

研究集会「シアノバクテリアの生態学的多様性と系統分類」

京都大学生態学研究センター，日本微生物資源学会（協力）

日時：11月23日（木）13:00～17:00

会場：京都大学理学研究科セミナーハウス

<http://www.sci.kyoto-u.ac.jp/ja/map.html>

プログラム

- 13:00～13:05 開会の挨拶と趣旨説明
花田智（首都大学東京大学院理工学研究科）
- 13:05～13:35 講演1： シアノバクテリアにおけるクロロフィルの多様性と系統
宮下英明（京都大学地球環境学堂）
- 13:35～14:05 講演2： ゲノム情報に基づくシアノバクテリアの補色順化の多様性の解析
広瀬侑（豊橋技術大学環境・生命工学系）
- 14:05～14:35 講演3： シアノバクテリアの光屈性の多様性
片山光徳（日本大学生産工学部教養・基礎科学系）
- 14:35～15:05 講演4： アオコ形成ラン藻 *Microcystis* の多様性： genotype vs. ecotype
田辺雄彦（筑波大学藻類バイオマス・エネルギーシステム
開発研究センター）
- 15:05～15:15 休憩
- 15:15～15:45 講演5： NIES カルチャーコレクションにおけるシアノバクテリア株
山口晴代（国立環境研究所生物・生態系環境研究センター）
- 15:45～16:15 講演6： 海産巨視的群体形成糸状シアノバクテリアおよび
気生シアノバクテリアの分類と多様性
須田彰一郎（琉球大学理学部自然科学科）
- 16:15～16:45 講演7： どうなるシアノバクテリアの新種提案？ -シアノバクテリアの
国際命名規約に絡む厄介な問題-
花田智（首都大学東京大学院理工学研究科）
- 16:45～16:55 総合討論、閉会の挨拶
中野伸一（京都大学生態学研究センター）

司会進行・コメンテーター

程木義邦（京都大学生態学研究センター）

得平茂樹（首都大学東京大学院理工学研究科）

本研究集会は京都大学生態学研究センター公募研究集会「シアノバクテリアの生態学的多様性と系統分類（代表：花田智）」によって企画・実施されます

講演 1

シアノバクテリアにおけるクロロフィルの多様性と系統

宮下 英明

京都大学地球環境学堂

シアノバクテリアの光合成クロロフィルには、Chl. *a*, DV-Chl. *a*, Chl. *b*, DV-Chl. *b*, Chl. *d*, Chl. *f*, MgDVP が知られている。これだけたくさんのクロロフィルの組み合わせをもつ生物はシアノバクテリアに限られている。真核藻類では、クロロフィル組成が系統を強く反映するものの、シアノバクテリアでは必ずしもそうとは言えない。これらのことを踏まえて、シアノバクテリアにおけるクロロフィルの多様性とその生態学的意義について議論する。

講演 2

ゲノム情報に基づくシアノバクテリアの補色順化の多様性の解析

広瀬 侑

豊橋技術大学 環境・生命工学系

補色順化とは、シアノバクテリアの光合成アンテナであるフィコビリソームの構成タンパク質が、緑色光と赤色光の量比に応じて調節される光応答である。補色順化の存在自体は非常に古くから知られていたが、その光色感知の分子機構が明らかとなったのはごく最近である。本発表では、私がこれまで取り組んできたユニークなフィトクロム様光受容体による補色順化の制御機構の解析と、次世代シーケンサーを用いた補色順化の分子機構の多様性の解析についてご紹介する。

シアノバクテリアの光屈性の多様性

片山 光徳

日本大学生産工学部教養・基礎科学系

光屈性は運動性を持たない生物が光の照射方向と関連した方向に成長する現象である。光屈性は多くの陸上植物や一部の藻類, 菌類で観察されているが, 一部の糸状性のシアノバクテリアにおいても観察されている。本発表では, 光屈性を示すシアノバクテリアと光屈性を誘導する光の波長の特性について報告する。

光屈性は, 糸状性シアノバクテリア *Calothrix* 属, *Tolypothrix* 属, *Scytonema* 属, *Fischerella* 属に含まれる 23 株において観察されている。これらのシアノバクテリアは, ヘテロシストを分化し, 糸状体が鞘に覆われ, 生育中は運動性を示さないという共通点を持っている。また, 多くの種は土壌などの陸上の環境から単離されている。

光屈性を誘導する光の波長依存性を調べるため, 発光ダイオードを用いた単色光の照射実験を行った結果, *Calothrix* 属および *Tolypothrix* 属のシアノバクテリアでは 460 nm の青色光により正の光屈性が誘導されることが明らかとなった。また *Fischerella* 属のシアノバクテリアでは青色光の他に 750 nm の遠赤色光でも正の光屈性が誘導された。これらのシアノバクテリアでは光屈性の誘導のために背景から 620 nm 付近の橙色の光を同時に照射する必要があった。この理由として光屈性を誘導する光のみでは光合成による糸状体の成長を維持できないのではないかと推測している。*Scytonema* 属のシアノバクテリアでは 550nm の緑色光により正の光屈性が誘導され, 620nm の橙色光により負の光屈性が誘導された。このシアノバクテリアでは光屈性の誘導のために背景光の照射は不要であった。

