

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03705

研究課題名(和文)性決定領域の起源と進化：原始的な多細胞海産藻類アオサ・アオノリの系統を探る

研究課題名(英文)Origin and evolution of a sex determination region in the chromosome: the lineage of primitive marine multicellular-algae, the family Ulvaceae

研究代表者

河野 重行 (Kawano, Shigeyuki)

東京大学・フューチャーセンター推進機構・特任研究員

研究者番号：70161338

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：アオサ藻綱に属するショウジョウアオノリとスジアオノリはその雌雄配偶子が同形から異形へわずかに進化した種である。大きさという変動しやすい量的形質から、左右の非対称性という一義的な形質に目を転ずると、眼点と接合装置の位置が雌雄で逆転している。雌雄に大きさの差が生じる前から、左右の非対称性があることがわかっている。雌雄性とはこの非対称性のことなのだろうか？オルガネラの母性遺伝はどうかかわっているのか？ゲノム解析で明らかになった交配型(MT)領域を手がかりに性決定の起源と進化に迫った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アオサやアオノリはふりかけ海苔などに加工されることもあって日本人には馴染み深い。海でこれらの海藻を手にとって見ると、細胞が二層膜状に並んだものと一層チューブ状のものがあり、前者をアオサ、後者をアオノリと呼んでいる。細胞が二層か一層かで食感や香りに大きな違いが生じる。一方、海水の富栄養化などが原因で、アオサやアオノリが大量繁殖すると緑潮(グリーンタイド)となる。2008年の北京五輪セーリングコースに押し寄せた大量の海藻は記憶に新しい。その原因は富栄養化だけでなく、アオサやアオノリが性を喪失し不稔化するところが大きいことがわかってきている。それは本研究の主要テーマに直結することでもある。

研究成果の概要(英文)：Ulva partita and U. prolifera, which belong to the class Ulvophyceae, have evolved their male and female gametes slightly from homomorphic to heteromorphic. When our eyes are turned to the unique trait of left-right asymmetry from the quantitative but fluctuate trait as a size, the positions of the eyespot and the conjugation device are reversed in males and females. There is such a left-right asymmetry even before the difference in size between males and females. Does sex mean this asymmetry? Is it related to the maternal inheritance of organelles? We approached the origin and evolution of sex determination by using the mating type (MT) region revealed by genome analysis.

研究分野：細胞遺伝学

キーワード：ゲノム 交配型 雌雄性 アオノリ 非対称性 性決定領域 Ulva partita Ulva prolifera

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

雌雄が異なっているのは、動物においてはほとんど当たり前であるし、その配偶子に至っては卵と精子で大きさに極端な相違がある。興味深いのは藻類で、同形から異形、異形から卵生殖へといった進化の中間体が複数の系統で生存している。アオサ藻綱・アオノリ目に属するショウジョウアオノリ (*Ulva partita*) やスジアオノリ (*U. prolifera*) の雌雄配偶子は同形から異形へわずかに進化した種である。大きさという変動しやすい量的形質から、左右の非対称性という空間的で一義的な形質に目を転ずると、眼点と接合装置の位置が雌雄で逆転していて、雌雄の個体サイズの差が生じる前から雌雄に左右の非対称性があることがわかってきている。交配型あるいは性とはこの非対称性のことなのだろうか？ 細胞構造の非対称性に加えゲノム解析で明らかになった交配型 (MT) 領域を手がかりに原始的な多細胞海産藻類であるアオサ・アオノリの系統を探り、この系統における雌雄性と性決定領域の起源と進化を明らかにしたいと考えた。

2. 研究の目的

(1) 2008 年の北京オリンピックのヨットレース会場となった青島海岸に最大 100 万トンのアオノリが漂着したのは記憶に新しい。その種はスジアオノリの亜種 (*U. prolifera subsp. qingdaoensis*) で、それが覆った海上面積は 360km²、分布面積は実に 11,000km² にも及んだといわれている。この驚異の増殖性は汚染による海洋の富栄養化だけでなく、このアオノリが念性を失い無性になることで不死の増殖が可能になったためとも考えられている。

(2) 藻類学は、雌雄性の起源や進化の研究にユニークな視点を与え、さまざまな進化的中間体に関する情報を提供することができる。これにゲノム研究の成果が加わることで、性の起源と進化に関する研究により確かな視点を与えることができる。今回、特に注目したのは、クラミドモナスとアオサ・アオノリの系統である。両系統は緑藻綱とアオサ藻綱と綱は異なるが、単細胞から多細胞への進化を体現し、配偶子も同形から異形、異形から卵生殖へと綱内で進化する。プラシノ藻を含め緑藻の性の起源は同形配偶子生殖のクラミドモナスあたりにあると考えられるが、奇妙なことに「雌雄による細胞構造の非対称性」という視点で見るとクラミドモナスとアオサ・アオノリの系統では雌雄の非対称性が逆になっている。この 2 つの系統で雌雄の対称性が偶然逆選ばれてしまったことだけなのだろうか？ そこに関与した遺伝子は何か？ こうした疑問が性の起源と進化に極めて大きなブレイクスルーをもたらす可能性がある。

