom が難培養性であることから、共生 *Nitzschia* 種の詳細な系統学的な位置は不明であった。以上の背景から本研究では、(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で、(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 *rbcL* 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。共生珪藻が既知の dinotom を加えると、4 属 9 種もの珪藻が dinotom に葉緑体として使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、7 種のうち 3 種について分類学的考察を行った。申請者は、1 章 1 部で南アフリカ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い種であるにもかかわらず異なった珪藻種を保持していることを明らかにした。両者の形態は類似するものの、鎧板配列の形態において区別できること、また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）の 2 種については、それぞれ、*Galeidinium phymatodeum* と *G. conglobatum* として記載した。この 2 種は、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、この 2 種同士は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であると判断した。一方、これら 3 種は砂地に住むベントス性種であること、生活環のほとんどを不動細胞として過ごすこと、宿主の渦鞭毛藻が非常に近縁で 1 つのクレードを形成すること、3 種が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していることからこれら 2 新種を *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が異なるもの同士で光合成色素組成がどのようになっているのかは興味深い。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あった。そこで本章では、渦鞭毛藻の生活形の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も含めた 2 タイプの葉緑体をもつ種、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、プランクトン性種 3 タイプの生息場所に分けて解析した。生活形タイプごとに色素の分布を比較したところ、砂地に住む渦鞭毛藻のみから検出される 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 13², 17³-cyclopheophorbide *a* enol (cPPB-*aE*) に着目した。cPPB-*aE* は蛍光を発しない、ピーク 425、451、625nm の吸収波長をもつ等の特異的な色素である。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-*aE* が生成されることが発見され、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。さらに申請者はこの色素が砂地性渦鞭毛藻 6 種からのみ検出されることを見だし、生息域と光合成色素組成の関連性が示唆された。

cPPB-*aE* が砂地性種に偏って検出されることから、2 章 2 部では分析した 40 種 45 株の渦鞭毛藻を 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、12 の未知のカロテノイドが砂地性渦鞭毛藻のみから見つかる傾向があることが本研究から示された。この傾向は 2 つの葉緑体のタイプに関わらず紅藻、珪藻どちらの葉緑体タイプでも見られ、また未知カロテノイド群は 1 つまたは複数の新規カロテノイドの中間産物や分解産物と推測される。cPPB-*aE* は典型的葉緑体を持つ砂地性種のみで検出された。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、dinotom の系統で共生珪藻を入れ換えが頻繁に起こっていること、さらに獲得後は、その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生活形との対応関係に関して新知見を得た。