

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K14800

研究課題名（和文）極限環境を生き抜く南極クマムシの生存戦略としての耐性機構の解明

研究課題名（英文）Tolerance of the Antarctic tardigrade living through the extreme environment

研究代表者

辻本 恵（TSUJIMOTO, Megumu）

慶應義塾大学・環境情報学部（藤沢）・講師

研究者番号：90634650

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、南極の固有種であり南極域でも最も過酷な陸上環境で広域に分布しているクマムシを対象として室内実験を実施し、環境ストレスに対する耐性とその回復状況を調べた。また環境ストレスに対する分子レベルでの応答を調べるために、トランスクリプトーム解析を実施し、環境ストレスに関連している可能性のある発現変動遺伝子を抽出することができた。さらに、実際の南極の生息環境であるコケ群落内の環境データを解析した結果から、昭和基地沿岸における環境ストレスの頻度や強度を明らかにすると共に室内実験で得られたデータと併せて総合的に解析し、南極クマムシの生存戦略としての耐性機構を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでは極端な極限環境耐性能力の機構や機序の解明が中心となっていたクマムシの耐性研究分野のなかで、生き物の持つ生態としての耐性機構に迫ったことで、これまでにはなかった新しい視点を加えることができた。また、実際に南極の過酷な陸上環境を生き抜くための生存戦略としての耐性機構を調べるなかで、環境ストレスに対する防御・耐性反応として、必ずしも体内の分子レベルの制御に頼らない戦略をとっている可能性も考えられたことは、最強動物として知られるクマムシ研究に新たな展開を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on the tolerant ability of the Antarctic tardigrades which survive through the extreme environment of the Antarctica from an ecological point of view. Using the strain of the species endemic to Antarctica, the ability of the species tolerant to the environmental stresses, as well as the recovery condition after survival was examined. Transcriptome analysis was also conducted in order to understand the response of this species toward the environmental stresses at the molecular level. The intensity and the length of the environmental stresses were determined from the micro-climate data obtained at the actual habitat of this Antarctic tardigrade species. Analysing the experimental data along with the environmental data, we were able to understand the survival strategy of the Antarctic tardigrades.

研究分野：生態学

キーワード：クマムシ 南極 極限環境 耐性

1. 研究開始当初の背景

「クリプトビオシス」とは蘇生可能な無代謝状態を示す用語であり、節足動物のアルテミアの卵やネムリユスリカの幼虫、微小動物のクマムシ、センチュウ、ワムシなどで知られている。クリプトビオシス動物の研究ではその驚異的な極限環境耐性能力や、その耐性機構に関して様々な研究が進められている。しかしながら、クリプトビオシス動物が厳しい環境の中でどのように環境耐性能力を活かしながら生存を可能にしているのかという生態学的な観点での研究は行われていない。

南極の陸上環境は、1年のうち9カ月以上は凍結（乾燥）しており、生物が生命活動を行うことができるのは、生理反応に利用できる水供給のある初夏の雪解け開始後の数カ月未満となる。短い夏の間にも夜間などには気温が氷点下になることが多く、1日の中で凍結（乾燥）・融解（吸水）を繰り返し、陸上生物は非常に苛酷な環境ストレスに晒される。南極の陸上環境は、長期にわたる活動停止期間に加えて、活動期間中に繰り返される環境ストレスという、生物にとっての極限環境であるといえる。研究代表者はこれまでに、南極の陸上環境に生きる固有クマムシ種の飼育系を確立して生態実験を行い、本種の繁殖能力や長期生存能力を明らかにしてきた。まさに地球上の極限環境である南極を生き抜くクマムシは、クリプトビオシス動物の生存戦略としての耐性機構を明らかにする上で極めて優れたモデルであると考えられた。

2. 研究の目的

本研究課題では、環境ストレスへの南極クマムシ特有の応答を分子レベルで理解し、生息環境データと併せて解析を行うことで、南極の極限環境を生き抜くクマムシの生存戦略としての耐性機構を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究課題は研究代表者が飼育系を確立した南極固有のクマムシ種 *Acutuncus antarcticus* を対象としている。