(3) 動物の場合、現存する種はほぼ例外なく卵と精子による受精で、同形配偶子接合や異形配偶子接合といった進化的中間体は見られない。一方、藻類には、褐藻綱、黄緑藻綱、緑藻綱、アオサ藻綱など、同形配偶子接合から異形配偶子接合を経てそれぞれ独立に卵生殖に連なるグループがある。同形配偶子生殖のクラミドモナスが 2 つの交配型 (*mt+* と *mt-*) をもつことはよく知られている。アオサ藻綱でもその交配型は雌雄の 2 つしかない。雌(♀)が大きくなり雄(♂)は小さくなったのであって、大きい配偶子が雌(♀)に小さい配偶子が雄(♂)になったのではない。2 つの配偶子間には雌雄に何らかの差異があったと考えられるから、お互いにその差異を認識する機構があって、そのどちらかが雌(♀)となり雄(♂)となったとすれば、雌雄の進化はすでに決まっていたのだろうか？

(4) 奇妙なのはその進化で、クラミドモナスでは接合装置と眼点が同一面になっているものが雄(♂)となっており、それに対してアオサ・アオノリの系統ではそれは雌(♀)となっている。この後者の系譜では接合装置と眼点の雌雄非対称性は強固で、異形化が進み雄(♂)の配偶子が小さくなって眼点を失っても維持される。接合装置の配置が最初の雌雄性であったのは共通していても、クラミドモナスとアオサ・アオノリの系統の雌雄性の起源は全く異なる可能性もあるが、こうした形態・構造というアプローチからだけでは解き明かせることには限界もある。性決定領域のゲノム進化という視点からその起源に迫る必要がある。しかし、アオサ・アオノリ系統では、ショウジョウアオノリで交配型に複対立遺伝子があることがわかっているに過ぎず、ウォーキングによって MT 領域を決定することができないでいた。アオサ・アオノリ系統に共通する MT 領域の構造と遺伝子を明らかにできれば、クラミドモナスとアオサ・アオノリの系統のゲノムと MT 領域を比較することが可能になり、2 つの系統の MT 領域が起源を同じくするものか否かを明らかにできるだろう。

(5) 非対称性こそが雌雄性の進化の根幹にあったとすると、それは接合に際して眼点が潰れないようにするため、異なる交配型では眼点に対し接合装置が逆向きに付くことを意味している。問題はどちらが雌(♀)になり、どちらが雄(♂)になるのかだが、クラミドモナスとアオサ・アオノリ系統とは選ばれる方が逆になっている。単なる偶然なのか根源的な意味をもつものなのかは不明だが、クラミドモナスの雄性決定遺伝子 MID が鍵を握っているかもしれない。MID はマイナス優性で、クラミドモナスは MID があると *mt-* の雄(♂)になり、MID がないと *mt+* の雌(♀)になる。クラミドモナスの系統とアオサ・アオノリ系統では雌雄性の起源が異なることもありうる。性の起源と進化には多くの収斂がみられる。予備的なシーケンスから、ショウジョウアオノリの MT 領域はクラミドモナスの系統の MT 領域とは全く異なっていて、ショウジョウアオノリの雌(♀)の MT 領域に 66、雄(♂)の MT 領域に 47 ある遺伝子のうちクラミドモナスのそれとホモ

ロジがあるのはわずか数個に過ぎないようだ。MID を含むこの数個の遺伝子が決定的な性決定遺伝子である可能性がある。ショウジョウアオノリに次いでスジアオノリのゲノム解読が完了するまで断言はできないが、性の収斂進化を含め、謎を解く鍵はスジアオノリが握っている。

3. 研究の方法

(1) 最初、Roche 社の 454 や Illumina 社 HiSeq/MiSeq を用いて、雌雄のゲノムをシーケンスし、スカフォールドを比較することで MT 領域の特定を試みた。しかし、雌雄に差はあることはわかっても、MT 領域には逆位や転座が集中していて、雌雄間の比較ではウォーキングできないでいた。一方、PacBio 社の PacBio RS II なら、最大リード長 40kb 以上、平均リード長 10kb 以上のシーケンスが可能なので、ショウジョウアオノリの MT 領域決定には PacBio も用いることにした。本研究期間を通じては、HiSeq/MiSeq と PacBio を用いたスジアオノリのゲノム解析を実施し、スジアオノリの MT 領域を決定し、ショウジョウアオノリの結果と比較することで、アオサ・アオノリ系統に共通する MT 領域の構造と遺伝子を明らかにする。これら 2 つを実施することで、クラミドモナスとアオサ・アオノリの系統とのゲノムと MT 領域を比較することが可能になり、2 つの系統の MT 領域が起源を同じくするものか否かを明らかにできるだろう。MT 領域に含まれる 47~66 の遺伝子全部の塩基置換率を個々に求めることで、個々の遺伝子の履歴を明らかにして MT 領域の非組換え価と雌雄ゲノムの非対称性がいつできたかを明らかにする。

