

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2015

課題番号：24657045

研究課題名(和文)生命のかたちの跳躍的転換「多細胞化」の初期過程の進化形態学的研究

研究課題名(英文) A morphological and evolutionary study of the multicellularity, the evolutionary transition of organism morphology

研究代表者

野崎 久義 (Hisayoshi, Nozaki)

東京大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40250104

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：多細胞化のモデル生物群である群体性ボルボックス目で最も初期に分岐した4細胞性の *Tetrabaena socialis* (テトラバエナ、新称「シアワセモ」) が多細胞生物としての基本的な形態的特徴を持つことを明らかにした。その結果、シアワセモは最小の多細胞生物であると考えられた。この成果は単細胞生物と多細胞生物の境界を明確に定義し、生物学の教科書の刷新をもたらす可能性がある。最もシンプルな多細胞生物 シアワセモを今後の研究に用いることで、単細胞生物から多細胞生物への進化の過程が分子レベルで解明されると期待された。現在、シアワセモのゲノム解読結果を基に多細胞化の原因となった遺伝子を探索している。

研究成果の概要(英文)：The colonial Volvocales represent a model lineage for studies of multicellularity. *Tetrabaena socialis* is a four-celled species of this order and occupied the most basal phylogenetic position within the order. Based on the present morphological analyses, the four-celled colonial volvocalean species *Tetrabaena socialis* was demonstrated to be the simplest multicellular organism. These results will contribute much to our understanding of the multicellularity. Further studies using *T. socialis* will resolve fundamental molecular bases of evolution from unicellular to multicellular organization. Currently, we are searching key genes for the evolution of the multicellular organism by using the whole genome data of *T. socialis*.

研究分野：進化生物学

キーワード：群体性ボルボックス目 シアワセモ 多細胞化 進化 多細胞生物 テトラバエナ

1. 研究開始当初の背景

137億年前に宇宙創成のビックバンがあり、それから約90億年後に地球が誕生し、分子の発展的進化の結果として「ヒト社会」が成立した。この間に以下のような跳躍的な生命系の進化があったと考えられている。1)複製能力のある分子が集合し原核細胞が誕生した。2)原核細胞が集合して真核細胞が成立した。3)真核細胞の集合から多細胞の個体が進化した。4)個体が集まって社会をもたらした。これらのイベントは、これまでに存在していた進化的な単位の有機的な組織化による新しい生命単位の創出である (Michod & Herron 2006, J. Evol. Biol. 19: 1426)。これらの原因はその要素である進化的素過程に還元して研究すべきであるが、現存の生物材料を用いて比較生物学的な研究できるのは3)の多細胞化だけである。

多細胞化は、単細胞生物が高次の生物体に転換する形態的な大イベントであり、陸上植物、後生動物等の真核生物の10以上の独立した系統で平行的に起きたと考えられる (Grosberg and Strathmann 2007, Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst. 38: 621)。多細胞化した時点から現在に至るまで、多くの系統で中間的な種が絶滅しているため、現存の生物を用いた比較生物学的研究は困難である。しかし、緑藻類の群体性ボルボックス目 (colonial Volvocales) は多細胞化した時代が約2億年前と比較的最近であり (Herron et al. 2009, PNAS 106: 3254)、中間的な進化段階の生物が現存している。また、単細胞のモデル生物クラミドモナス (*Chlamydomonas*) にごく近縁であり、多細胞のモデル生物ボルボックス (*Volvox*) を含むので、最新の技術を用いた比較生物学的研究が可能である。従って、最近、群体性ボルボックス目を用いた多細胞化の研究が期待されるようになってきた (Sachs 2008, TREE 23: 245)。これまでに申請者のグループは本生物群の同型配偶から異型配偶/卵生殖への進化を性決定遺伝子”*OTOKOGI*”等に着眼して研究してきたが (Nozaki et al. 2006, Curr. Biol. 16: R1018; Hamaji et al. 2008, Genetics 178: 283; Ferris et al 2010, Science 328: 351)。これらの性進化は細胞数の増加と関連しており、多細胞化そのものを対象にした研究の重要性が改めて認識された。

我々が世界に先駆けて実施した群体性ボルボックス目の形態形質を用いた分岐系統学的解析と複数の遺伝子を用いた分子系統学的解析は共に、最も単純な群体をもつ4細胞性のテトラバエナ (*Tetrabaena*) が最も初期に分岐したことを明らかにしている (Nozaki & Ito 1994, J. Phycol. 30: 353; Nozaki et al. 2000, 17: 256)。従って、テトラバエナとクラミドモナスを比較研究することで多細胞化の初期に起きた重要な形態進化とその分子レベルの基盤を明らかにできると思われる。しかし、これまでにテトラ