光屈性を誘導する光の波長の多様性は, それぞれのシアノバクテリアが生育する光環境の違いを反映しているものと思われる。本発表ではさらに主な研究材料に用いている *Calothrix* 属のシアノバクテリアを用いた解析の結果についても併せて報告する。

アオコ形成ラン藻 *Microcystis* の多様性： genotype vs. ecotype

田辺 雄彦

筑波大学藻類バイオマス・エネルギーシステム開発研究センター

Microcystis aeruginosa (ミクロシスティス・エルギノーザ) は世界中の淡水で普通に見られるラン藻の一種であり、とくに富栄養化した湖沼でアオコを形成することで知られている。この種によるアオコが発生すると、アオコ毒素の放出による健康被害やアオコ減衰時の腐敗による悪臭・底層の酸欠など様々な水環境問題を引き起こすため、社会的にも注意すべきラン藻として認知されている。他のラン藻がそうであるように、*Microcystis* 属は古くは形態に基づいて種分類がなされていた。この属は細胞形態自体に大きな差はないが、球形の細胞が多様かつ特徴的な形状の群体 (コロニー) をつくるため、コロニー形態の違いに基づき複数の種に分類されていた。その後、16S rDNA 配列にほとんど違いがないことが判明したため、現在では *M. aeruginosa* 一種として扱う、という考え方が主流である。その一方、複数のタンパク配列に基づく (解像度をあげた) 分子系統解析の結果から、本種が明瞭な 10 以上の種内系統群に分割されることがわかった。ここで存在が明らかになった種内系統群は、本種の何らかの形質の多様性を反映したものなのだろうか? バクテリアの系統分化を起す evolutionary force には、地理的隔離や偶然 (遺伝的浮動) などいくつかあるが、「異なる生態系適応によって起こる自然選択」もその一つである。実は本種内にはアオコ毒素の有無、補助色素の違い、塩分耐性の有無等、異なる生態系適応をもたらさうる variation がいくつかあることが知られている。近年の全ゲノム解析のハイスループット化により、これらの生態学的多様性について、ゲノムレベルで考察することが比較的容易になった。本講演では *M. aeruginosa* の生態学的多様性を紹介し、遺伝子型との相関を見ていくことにする。本種の種内の系統群 (genotype) と生態学的特性 (ecotype) が一致したとき、その系統群に対して新たな分類学的措置を提案することが可能になるかもしれない。

NIES カルチャーコレクションにおけるシアノバクテリア株

山口晴代

国立研究開発法人国立環境研究所 生物・生態系環境研究センター

国立環境研究所微生物系統保存施設（NIES コレクション）では、微細藻類、原生生物、絶滅危惧藻類の収集、保存、提供を行っており、平成 29 年 10 月末日現在、2742 株を公開している。また、国立環境研究所は日本医療研究開発機構（AMED）ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）の中で、藻類リソースの中核的拠点整備プログラムの中核機関として、国内における藻類リソースの集約と保存提供体制の整備、保存株の高品質化や凍結保存への移行等を行ってきた。

我々の全保存株のうちの約 29%にあたる 783 株がシアノバクテリアであり、この数は世界の主要な藻類カルチャーコレクションと比べると、フランスパスツール研究所シアノバクテリアカルチャーコレクション（PCC）の 750 株を超える世界一の保存株数である（表 1）。NIES コレクションの特徴は、*Microcystis aeruginosa*をはじめ、アオコ形成シアノバクテリアが 417 株と多く、全シアノバクテリア株数の約 56%を占めること、そしてシアノバクテリア株の無菌化率は 15%で、PCC の 100%には及ばないながら、世界的には第二位の無菌化率にあたる。このように、NIES コレクションは真核藻類の保存株数のみならず、シアノバクテリア株においても、世界有数のカルチャーコレクションと言える。このうち、正規株（Authentic strain）は 8 株、全ゲノム解析済みの株は 50 株、地球規模生物多様性情報機構（GBIF）に地理情報を登録した株は 367 株である。

現在、国立環境研究所では、*M. aeruginosa* などのアオコ形成シアノバクテリアの全ゲノム解析を進めるとともに、16S rRNA 遺伝子を用いた保存株の DNA バーコーディングを行っている。NIES コレクションには、NBRP の活動を通して国立科学博物館と東京大学分子細胞生物学研究所（IAM コレクション）から移管されたまとまった数のシアノバクテリア保存株が存在する。これらの保存株のうち、これまで形態のみで同定されてきた株は DNA バーコーディングによる再同定が必要であり、現在、精力的に再同定を進めている最中である。