(2) ゲノム解析で明らかになった交配型(MT)領域を手がかりに、ショウジョウアオノリを中心に雌雄性と交配型との関係を探った。最初に注目したのは、接合初期のミトコンドリアと葉緑体の動態で、接合によって同一細胞に持ち込まれるこれらのオルガネラに加え、雌雄の鞭毛装置と鞭毛根、眼点がいかに配向するかである。ミトコンドリアも葉緑体も完全に母性遺伝する交配型の組み合わせでは、雄の mtDNA の分解時期は接合後 6~48 時間目まで、cpDNA は接合後 6~72 時間目までに起こる雌雄オルガネラ DNA の特異的分解を蛍光顕微鏡観察とシングルセル PCR で調査した。葉緑体の融合時期はまだ特定されていないが、ミトコンドリアでは接合の約 1 時間後に融合することから、雄の mtDNA が排除される前に、両親由来のミトコンドリアが融合してしまうことになる。こうした謎を解くためにこの非対称性研究に電顕 3D を導入しようと考え予備的な 3D 構築を実施した。

(3) アオサ藻綱の生活環において、配偶子の受精により形成される動接合子と遊走子は、配偶体世代と孢子体世代をつなぐ段階であり、多くが 4 本の鞭毛と光受容装置としての眼点をもち、それらの細胞内での空間配置および鞭毛運動は、走光性や基質への着生にとって重要である。アオサ藻綱のなかでもシオグサ目のフトジュズモの配偶体と孢子体は、潮間帯において同所的に生育するので、動接合子と遊走子における鞭毛装置と眼点の配置、鞭毛運動パターンを電顕と高速ビデオを用いて比較できる。

潮間帯に生育するアオサ藻綱の配偶子、動接合子、遊走子は、多くの場合、光受容装置としての眼点をもち、正あるいは負の走光性を示す。眼点のサイズは大小さまざまであることが知られているが、遊泳細胞の種類、生育環境と眼点サイズとの関係は不明な点が多い。主として関東地方の海岸で採集した海産緑藻を用いて眼点の観察を行った。配偶子と遊走子の眼点サイズを面積で測定した。

(4) 野外で採集したアオノリを *Hsp90* 遺伝子のイントロン領域でジェノタイピングすると、無性個体にも個体内多型をもつ個体が含まれていて、ショウジョウアオノリやスジアオノリでもアポミクシスが起きている可能性がある。ゲノム情報と生殖細胞や減数分裂過程の観察を組み合わせることで、無性個体の出現経路を明らかにすることができる。生殖細胞の DNA 量を測定し、次いで性に連鎖した遺伝子(交配型 *mt-* 遺伝子: *UpRWP1*, *UpPAR1m*, 交配型 *mt+* 遺伝子: *Up00832*, *UpPAR1f*)をマーカーとしたジェノタイピングを実施した。一方、無性配偶体と無性孢子体は単純な生殖細胞の形態を観察するとともに、有糸分裂期および減数分裂期の染色体動態を観察した。また有性孢子体での観察を続けたところ、一部の細胞では無性配偶体や無性孢子体と同様の染色体数の減数を伴わない分裂を観察することができた。また、実際に有性孢子体から得られた F1 配偶体のジェノタイピングも実施した。

(5) 雌雄を決める特異的な遺伝子や蛋白質を同定する際、雌雄の接合装置を識別する抗体は免疫サプトラクション法などでも調製できるが遺伝子の同定となると難しい。MT 領域内の雌雄特異的遺伝子のペプチド抗体も試したが決定的なものは取れなかった。ゲノム編集(CRISPR-Cas9)による遺伝子破壊が植物でも使われつつあり、細胞壁の問題があって動物細胞のように直接蛋白質を入れるのはなかなか難しいが、CRISPR-Cas9 による遺伝子破壊や形質転換が可能であれば今後に展望が拓ける。

4. 研究成果

(1) PacBio を用いた 1 分子リアルタイムシーケンシング法でショウジョウアオノリの雌雄のゲノムを解読し、子細に比較したところ雌雄で構造が顕著に異なる性特異的な領域(MT 領域)

を発見した。その大きさは、雄が 1.2Mbp、雌が 1.5Mbp で、雌雄で相同な遺伝子 23 個を含む各々 47 個と 65 個の遺伝子が存在した。分子進化解析から当該領域はアオサ目の共通祖先が既にもっていることがわかった。雄の性特異的な遺伝子 *UpaRWP1* には、緑藻綱クラミドモナスの雄性決定遺伝子 *MID* との相同性が認められた。そこで、*UpaRWP1* とクラミドモナスとその近縁種の *MID* のアミノ酸配列を比較したところ、幾つかの共通のモチーフがあることがわかった。しかし、それらのモチーフの並び順がアオノリとクラミドモナスではことなっていた。既に全ゲノム解読が為されている全ての緑藻植物から RWP-RK ドメインをもつ遺伝子のアミノ酸配列を取得し、分子系統解析を行ったが単系統性は支持されなかった。同様の領域と *UpaRWP1* のオルソログはスジアオノリの MT 領域にも存在していた。この領域はアオノリにおいては保存的だが、緑藻綱の MT 領域あるいは性染色体の起源は異なることが示唆された。また、植物の Y 染色体で見られるような反復配列の高度な蓄積も認められなかった。

