

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		環境真核微生物の多様性把握に向けた遺伝的種概念の枠組み構築			
研究テーマ (欧文) AZ		Genetic species concept for understanding diversity of environmental micro-eukaryotes			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) ホシナ	名) リョウ	研究期間 B	2010 ~ 2012年
	漢字 CB	保科	亮	報告年度 YR	2012 年
	ローマ字 CZ	Hoshina	Ryo	研究機関名	立命館大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		立命館大学生命科学部生命医科学科・助手			
<p>生物多様性保全が盛んに叫ばれる時代にありながら、微小な真核生物では多様性の把握すら満足に進んでいない。類似する2個体が同種なのか別種なのか、形態的相違点が見つからない場合は同種として扱ってよいのか。微生物の多様性把握が進まない原因はまさにここにある。形態識別不能かつ有性生殖をおこなわないクロレラ類(トレボウクシア藻綱クロレラ科の球状藻)はこの典型であり、多数の隠蔽種を含有すると考えられる。これまでの知見より、Internal transcribed spacer 2 (ITS2)という分子比較が、クロレラ類において判別不能な2個体を識別するカギとなる可能性があり、本研究ではITS2をマーカーとしたクロレラ類の新分類を目指した。</p> <p><b>保存機関株の解析</b>          国立環境研究所(NIES)所有の全クロレラ類について精査した。SSU rDNA および ITS2 領域を精査した結果、以下に示す3つのケースを認め、これらの分類変更と新種記載を含む論文を投稿している。1) 誤同定→別のクロレラ属既知種、2) 誤同定→クロレラ科内別属新種、3) 未同定種→クロレラ科内別属新種(2種)          代表者が以前新種記載したクロレラ科藻類(<i>Micractinium reisseri</i> CCAP 211/83)が、複雑な歴史的経緯を持つ既報の種(SSU rDNA エクソン領域はほぼ同一配列だが ITS2 情報なし)のシノニムとされた件(Environ Microbiol 13: 350-364)に対し、<i>M. reisseri</i> のユニークな Group I intron (Mre.S651)挿入の有無等をもとに反論。最終的に <i>M. reisseri</i> の独立性が認められた。</p> <p><b>採集した天然の球状藻解析</b>          ドイツ、ベトナム、および日本各地より約 200 の自由生活型球状緑色藻を株化している。当初の予測とは異なり、これらの大半がクロレラ科以外に所属する緑色藻であり、詳細な分類については今後のテーマとして引き続き取り組んでいきたい。          琵琶湖関連水域より採集した原生動物、ラッパムシが細胞内共生させていた球状緑色藻を解析した。ラッパムシの共生藻はクロレラとされてきたが、本藻は緑藻綱の一種であった。属の特定はできたが、ITS 領域に激しいゲノム内多型が認められ、種同定には至っていない。</p> <p><b>Group I intron の解析</b>          上記 Mre.S651 と極めて近い位置に挿入するイントロンを持つ近縁藻類の報告(Protistology 6: 39-44)を受け、このイントロンの詳細を解析。挿入位置が10塩基上流(S641)の新規箇所であること、極めてユニークな方法で新規挿入箇所を獲得し、近縁藻類へ急速に拡散している可能性を示唆した。</p>					
キーワード FA	クロレラ	ITS2	種分類	Group I intron	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Comments on the taxonomic treatment of <i>Micractinium reisseri</i> (Chlorellaceae, Trebouxiophyceae), a common endosymbiont in <i>Paramecium</i>							
	著者名 <sup>GA</sup>	R Hoshina	雑誌名 <sup>GC</sup>	Phycological Research					
	ページ <sup>GF</sup>	269~272	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	1	巻号 <sup>GD</sup>	59
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Analysis of an intron intervening the SSU rDNA of <i>Chlorella</i> sp. T-24-5, a photobiont of <i>Paramecium bursaria</i>							
	著者名 <sup>GA</sup>	R Hoshina	雑誌名 <sup>GC</sup>	Japanese Journal of Protozoology					
	ページ <sup>GF</sup>	(online)	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	2	巻号 <sup>GD</sup>	45
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Photobiont flexibility in <i>Paramecium bursaria</i> : double and triple photobiont co-habitation							
	著者名 <sup>GA</sup>	R Hoshina, Y Fujiwara	雑誌名 <sup>GC</sup>	Advances in Microbiology					
	ページ <sup>GF</sup>	(in press)	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	2	巻号 <sup>GD</sup>	2
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

Although biodiversity conservation has been paid much attention, microbial diversity remains largely unknown. Here we investigated species boundaries of *Chlorella* and its related species (Chlorellaceae, Trebouxiophyceae) with internal transcribed spacer 2 (ITS2) gene difference.

#### Analyses of public cultures

We examined all *Chlorella* strains of National Institute for Environmental Studies (NIES), and found the following three problematic cases:

- 1) Misidentification: a strain of *C. sorokiniana* was misidentified as *C. vulgaris*.
- 2) Misidentification: a new species of different genus of Chlorellaceae was misidentified as *C. sorokiniana*.
- 3) Unidentified *Chlorella* species: two strains were new species of different genera of Chlorellaceae.

*Micractinium reisseri*, a chlorellacean species before we described, was treated as a synonym of other species (Environ Microbiol 13: 350-364). Its SSU rDNA exon region was nearly identical to *M. reisseri* but lacked ITS information. I argued this synonymization mainly based on the unique intron insertion of SSU rDNA of *M. reisseri* (Mrs.S651), and finally the autonomy of *M. reisseri* was accepted.

#### Analyses of field sample collections

Almost 200 isolates of green coccoids were collected from Germany, Vietnam and Japan. Unexpectedly, most of them did not belong to Chlorellaceae, and thus I will continue to examine their taxonomy.

We characterized the algal symbionts of a ciliate *Stentor polymorphus* collected from Lake Biwa, Japan.

#### Analyses of group I introns

A chlorellacean alga with an intron inserted at nearly the same position to Mrs.S651 was reported (Protistology 6: 39-44). I found that the insertion position is 10 nucleotide upstream of Mrs.S651, and that the intron might get this position through a very unique way, and be rapidly spread among the related algae.