

新規エクスカバータ鞭毛虫 TKB-055 株の 分類学的・系統学的研究

矢吹 彬憲¹, 中山 剛¹, 雪吹 直史², 橋本 哲男¹, 稲垣 祐司¹, 石田 健一郎¹
(¹筑波大学大学院 生命環境科学研究科, ²Departments of Botany and Zoology the University of
British Columbia)

Strain TKB-055: A Novel Typical Excavate Flagellate in the “Discoba” Clade

Akinori YABUKI¹, Takeshi NAKAYAMA¹, Naoji YUBUKI², Tetsuo HASHIMOTO¹,
Yuji INAGAKI¹ and Ken-ichiro ISHIDA¹ (¹Graduate School of Life and Environmental Sciences,
University of Tsukuba, ²Departments of Botany and Zoology the University of British Columbia)

SUMMARY

We report the ultrastructure and phylogenetic position of a free-living heterotrophic flagellate strain TKB-055. This flagellate was isolated from a pond on the campus of University of Tsukuba. The cell is spherical and its diameter is approximately 15 μm . Light microscopic observations revealed that the cell is naked and highly vacuolated, and that the vegetative cells are always swimming with a rotating motion. Although light microscopy revealed no clear affinity to any taxonomic group, our electron microscopic observations revealed that strain TKB-055 possessed a shallow but typical ventral feeding groove, which is one hallmark characteristic of the supergroup Excavata (Simpson and Patterson 1999). The multigene phylogeny using α -tubulin, β -tubulin, Actin, 90 kDa heat shock protein, and translation elongation factor 2 also showed that strain TKB-055 belongs to a subgroup of Excavata, “Discoba,” which is proposed, based on results of several recent studies, as a phylum or super phylum level. Three major groups exist in “Discoba” (euglenozoans, heteroloboseans, and jakobids). Although the detailed position of strain TKB-055 in the “Discoba” clade could not be resolved using the present analyses, some ultrastructural similarities to other members in “Discoba” were recognized. Results show that taxonomically and phylogenetically strain TKB-055 is a novel and missing-link protist within “Discoba”.

[目的] 近年の様々な原生物における網羅的発現遺伝子解析や単細胞 PCR 法を用いた研究によって、これまで所属不明として扱われてきた多くの原生物の系統学的・分類学的位置が明らかになってきた。その一方、野外には未だ多くの新規原生物が未発見のまま存在している（例えば Epstein and López-García, 2008）。このような生物種は「missing-link」として、複雑な生物進化を解明する糸口を提供する可能性がある。TKB-055 株は筑波大学構内の兵太郎池で獲得したサンプルより確立した従属栄養性の原生物である。予備的な観察からは本株の既知の生物群に対する明確な類縁性は確認されず、本株が高次レベルで新規原生物である事が示唆された。本研究ではより詳細な形態観察と系統的位置の推定を行い、本株の分類学的位置の決定を目的とした。

[方法] 光学顕微鏡観察は生細胞を用いて行った。透過型電子顕微鏡観察は、一般的な試料作成法の一つである Eikrem and Moestrup (1998) に準拠して作製した試料から連続切片を作製し観察した。培養細胞より DNA を抽出し、これをテンプレートとし SSU

rDNA の塩基配列を決定した。培養細胞より total RNA を抽出後、これをテンプレートに cDNA を合成した。この cDNA をテンプレートにし、 α -tubulin, β -tubulin, Actin, 90 kDa heat shock protein, translation elongation factor 2 をコードする遺伝子配列を決定した。系統解析は最尤法を用いて行った。タンパク質コードの遺伝子是对応するアミノ酸配列に変換後、それぞれの配列ごとにパラメーターを最適化する Separate モデルを用いて解析を行った。

[結果と考察] 光学顕微鏡観察から TKB-055 株は二本鞭毛性の球状細胞で大きさはおよそ直径 15 μm であった。細胞内には複数の液泡が存在する事が確認された。また栄養細胞は常に回転（自転）するという特徴的な遊泳様式を示した。電子顕微鏡による観察の結果、本株の細胞内には Golgi 体や核膜より生じる典型的な小胞体は確認されなかった。その一方で細胞端に浅い Ventral feeding groove（以下、VFG）と呼ばれる構造が確認された。VFG は Excavata 生物群の特徴として知られる、微小管で裏打ちされた補食に関する溝構造である (Simpson and Pat-

terson, 1999)。Excavata は真核生物の巨大生物群の一つであり、Metamonada と Discoba という2つのサブグループに分けることが提唱されている（例えば Hampl et al., 2009）。今回行った SSU rDNA による系統解析では、TKB-055 株の位置を特定することが出来なかったが、複数遺伝子解析の結果 Discoba クレードに含まれる事が強いサポートをもって示された。以上の結果は本株がこれまで認識されていなかった新たな Excavata 生物である事を示すものであり、これより分類学的には TKB-055 株を Discoba に含まれる新規原生生物として扱う事が妥当であると結論した。本研究では Discoba clade 内での TKB-055 株の詳細な系統的位置は解明出来なかったが、電子顕微鏡による観察結果をもとに立体構築した本株の鞭毛装置構造からは Discoba 内のサブグループである Heterolobosea と Jakobida のそれに対する類縁

性が確認された。これは TKB-055 株が Discoba 内での形態的進化のカギを握る生物で特に Heterolobosea – Jakobida 間をつなぐ生物である可能性を示している。

[文献]

- 1) Simpson, A.G. and Patterson, D.J. (1999) *Eur. J. Protistol.*, 35, 353–370.
- 2) Epstein, S. and López-García, P. (2008) *Biodivers Conserv.*, 17, 261–276.
- 3) Eikrem, W. and Moestrup, O. (1998) *Phycologia*, 37, 132–153.
- 4) Hampl, V., Hug, L., Leigh, J.W., Dacks, J.B., Lang, B.F., Simpson, A.G. and Roger, A.J. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 106, 3859–3864.