アオノリの近縁種から MT 領域内の遺伝子を PCR 法で単離し、分子系統解析をしたところ、この領域は少なくとも調査した近縁種の祖先種で獲得されており、それが現存種でも維持され続けていること、また雌雄共通のホモログ (ガメトログ) は強い負の選択圧を受けており、遺伝子の機能的な制約が大きいことがわかった。大半の遺伝子が恐らく MT 領域が成立した時期まで遡れ、それは恐らく 3 億年程前の古い時期だろうと考えられた。

ショウジョウアオノリとスジアオノリのゲノムは推定サイズが 110Mbp と 91Mbp、予測遺伝子数が 15,515 個と 12,997 個で、両ゲノムではシンテニーもよく保たれていた。両者の全遺伝子と既知の緑色藻類とストレプト植物 (有胚植物と車軸藻類) の全遺伝子に対して MCL 法でオルソログファミリーを推定した。遺伝子数 (x) を含むファミリー数 (y) の関係は、全ての種で概ね $\alpha = 2 \sim 3$ の冪分布 ($y \sim x^{-(\alpha)}$) に従っていた。一方で、相関解析からファミリー内の遺伝子数の構成は網特異的であった。この結果とオルソログファミリーの消長を最尤法で推定した結果を合わせると、緑色植物門緑色藻類では網の共通祖先で新しい遺伝子を獲得する様式、ストレプト植物ではファミリー内の遺伝子を重複する様式によって遺伝子の構成が多様化していることが示唆された。

予測遺伝子の中でゲノム上での遺伝子の配置が相同なシンテニー領域に存在する 6,748 対のオルソログについて、同義置換率 (dS) と非同義置換率 (dN) を最尤法で推定した。 dS は、単峰性の分布をしていた一方で、 dN は二峰性の分布を示し、遺伝子への選択圧の指標である dN/dS (ω) が小さい集団と大きい集団に分かれることがわかった。次に dS と dN の 2 次元分布に対してノンパラメトリックベイズ法を用いてオルソログの集団を分離した。分離集団に対して GO エンリッチメント解析を行ったところ、 ω が大きな集団では、酸化還元関連遺伝子が顕著に多く含まれることがわかった。こうした結果は、ショウジョウアオノリとスジアオノリの生育環境における塩濃度や栄養塩濃度の高低に対して、オルソログが適応的に進化したことを示唆している。

(2) 配偶子は、動物でも植物でも、同形から異形、異形から卵生殖へと進化したと考えられている。藻類ではこの進化の中間体を複数の系統で見ることができ、アオサ・アオノリの系統では同形から異形へわずかに進化した種も多い。大きさという量的形質から、左右の非対称性という空間的で一義的な形質に注目すると、大きさの差異が生じる以前から雌雄には非対称性があることがわかる。大きさという量的形質の場合、それは主に細胞質の量、すなわちミトコンドリアや葉緑体といったオルガネラの数や量と関係することであり、量の多いオルガネラが少ないオルガネラを駆逐して遺伝すると単純に考えれば、オルガネラの遺伝の方向性からも雌雄を定義できることになる。

非対称性の研究に電顕 3D を導入しようと考えて、ゲノム解析で明らかになった MT 領域を手がかりに、オルガネラの遺伝の方向性を探っている。最初に注目したのは、接合初期のミトコンドリアと葉緑体の動態で、接合によって同一細胞にもち込まれるオルガネラに加え、雌雄の鞭毛装置と鞭毛根、眼点の配向を電顕 3D で分析している。一方、蛍光顕微鏡観察と PCR を用いて、ミトコンドリアも葉緑体も母性遺伝する交配型の組み合わせでは、雄の mtDNA の分解時期は接合後 6 ~ 48 時間目までに、cpDNA は接合後 6 ~ 72 時間目までに起こることが明らかになった。葉緑体はその時期は特定されていないが融合して一つになった。ミトコンドリアは接合約 1 時間後に融合するので、雄の mtDNA が排除される前に両親由来のミトコンドリアが融合している。ミトコンドリアも葉緑体も個体のほとんどで片親由来のオルガネラ DNA になってしまう。今後は融合と排除あるいは選択の機構を明らかにしたい。

(3) アオサ藻綱シオグサ目のフトジュズモの動接合子では、同じアオサ藻綱ヒビミドロ目のヒトエグサなどと異なり、鞭毛装置が十文字状に変化することなく、配偶子由来の 2 本の #1 基底小体と #2 基底小体がそれぞれ平行に配列する。また、動接合子では、2 本の #2 鞭毛が隣り合って並んだ 2 つの眼点方向、2 本の #1 鞭毛が眼点と反対方向を向き、それぞれ協調的に運動したのに対して、遊走子では、#2 鞭毛と #4 鞭毛が眼点方向、#2 と #2 鞭毛が反対方向を向き、それぞれ協調的に運動した。動接合子では遊走子と同様にパピラも突出し内部には多数の微小管が認められた。動接合子と遊走子の鞭毛装置-眼点の配置、鞭毛運動、パピラの構造はほとんど同じであることがわかった。