今後、さらなる保存株の無菌化と全ゲノム情報の整備を行うとともに、研究コミュニティと意見交換をしながら、研究者が利用しやすい・利用したい分類群を収集するなど、持続的に NIES カルチャーコレクションを利用してもらえる取り組みを行っていきたいと考えている。

表 1. 世界各国のコレクションにおけるシアノバクテリアの保存株数と無菌化率

コレクション名	保存株数	無菌化率
NIES（日本）	783	15%
PCC（フランス）	750	100%
RCC（フランス）	385	?
UTEX（アメリカ）	259	8%
SAG（ドイツ）	231	7%
CCAP（イギリス）	164	0%
NCMA（アメリカ）	163	12%

海産巨視的群体形成糸状シアノバクテリアおよび 気生シアノバクテリアの分類と多様性

須田 彰一郎

琉球大学理学部海洋自然科学科

近年のシアノバクテリアの分類は、遺伝子の塩基配列に基づく系統解析、特に 16S rRNA 遺伝子塩基配列と、形態学的な比較検討を行う多相分類の方法によりなされている。過去 5 年では、20 を超える新属の提案もなされ、シアノバクテリア分類の大幅な見直しの時代を迎えている。本発表では現在私の研究室で行っている海産巨視的群体形成糸状シアノバクテリアと気生シアノバクテリアについて紹介する。

海産の巨視的群体形成糸状シアノバクテリアは、世界中の熱帯・亜熱帯海浜域から報告され、多様な二次代謝産物の生産で注目され、沖縄の海浜域からも報告されている。多くの場合培養は困難で同様の群体を大量に採集し、そこから物質を抽出することで研究されている。沖縄海浜域から巨視的群体を採集し、クローニング及び単一糸状体を用いた PCR 法により 16S rRNA 遺伝子の部分塩基配列を得た。Lyngbya 属のタイプである *L. confervoides* と近年設立された属を加えて系統解析を行ったところ、採集した群体は、Lyngbya 属とは系統群を形成せず、近年設立された属に加え、さらに未知の系統的位置を示すことが判明した。このことから、Lyngbya とされてきた巨視的群体を形成する海産糸状シアノバクテリアには、近年提唱された分類群に加えて、さらに異なる分類群が含まれている可能性が示唆された。

一方、沖縄の建築物の表面は黒く汚れていることが多く、その主要な原因は気生シアノバクテリアの生育であるが、どのような種類かは報告されていない。そこで、琉球大学構内の校舎の壁や階段、石碑などの表面から分離培養株を確立し、その多様性を解析した。得られた 143 株のうち、22 株から 16S rRNA 遺伝子部分塩基配列が決定でき、系統解析を行ったところ、データベースから近縁な属が判明した株と近縁なデータが存在しない株が明らかとなった。この結果は、大学構内という狭い範囲であっても多様な気生シアノバクテリアが生育していることと、気生シアノバクテリア研究が世界的に進んでいないことを示している。

いずれの場合も、研究したシアノバクテリアの遺伝的多様性は高く、詳細な形態学的研究とともに、分類学的な報告を行わねばならない。加えて、データベース上に正確な分類名を登録しなおし、培養が可能な場合は培養株を整えて、公的な保存機関に寄託するか、少なくとも比較対象株の提供が可能なように整備しておく必要がある。

講演 7

どうなるシアノバクテリアの新種提案？ － シアノバクテリアの国際命名規約に絡む厄介な問題 －

花田 智

首都大学東京大学院理工学研究科

かつて、シアノバクテリアは二つの国際命名規約に縛られていた。国際細菌命名規約 (Bacterial code) とそれとは異なる分類基準である国際藻類・菌類・植物命名規約 (Botanical code) の二重支配である。つまり、この二つの規約に二重に支配され、それぞれ独立に（または軋轢を生じさせつつ）シアノバクテリアの分類や新種提案が行われるというも待った状況であったのは事実である。目に余るこの状況に、細菌側 (ICSP : International Committee on Systematics of Prokaryotes) が痺れを切らし（てか、どうかは分かりかねるが）、Bacterial code からシアノバクテリアを外すという提案が 2014 年に為された。簡単に言えば「シアノバクテリアは面倒くさいから、藻類の命名規約の下でやってくれ、今後は細菌命名規約側はそれを関知しない」という、ぶっちゃけ捨て鉢になってしまった発言ともいえる提案に、（私も含め特に光合成関連の）一部の細菌分類学者が大激怒し、反論（反撃？）を開始する機会を窺い続けている。シアノバクテリアの新種を発見したとしても、細菌学者としてその新種提案をどの様に行って良いのやら悩み込んでしまうと行った、そんな困った状況なのである。