

片野俊也・福井学：16S rRNA 遺伝子を対象とする PCR-DGGE 法を用いた優占ピコシアノバクテリア個体群の推定

Toshiya Katano and Manabu Fukui: Molecular inference of dominant picocyanobacterial populations by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR amplified 16S rRNA gene fragments

鋳型 DNA (テンプレート) 希釈と PCR-DGGE 法を組み合わせたピコシアノバクテリア優占個体群の推定法を検討した。ピコシアノバクテリア単離株 3 株を用いて細胞密度比の異なるサンプルを作成した。サンプルから抽出した核酸を段階的に希釈したものをテンプレートとし、シアノバクテリアに特異的なプライマーセットを用いて PCR-DGGE 解析を行った。単離株 3 株のうち細胞密度が 10% を占める 2 株は高次希釈段階では DGGE ゲル上でバンドとして認められなくなり、80% の株のみがバンドを形成した。しかし 3 株が近い割合 (40%, 30%, 30%) で存在している場合には、テンプレートを希釈しても DGGE ゲル上にバンドが 3 つとも残るため、細胞数の高い株を特定できなかった。同じ方法によって 1999 年 8 月の水深 1m と 5m から採水した湖水サンプルを用いて、最優占ピコシアノバクテリアの特定を試みた。2 つのサンプルともに高次希釈段階では *Synechococcus* sp. PCC9005 に近縁な同一バンドが DGGE ゲル上に残り、最優占個体群を特定できた。以上の結果より、野外ピコシアノバクテリア群集における優占個体群の推定に、テンプレート希釈を組み合わせた PCR-DGGE 法は有用と考えられる。(東京都立大学・院・理学研究科)

吉川伸哉・長里千香子・市村輝宜・本村泰三：褐藻ヒバマタ目植物ウガノモクの精子形成過程における精子核の変形について

Shinya Yoshikawa, Chikako Nagasato, Terunobu Ichimura and Taizo Motomura: Morphological changes of sperm nuclei during spermatogenesis in the brown alga *Cystoseira hakodatensis* (Fucales, Phaeophyceae)

ウガノモク (*Cystoseira hakodatensis*) の精子形成過程では減数分裂終了後、4 回の核分裂が起こり造精器内に 64 個の核が形成される。造精器内に形成された 64 個の球形の核はクロマチン凝縮を伴いながら最終的にわん曲した細長い核に変形する。精子形成過程における核の大きさを計測すると、精子核の大きさは精子母細胞核の 10 分の 1 以下であること、核の大きさの減少は 64 核形成までの核分裂を伴った大きさの減少と、核分裂終了後の球形の核が細長い核に変形することによる減少の 2 つの過程からなることが示された。精子核のクロマチン凝縮は球形の核の核膜周辺部分から開始される。クロマチン凝縮の進行と共に核膜周辺部にクロマチンの顕著な偏在が見られるようになり、核の中央部分にクロマチンをほとんど含まない部分が観察された。その後、核中央のクロマチンをほとんど含まない部分が押し潰されるように核の変形

が起こり均一に凝縮したクロマチンから成る細長い核が形成される。(北大・北方生物圏フィールド科学センター)

Rines, J. E. B.¹・Theriot, E. C.²：キートケロス科 (珪藻綱) の系統分類学的研究 I. 系統学的解析

Jan E. B. Rines and Edward C. Theriot: Systematics of Chaetocerotaceae (Bacillariophyceae). I. A phylogenetic analysis of the family.

珪藻キートケロス科内の系統関係のモデルを構築するために、*Chaetoceros* Ehrenberg の 37 種 (すべての亜属と 22 節のうち 21 節を含む) と、*Bacteriastrium* Shadbolt の 3 種 (2 節の両方を含む) をもとに分岐解析を行った。*Eucampia* Ehrenberg, *Cerataulina* Peragallo, *Hemiaulus* Ehrenberg, *Attheya* West および *Gonioceros* H. & M. Peragallo のそれぞれ 1 種を外群として用いた。光学顕微鏡および電子顕微鏡を用いた著者らによる観察と文献のデータを統合し、65 の二値的もしくは多値的形態形質を構築した。解析の結果、316 ステップの最節約系統樹が 36 個得られ、サンプル数の少なかった *Hyalochaete* 亜属のいくつかの節において、系統樹間の不一致が著しかった。いくつかの方法でこの仮説の頑健性を調べた。形質の重み付け効果を評価するために、ランダムに重み付けた形質をもとにブートストラップ解析を行った。崩壊指数に基づいて節約基準を緩和し、その樹長をランダムなデータ行列に基づく系統樹の樹長と比較した。解析した *Chaetoceros* の *Phaeoceros* 亜属、*Hyalochaete* 亜属および *Bacteriastrium* の大半は、別々のクレードから成るのではなく、連続的な階級に属しているようである。つまり *Chaetoceros* は側系統群ということになり、従来の分類は推定されるこの科の系統関係を正確に反映していないといえる。(¹University of Rhode Island, USA, ²University of Texas, USA)

寫田智¹・平岡雅規²・名畑進一³・飯間雅文⁴・増田道夫⁵：日本産アオサ属およびアオノリ属 (アオサ藻綱, アオサ目) の分子系統学的解析, 特に浮遊アオサについて