主に関東地方の海岸で採集した海産緑藻を用いて眼点を観察すると、配偶子については、潮間

帯上部に生育するヒトエグサ、シワランソウモドキや中部～下部に生育するタルガタジュズモ、アナアオサ、ナガアオサに比べてより深所に生育するフトジュズモ、オオハネモ、ヘライワツタで眼点の面積が大きくなる傾向を示した。遊走子の眼点サイズは、配偶子に比べて大きく、動接合子の 2 つの眼点を合わせた面積に近かった。異形配偶の場合、雌配偶子の眼点が雄よりも大きく、特に雄配偶子が眼点をもたないオオハネモ、ヘライワツタの雌配偶子で眼点サイズが大きかった。オオハネモの雌配偶子の場合、眼点の面積はナガアオサなどの雄配偶子に比べて約 10 倍大きかった。さらに、ナガアオサが、春から夏の夜明け後 3 時間程度経過した早朝の干潮時に遊泳細胞を放出したのに対して、オオハネモは、 $0.023\sim 0.23\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の弱光下でも配偶子を放出したことから、夜明け直後に配偶子を放出することが予想される。眼点のサイズは、異なる光環境への適応である可能性が示唆される。

動接合子と遊走子の間での鞭毛と眼点の配置の類似性は、同じく 4 本鞭毛の動接合子と遊走子を形成するアオノリやアオサでも見られる可能性がある。したがって、雌雄配偶子の細胞融合部位の非対称性の進化生態学的な意義を明らかにするために、ナガアオサ (*Ulva arasakii*) などの近縁種を用いてフトジュズモと同じ現象が認められるかを検証する必要がある。

(4) アオサ・アオノリの生活環には、有性型生活史に加えて、無性の遊走細胞を介して世代交代をおこなう無性型生活史の個体群も存在する。アオサ・アオノリの系統では同種内に性生殖株と無性生殖株がともに存在している場合が多く、それぞれの種内で独立に複数回の無性生殖化が起きると考えられている。無性生殖の個体群には 2 鞭毛性の遊走子を形成するタイプと 4 鞭毛性の遊走子を形成するタイプが知られているが、体細胞を用いた顕微測光による DNA 量の推定により、有性生殖型個体の胞子体と同じ DNA 量をもつことがわかっており、それぞれ複相と考えられている。野外で採集したアオノリで、単一コピー性の Hsp90 遺伝子のイントロン領域のジェノタイピングを実施したところ、無性個体にも個体内多型を持つ個体が含まれていたことからアオノリの無性生殖個体はアポミクシス由来と考えられる。

スジアオノリの集団中で無性生殖個体群はどのように出現してくるのだろうか。各生殖細胞の DNA 量を測定したところ、両接合型の配偶子に対して無性配偶子および無性胞子は 2 倍量の値を示し、複相であることが明らかとなった。MT 領域の遺伝子をマーカーとしたジェノタイピングでも、全国各地で採集されたスジアオノリでもマーカーは完全に接合型に連鎖していることが明らかとなった。無性配偶体も無性胞子体もともに両接合型のゲノムを有していることから、両無性個体は有性胞子体から出現していると考えられる。有糸分裂期の細胞を観察したところ、有性配偶体(N)では 7 本、有性胞子体、無性配偶体、無性胞子体では 14 本の染色体が観察できた。減数分裂前期では配偶体は 7 本、有性胞子体、無性配偶体、無性胞子体では 14 本の染色体が観察でき、中期になると各生殖型の細胞で、赤道面に染色体が並ぶのが観察された。有性配偶体では 7 本、有性胞子体、無性配偶体、無性胞子体でも同様に染色体は 7 本で、複相の細胞では二価染色体を形成していることが示唆された。第一減数分裂終了時には有性胞子体で 7 本の染色体が観察されるのに対して、無性配偶体、無性胞子体では減数していなかった。また有性胞子体での観察を続けたところ、一部の細胞では無性配偶体や無性胞子体と同様の染色体数の減数をともなわない分裂を観察することができた。