(1) *Acutuncus antarcticus* が環境ストレスを受けた際の損傷の受け方とその回復状況を調べるために、本種を凍結・乾燥した際の生存率、その後の回復状況を調べた。

(2) 環境ストレスからの蘇生直後に示される損傷と、遺伝的に引き継がれる損傷に違いがあるのかを調べるために、30年以上の長期凍結保存から復活して産卵した *Acutuncus antarcticus* の個体 (SB-1、SB-3) と、その子孫 (SB-1 F1、SB-3 F1) の繁殖状況をそれぞれ詳細に調べた。また、長期にわたる環境ストレスの影響を調べるために、それらの繁殖状況を5年間凍結後に蘇生して繁殖した同種の別系統 (LSW) による繁殖状況と比較した。

(3) *Acutuncus antarcticus* が環境ストレスに対してどのような反応をしているのかを調べるために、トランスクリプトーム解析実験を行い、環境変化に反応して大量に発現する遺伝子を抽出した。

(4) *Acutuncus antarcticus* の実際の生息環境である南極の陸上に生育するコケ群落内の環境データを解析し、凍結や乾燥の頻度や強度を調べた。またそれらの環境データと上記の(1)～(3)で取得した室内実験のデータを総合的に解析して本種の生存戦略としての耐性機構を明らかにした。

4. 研究成果

(1) *Acutuncus antarcticus* は急速な凍結や乾燥をした際には生存率が低い傾向が示された。また産卵直後から孵化までの7段階において凍結耐性実験を行った結果では、肺発生の初期段階では耐性能力が低い傾向も示された。

(2) LSW 系統は産卵した卵の孵化率が平均で97.5%と100%に近く、繁殖能力が非常に高いことが分かっていた。しかしながら30年以上凍結した後に蘇生したSB-1、SB-3共に繁殖能力はそこまで高いものではなかった。そこで、その第一子孫までの繁殖状況を追い、SB-1系統、SB-3系統、LSW系統での繁殖生態の特徴を調べた。その結果、SB系統の卵の孵化率はLSW系統のものとは比べて低いことが分かった。一方で、30年以上の長期保存から蘇生したSB系統とLSW系統では、核遺伝子の18S rDNA領域では完全に一致するものの、ミトコンドリアの遺伝子領域

では配列が一部異なることが分かった。SB 系統のなかに長期凍結保存による遺伝的損傷が残っている可能性は否定できないが、取得したデータからは、本種の遺伝子型と生活史に関係性がある可能性が考えられた。