Satoshi Shimada, Masanori Hiraoka, Shinichi Nabata, Masafumi Iima, and Michio Masuda: Molecular phylogenetic analyses of the Japanese *Ulva* and *Enteromorpha* (Ulvales, Ulvophyceae), with special reference to the free-floating *Ulva*

日本各地の湾においてグリーンタイドを引き起こしているアオサの種構成を明らかにし、またアオサ属とアオノリ属 (アオサ藻綱, アオサ目) の関係を解明するために、核コードの 5.8S 遺伝子を含む internal transcribed spacer (ITS) 領域と葉緑体コードのリブローズ -1, 5- ニリン酸カルボキシラーゼ / オキシゲナーゼ大サブユニット (*rbcL*) 遺伝子の塩基配列を 15 種決定した。ITS 及び *rbcL* の両解析とも、浮遊ア

オサは4つの系統, オオバアオサ *Ulva lactuca* Linnaeus, アナオサ *U. pertusa* Kjellman, *U. armoricana* Dion et al. 及びリボンアオサ *U. fasciata* Delile に分かれることを示した。これら4種は細胞の並び, 細胞の形と大きさ及び葉緑体の位置によって区別できる。分子データは, 大きな単系統群の中でアオサ属とアオノリ属はそれぞれ単系統には分かれず, 以前のITSだけを使った分子研究で示されたような両者の同属性も示した。このことは, これらの属は同属で, アオノリ属をアオサ属のシノニムにすべきことを強く示唆している。(¹ 北大・先端研, ² 高知県海洋深層水研・NEDO, ³ 北海道立釧路水産試験場・資源増殖部, ⁴ 長崎大・環境科学, ⁵ 北大・院理・生物科学)

峯一朗・窪内ゆか・奥田一雄: 紅藻フタツガサネ不動精子表面の微細構造

Ichiro Mine, Yuka Kubouchi and Kazuo Okuda: Fine structure of spermatial surface in the red alga *Antithamnion nipponicum* (Rhodophyta)

共焦点レーザー走査顕微鏡, 走査型および透過型電子顕微鏡を用いて, イギス科紅藻フタツガサネ *Antithamnion nipponicum* Yamada et Inagaki における不動精子の被膜と付属糸の構造を調べた。放出された精子は大きさ約4.5 μmの球形または楕円形であり, 2.7 - 3.0 μmの厚さの無色の被膜を有していた。2本の柔軟なりボン状の付属糸が被膜縁辺部から出ている。付属糸の長さは平均80 μmで, 幅は概ね0.5 - 0.6 μmであり, たくさんの細い繊維が集まってできていた。フルオレセインイソチオシアネート, コロイド金, およびフェリチンで標識したコンカナバリンAは, 被膜の内層と付属糸に特異的に結合した。放出された不動精子を成熟した雌性配偶体と培養すると, 精子の付属糸は受精毛に絡みついた。(高知大・理・自然環境科学科)

旭井亮一¹・中西慶次郎¹・中村史²・池袋一典¹・三宅淳²・軽部征夫¹: 赤潮優先種 *Alexandrium affine* のリボソームDNAを指標にした表面プラズモン共鳴型センサーによる検出法

Ryoichi Asai, Keijoro Nakanishi, Chikashi Nakamura, Kazunori Ikebukuro, Jun Miyake and Isao Karube: A polymerase chain reaction-based ribosomal DNA detection technique using a surface plasmon resonance detector for a red tide causing microalga, *Alexandrium affine*

人工核酸プローブを用いた *Alexandrium affine* の検出法を開発した。捕獲プローブの設計には28SリボソームDNA(28SrDNA)を対象とし, 表面プラズモン共鳴型バイオセンサーを用いて, この配列の検出を行なった。ビオチンおよびFITC標識済みオリゴヌクレオチドプライマーで *A. affine* の28SrDNAをPCRにより増幅し, これを検出プローブとした。抗FITC抗体を捕獲プローブとした場合, さらに大きい応答値を得ることが可能になった。この手法を用いて, 我々は *A. affine* を特異的に20塩基対の目的配列を検出する系を確立した。¹ 東大・先端研, ² 産総研・融合研)

Reid, G.・Williams, D. M.: 3新種を含む *Gyrosigma balticum* 複合群の系統分類学的研究

Geraldine Reid and David M. Williams: Systematics of the *Gyrosigma balticum* complex (Bacillariophyta), including three new species

Gyrosigma Hassall 属の3新種, *G. cali* G. Reid sp. nov., *G. gibbyi* G. Reid sp. nov. および *G. murphyi* G. Reid sp. nov. を記載した。*Gyrosigma* 内における3新種の類縁関係を調べるために, 10の形態形質に基づき分岐分析を行った。すべての形質を均等に重み付けをする標準的な分岐分析の他に, 帰納的に異なる重み付けをする分析も行った。*Pleurosigma subtilis* Brébisson は *Pleurosigma* Smith よりも *Gyrosigma* により近縁であることから, *Gyrosigma subtile* (Brébisson) G. Reid comb. nov. とした。*G. balticum* var. *californicum* Grunow in Cleve and Möller は *G. balticum* (Ehrenberg) Rabenhorst と単系統群を形成しないことから, 独立した種 *G. californicum* (Grunow in Cleve and Möller) G. Reid stat. nov. とした。(The Natural History Museum, United Kingdom)