有性胞子体の一部の細胞や無性配偶体、無性胞子体では二価染色体の形成までは通常の減数分裂過程と同様に進むようだが、その後、姉妹染色分体が分離し、両極へ移動することで染色体数の減数を回避した分裂が起こるようで、陸上植物のアポマイオシスと同じような過程であると思われた。この現象は野外で採集された無性胞子体や無性配偶体の全てにおいて両接合型ゲノムが検出されたことから支持される。また実際に有性胞子体から得られた F1 配偶体のジェノタイピングをおこなったところ、10%程度の個体で両接合型ゲノムを有する個体 ($mt^{\#}$ 株) が検出された。得られた $mt^{\#}$ 株を成熟させ、生殖細胞を観察したところ、2 本鞭毛を持つ遊走子で、DNA 量は無性配偶子や無性胞子と同様に $2N$ であった。以上のことから、有性胞子体で減数分裂が正常に進行しない細胞が一定数あり、ここから無性個体が出現すると推定された。つまりスジアオノリでも陸上植物のアポミクシス、特にディプロスポリーに似た経路によって無性株が出現しているということになる。スジアオノリでは、減数分裂関連遺伝子に着目して見たところ、*SYN3* や *SCC3* といった姉妹染色分体の対合の維持に働いているコヒーシオン関連遺伝子の発現量が無性配偶子や無性胞子で低くなっていることが明らかとなった。

