

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 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>保存機関株の解析 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>採集した天然の球状藻解析 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>Group I intron の解析 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 ^{GB}	Comments on the taxonomic treatment of <i>Micractinium reisseri</i> (Chlorellaceae, Trebouxiophyceae), a common endosymbiont in <i>Paramecium</i>							
	著者名 ^{GA}	R Hoshina	雑誌名 ^{GC}	Phycological Research					
	ページ ^{GF}	269~272	発行年 ^{GE}	2	0	1	1	巻号 ^{GD}	59
雑誌	論文標題 ^{GB}	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 ^{GA}	R Hoshina	雑誌名 ^{GC}	Japanese Journal of Protozoology					
	ページ ^{GF}	(online)	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	45
雑誌	論文標題 ^{GB}	Photobiont flexibility in <i>Paramecium bursaria</i> : double and triple photobiont co-habitation							
	著者名 ^{GA}	R Hoshina, Y Fujiwara	雑誌名 ^{GC}	Advances in Microbiology					
	ページ ^{GF}	(in press)	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	2
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

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.