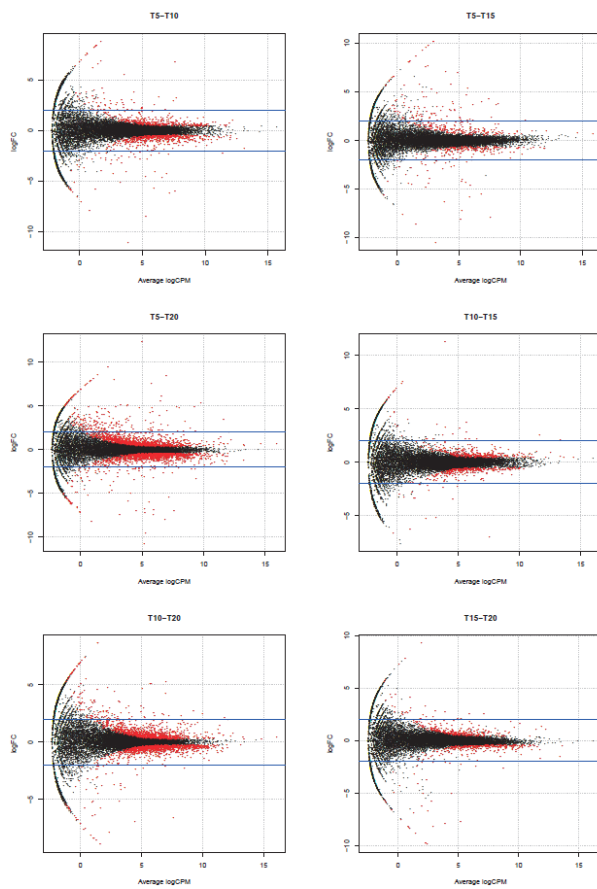


図 1. 異なる温度条件下における *Acutuncus antarcticus* の発現遺伝子の発現量の相関

(3) *Acutuncus antarcticus* で取得したトランスクリプトームデータを解析し、環境が変化する条件下における遺伝子の発現量や発現状況を調べた (図 1)。発現した遺伝子のなかで、すでに報告されているクマムシ固有の耐性タンパク質 CAHS (Cytoplasmic Abundant Heat Soluble) や SAHS (Secretory Abundant Heat Soluble)、また凍結や乾燥耐性に関連していることが分かっている遺伝子の CSP (Cold Shock Protein) や Trehalose の発現状況を調べたところ、低温に近づくにつれて一部の耐性関連遺伝子の発現量が増えている傾向がみられた。

(4) コケ群落内の温度や湿度は短い夏期間中でも日変動が比較的大きく、それらの日変動 (環境ストレスの頻度や長さ) 自体も、その前年の降雪量やその年の気温変化に大きく影響を受ける可能性が考えられた。

これまでに本課題で得られた結果から、温度などの環境変化によって一部の発現遺伝子の変動しており、南極固有のクマムシ種 *Acutuncus antarcticus* が環境変化を感知した際に分子レベルで環境ストレスに対する準備を始めている可能性が考えられた。一方で、現地での環境変動などと室内実験によって得られた結果が必ずしも一致しないことから、体内で起こる耐性・防御機能に加えて、例えばコケ群落の内部において、より凍結や乾燥ストレスの強度が緩和される場所を生息場所とするなどの行動生態学上の生存戦略も同時にとっている可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Tsujiimoto M, Kagoshima H, Kanda H, Watanabe K, Imura S. | 4. 巻 188 |
| 2. 論文標題 Reproductive performance of the Antarctic tardigrades <i>Acutuncus antarcticus</i> (Eutardigrada: Hypsibiidae) revived after being frozen for over 30 years and of their offspring | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Zoological Journal of the Linnean Society | 6. 最初と最後の頁 839-847 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/zoolinnean/zl137 | 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 Suzuki C, Sugiura K, Tsujimoto M, Nakai R, McInnes S.J., Kagoshima H, Imura S. | 4. 巻 40 |
| 2. 論文標題 A new species of bisexual <i>Milnesium</i> (Eutardigrada: Apochela) having aberrant claws from Innhovde, Dronning Maud Land, East Antarctica | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Zoological Science | 6. 最初と最後の頁 246-261 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2108/zs220085 | 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 Lee J.R., Terauds A, Carwardine J, 他23名, Tsujimoto M, Wall D.H., Wilmotte A, Chades I. | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Threat management priorities for conserving Antarctic biodiversity | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 PLOS Biology | 6. 最初と最後の頁 e3001921 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pbio.3001921 | 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 |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 辻本 恵 |
| 2. 発表標題 南極に生きるクマムシの繁殖戦略と長期生存能力 |
| 3. 学会等名 極限環境生物学会 第21回シンポジウム (招待講演) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tsujimoto M, Kanda H, Imura S. |
| 2. 発表標題 Reproductive performance of individuals of an Antarctic tardigrade revived after being frozen for over 30 years, and of their offspring |
| 3. 学会等名 14th International Symposium on Tardigrada (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Tsujimoto M, Suzuki AC, Nakai R, Imura S. |
| 2. 発表標題 Tardigrade diversity around Syowa Station, Dronning Maud Land in East Antarctica |
| 3. 学会等名 The 9th Symposium on Polar Science (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yoshimura K, Tsujimoto M. |
| 2. 発表標題 Walking behavior of the Antarctic tardigrade, <i>Acutuncus antarcticus</i> |
| 3. 学会等名 The 11th Symposium on Polar Science (国際学会) |
| 4. 発表年 2020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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
| | | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|