(5) アオサ藻綱は単相と複相ともに単為生殖できる。配偶子を単為生殖させ、それを一過的に形質転換することで、GFP で巨大ミトコンドリアの有無とその動態を観察できるようにした。ポリエチレングリコール法を用いた遺伝子導入率は 9.0% から 15.1% で、この方法の形質転換率の良さを利用して、幾つかの藻類でゲノム編集を試みたところ極めて良好な結果を得た。ヘマトコッカス藻 (*Haematococcus pluvialis*) を用いたモデル実験でも、ポリエチレングリコール法を用いたゲノム編集による遺伝子破壊が容易なことを確かめた。性決定領域の解析にゲノム編集による遺伝子破壊技術の導入を検討し、交配型と非対称性、非対称性とオルガネラの母性遺伝の関係性を遺伝子レベルで明らかにしたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Ota, S., Oshima, K., Yamazaki, T., Takeshita, T., Bisova, K., Zachleder, V., Hattori, M. and Kawano, S.	4. 巻 84
2. 論文標題 The parachlorella genome and transcriptome endorse active RWP-RK, meiosis and flagellar genes in Trebouxiophycean algae	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cytologia	6. 最初と最後の頁 323-330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1508/cytologia.84.323	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Lindley, M., Hiramatsu, K., Nomoto, H., Shibata, F., Takeshita, T., Kawano, S. and Goda, K.	4. 巻 91
2. 論文標題 Ultrafast simultaneous Raman-fluorescence spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anal. Chem.	6. 最初と最後の頁 15563
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b03563	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyamura, S., Ichihara, K., Yamazaki, T., Kuwano, K., Kawano, S.	4. 巻 84
2. 論文標題 Visualization of Gamete Mating Structure of Marine Green Alga by FE-SEM	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cytologia	6. 最初と最後の頁 191-192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1508/cytologia.84.191	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ichihara, K., Yamazaki, T., Miyamura, S., Hiraoka, M. and Kawano, S.	4. 巻 9
2. 論文標題 Asexual thalli originated from sporophytic thalli via apomeiosis in the green seaweed Ulva	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 13523
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-50070-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ota, S. and Kawano, S.	4. 巻 68
2. 論文標題 Three-dimensional ultrastructure and hyperspectral imaging of metabolite accumulation and dynamics in <i>Haematococcus</i> and <i>Chlorella</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 57~68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfy142	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamazaki, T., Konosu, E., Takeshita, T., Hirata, A., Ota, S., Kazama, Y., Abe, T., Kawano, S.	4. 巻 36
2. 論文標題 Independent regulation of the lipid and starch synthesis pathways by sulfate metabolites in the green microalga <i>Parachlorella kessleri</i> under sulfur starvation conditions.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Algal Res.	6. 最初と最後の頁 37-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.algal.2018.09.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takeshita, T., Ivanov, I. N., Oshima, K., Ishii, K., Kawamoto, H., Ota, S., Yamazaki, T., Hirata, A., Kazama, Y., Abe, T., Hattori, M., Bisova, K., Zachleder, V. and Kawano, S.	4. 巻 35
2. 論文標題 Comparison of lipid productivity of <i>Parachlorella kessleri</i> heavy-ion beam irradiation mutant PK4 in laboratory and 150-L mass bioreactor, identification and characterization of its genetic variation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Algal Res.	6. 最初と最後の頁 416-426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.algal.2018.09.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ota, S., Morita, A., Ohnuki, S., Hirata, A., Sekida, S., Okuda, K., Ohya, Y. and Kawano, S.	4. 巻 8
2. 論文標題 Carotenoid dynamics and lipid droplet containing astaxanthin in response to light in the green alga <i>Haematococcus pluvialis</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-23854-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Jiang, S., Kuwano, K., Nishihara, G.N., Urata, C., Shimoda, R., Takatani, T. and Arakawa, O.	4. 巻 66
2. 論文標題 Uptake of nitrogen and production of kainic acid by laboratory culture of the red alga <i>Digenea simplex</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Phycol. Res.	6. 最初と最後の頁 68 -75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1111/pre.12196	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ota, S. and Kawano, S.	4. 巻 7
2. 論文標題 Extraction and Molybdenum Blue-based Quantification of Total Phosphate and Polyphosphate in <i>Parachlorella</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BIO-PROTOCOL	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.2539	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sato, Y., Hirano, T., Ichida, H., Murakami, M., Fukunishi, N., Abe, T. and Kawano, S.	4. 巻 29
2. 論文標題 Morphological and physiological differences among cultivation lines of <i>Undaria pinnatifida</i> in a common garden experiment using a tank culture system	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Applied Phycology	6. 最初と最後の頁 2287 ~ 2295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10811-017-1170-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamazaki, T., Ichihara, K., Suzuki, R., Oshima, K., Miyamura, S., Kuwano, K., Toyoda, A., Suzuki, Y., Sugano, S., Hattori, M. and Kawano, S.	4. 巻 7
2. 論文標題 Genomic structure and evolution of the mating type locus in the green seaweed <i>Ulva partita</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-11677-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sato, Y., Yamaguchi, M., Hirano, T., Fukunishi, N., Abe, T. and Kawano, S.	4. 巻 29
2. 論文標題 Effect of water velocity on <i>Undaria pinnatifida</i> and <i>Saccharina japonica</i> growth in a novel tank system designed for macroalgae cultivation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Applied Phycology	6. 最初と最後の頁 1429 ~ 1436
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10811-016-1013-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyamura, S., Nomura, M., Mitsunashi, F. and Nagumo, T.	4. 巻 83
2. 論文標題 High-speed video analysis of the flagellar movement of isogametes during fertilization of the marine green alga, <i>Chaetomorpha spirals</i> (Ulvophyceae, Chlorophyta).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cytologia	6. 最初と最後の頁 109 ~ 114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1508/cytologia.83.109	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 市原健介・河野重行	4. 巻 8
2. 論文標題 アボミクスはスジアオノリの適応戦略に影響するか?	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BSJ-review	6. 最初と最後の頁 141 ~ 151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 山崎誠和、市原健介、桑野和可、宮村新一、河野重行
2. 発表標題 日本沿岸域に生育する2種のアオノリの比較ゲノム解析
3. 学会等名 日本藻類学会第44回大会、大会プログラム要旨集の日本藻類学会和文誌藻類 68 巻 1 号掲載で発表とみなす。
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮村新一、桑野和可、河野重行
2. 発表標題 海産緑藻の配偶子，動接合子，遊走子における眼点のサイズと生育環境との関係
3. 学会等名 日本藻類学会第44回大会、大会プログラム要旨集の日本藻類学会和文誌藻類 68 卷 1 号掲載で発表とみなす。
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎誠和、市原健介、桑野和可、宮村新一、河野重行
2. 発表標題 日本沿岸域に生育する2種のアオノリで起きたオルソログの分子進化
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会、東北大学・川内北キャンパス（宮城県・仙台市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮村新一、河野重行
2. 発表標題 海産緑藻の配偶子，動接合子，遊走子における眼点のサイズと分布
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会、東北大学・川内北キャンパス（宮城県・仙台市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浦川直希、中村聡、岸本真理子、森山陽介、鈴木孝征、横川大輔、河野重行、東山哲也、佐々木成江
2. 発表標題 Semi-in vitro アッセイ系を用いた母性遺伝における父方ミトコンドリアDNA分解の解析
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会、東北大学・川内北キャンパス（宮城県・仙台市）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kawano, S., Mogi, Y., Yamazaki, T., Miyamura, S., Kuwano, K.
2. 発表標題 Exclusion and selection of male and female organelles during the developmental process from zygotes to the thallus in <i>Ulva partita</i>
3. 学会等名 7th European Phycological Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sato, Y., Oikawa, H., Kanematsu, K., Naka, H., Kawano, S.
2. 発表標題 An optimum condition for promoting growth and maturation at gametophyte stage of <i>Undaria pinnatifida</i> by optimal screening and application for the seedling production on industrial-scale
3. 学会等名 AlgaIBBB 2019: The 9th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮村 新一、野村 真未、南雲 保、稲葉 一男、河野 重行
2. 発表標題 海産緑藻フトジュズモの動接合子と遊走子の鞭毛装置- 眼点の配置と協調的鞭毛運動の解析
3. 学会等名 日本藻類学会第43回大会、京都大学・吉田南キャンパス(京都市)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大田 修平、河野 重行
2. 発表標題 電顕3Dとハイパースペクトルで見るヘマトコッカス藻のカロテノイド分布とその動態
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会、広島国際会議場(広島県・広島市)(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山崎 誠和、市原 健介、桑野 和可、河野 重行
2. 発表標題 アオサ藻綱アオサ目に属するショウジョウアオノリとスジアオノリの比較ゲノム解析
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会、広島国際会議場（広島県・広島市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 康太、市原 健介、大田 修平、山崎 誠和、工藤 恭子、宮村 新一、平田 愛子、河野 重行
2. 発表標題 アオノリの雌雄性と接合初期から葉状体発達過程における雌雄オルガネラの排除と選択
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会、広島国際会議場（広島県・広島市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浦川 真希、中村 聡、岸本 真理子、森山 陽介、桑田 啓子、鈴木 孝征、横川 大輔、河野 重行、東山 哲也、佐々木 成江
2. 発表標題 母性遺伝におけるミトコンドリアDNA選択的消失に関与するヌクレアーゼの探索
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会、広島国際会議場（広島県・広島市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大貫 慎輔、大田 修平、河野 重行、大矢 禎一
2. 発表標題 ハイパースペクトラルイメージングと画像解析による微細藻類のモニタリングシステムの開発
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会、広島国際会議場（広島県・広島市）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 康太、市原 健介、大田 修平、山崎 誠和、工藤 恭子、宮村 新一、平田 愛子、河野 重行
2. 発表標題 アオノリ接合初期の細胞動態と葉状体発達過程における雌雄オルガネラの排除と選択
3. 学会等名 日本藻類学会第42回大会 東北大学・青葉山新キャンパス(宮城県・仙台市)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 陽一、萩原 亮、斎藤 大輔、中 裕之、柏谷 伸一、平野 智也、市田 裕之、福西 暢尚、阿部 知子、河野 重行、小野 克徳
2. 発表標題 三陸産ワカメ優良系統開発と実用化に向けた取り組み
3. 学会等名 日本藻類学会第42回大会 東北大学・青葉山新キャンパス(宮城県・仙台市)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 陽一、及川 浩生、最上谷 美穂、兼松 宏一、中 裕之、柏谷 伸一、遠藤 光、河野 重行
2. 発表標題 ワカメ配偶体および孢子体の生長最適条件の検討と種苗生産技術への活用
3. 学会等名 日本藻類学会第42回大会 東北大学・青葉山新キャンパス(宮城県・仙台市)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮村新一、野村真未、南雲 保
2. 発表標題 海産緑藻フトジュズモの動接合子、遊走子における眼点と鞭毛の配列と協調的鞭毛運動
3. 学会等名 日本植物学会第81回大会 東京理科大学・野田キャンパス(千葉県・野田市)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大田 修平、森田 彩、関田 諭子、大貫 慎輔、平田 愛子、奥田 一雄、大矢 禎一、河野 重行
2. 発表標題 光刺激で応答するヘマトコッカス藻の細胞内色素とオイルの動態イメージング
3. 学会等名 日本植物学会第81回大会 東京理科大学・野田キャンパス(千葉県・野田市)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石井 公太郎、浅野 円花、風間 裕介、佐々木 成江、東山 哲也、阿部 知子、河野 重行
2. 発表標題 クロレラの内部倍数性機構の解明と鉄イオンビームによる染色体の分断化と再構成
3. 学会等名 日本植物学会第81回大会 東京理科大学・野田キャンパス(千葉県・野田市)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山崎 誠和、市原 健介、桑野 和可、河野 重行
2. 発表標題 性特異的な領域の構造と進化：一分子リアルタイムシーケンスによるアオサ藻ゲノムの解析
3. 学会等名 日本植物学会第81回大会 東京理科大学・野田キャンパス(千葉県・野田市)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木 亮吾、大田 修平、市原 健介、山崎 誠和、桑野 和可、河野 重行
2. 発表標題 アオサ藻 <i>Ulva partita</i> における一過的形質転換系の開発とゲノム編集の可能性
3. 学会等名 日本植物学会第81回大会 東京理科大学・野田キャンパス(千葉県・野田市)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大田修平、森田彩、大貫慎輔、平田愛子、関田諭子、奥田一雄、大矢禎一、河野重行
2. 発表標題 ハイパースペクトルおよび凍結断面法によるヘマトコッカス細胞の色素とオイル顆粒の光応答動態解析
3. 学会等名 本植物形態学会第29回大会 東京理科大学・野田キャンパス（千葉県・野田市）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S.Kawano, M.Asano, K.Ishii, Y.Kazama, T.Abe, T.Takeshita, S.Ota, T.Yamazaki, K.Bisova, V.Zachleder
2. 発表標題 Endopolyploidy, fragmentation and reconstitution of chromosomes by the heavy-ion beam irradiation in <i>Parachlorella kessleri</i>
3. 学会等名 BioTech 2017 and 7th Czech-Swiss Symposium with Exhibition (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 T.Takeshita, T.Yamazaki, S.Ota, M. Erata, S. Kawano
2. 発表標題 KEGG pathway and transcriptome analyses under two conditions, sulfur deprivation and high light, accelerating starch and lipid accumulation in <i>Parachlorella kessleri</i>
3. 学会等名 BioTech 2017 and 7th Czech-Swiss Symposium with Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	宮村 新一 (Miyamura Shiichi) (00192766)	筑波大学・生命環境系・准教授 (12102)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	桑野 和可 (Kuwano Kazuyoshi) (60301363)	長崎大学・水産・環境科学総合研究科（水産）・教授 (17301)	
研究 協力者	山崎 誠和 (Yamazaki Tomokazu)		
研究 協力者	市原 健介 (Ichihara Kensuke)		