バエナを用いた細胞学的研究は栄養群体の微細構造の観察があるだけであり (Nozaki 1990, Phycologia 29: 1)、分子レベルの研究は系統解析だけである。

2. 研究の目的

生命のかたちの跳躍的な転換である「多細胞化」は真核生物のさまざまな系統で認められ、後生動物や陸上植物を進化させた重要なイベントである。しかし、これらの2系統では単細胞から多細胞に移行する初期段階の生物が現存しないので、多細胞化の初期段階に着目した研究はほとんど知られていない。ところが、群体性ボルボックス目の生物群は、さまざまな進化段階の生物が現存し、単細胞のモデル生物クラミドモナスにごく近縁であり、多細胞のモデル生物ボルボックスを含むので、最新の技術を用いた比較生物学的研究が可能である。群体性ボルボックス目のテトラバエナは最も初期に分岐し、最も単純な4細胞性であるが、最新の技術を用いた細胞形態学的な研究はほとんどない。本研究ではテトラバエナ (シアワセモ) を用いた、微細形態学的な解析とボルボックスの形態形成関連の遺伝子に着目した細胞形態学的な解析を実施し、クラミドモナスと比較することで、多細胞化の初期進化、即ち「単細胞から4細胞群体への転換の基盤となった細胞形態学的な詳細と分子レベルの原因を探索する」ことを目的とする。

3. 研究の方法

本研究課題の着眼点は単細胞から4細胞性群体への進化であり、この細胞進化的基盤を明らかにするために、以下のような研究方法を実施した。1) シアワセモとクラミドモナスの細胞形態学的解析: 単細胞から4細胞性群体へ進化することに伴う微細形態の進化、特に細胞質分裂と原形質連絡の形成と存続、鞭毛基部と細胞骨格構造の変化の詳細な比較観察。2) シアワセモのゲノム解読

4. 研究成果

(1) 多細胞化のモデル生物群である群体性ボルボックス目で最も初期に分岐した4細胞性の *Tetrabaena socialis* (テトラバエナ、新称「シアワセモ」) が多細胞生物としての基本的な形態的特徴を持つことを明らかにした。その結果、シアワセモは最小の多細胞生物であると考えられた。この成果は単細胞生物と多細胞生物の境界を明確に定義し、生物学の教科書の刷新をもたらす可能性がある。最もシンプルな多細胞生物 シアワセモを今後の研究に用いることで、単細胞生物から多細胞生物への進化の過程が分子レベルで解明されると期待された。現在、シアワセモのゲノム解読結果を基に多細胞化の原因となった遺伝子を探索している。

(2) 緑藻綱ボルボックス目には多細胞もしくは群体を形成する3グループが知られている。そのうちスポンディロモルム科は膨潤しない細胞壁で細胞同士が接続した群体を形成することで他のグループと区別される。4

属 15 種が記載されているが、稀産であることや培養が困難なことから分類学的な研究が遅れており、培養株を用いた詳細な分類学的研究は Nozaki (1986, *Phycologia*) による *Pyrobotryx* 4 種の研究のみである。近年 Nakada et al. (2010, *J. Eukaryot. Microbiol.*) により *Pyrobotryx* の分子系統解析が行われたが、用いられたのは 2 種 2 株のみであり *Pyrobotryx* 属内の種間関係を議論するためには情報が不足している。従って、ボルボックス目内の多細胞化を探る上でも、スポンディロモルム科のより多くの培養株を用いた系統分類学的研究が望まれる。本研究はスポンディロモルム科に属する藻類の系統分類学的知見を得ることを目的としている。採集時期や培養法を検討した結果、スポンディロモルム科 2 属 4 種の新規培養株を確立できたため、それらの形態学的な観察と分子系統解析を実施した。新規株の光学・透過型電子顕微鏡観察により *Pascherina tetras* と *Pyrobotryx* 3 種の栄養群体の詳細な特徴が明らかになった。また原記載 (Korshikov 1938, *Proc. Kharkov A. Gorky State Univ.*) 以来採集報告のなかった特異な巨大眼点をもつ *Pyrobotryx elongata* の存在が培養株で確認された。分子系統解析の結果、*Pascherina* と *Pyrobotryx* はそれぞれ他の群體性藻類とは系統的に分離し、スポンディロモルム科は多系統であることが明らかになった。*Pyrobotryx casinoensis* と *Pyrobotryx elongata* の 2 種は栄養群体の細胞数が同じで細胞形態も類似しているが、培養株の比較観察で眼点の形態に明らかな差異が認められ、系統的位置も分離したため、両種は別種とするのが妥当であると結論した。また、我々の系統解析の結果はボルボックス目の中で少なくとも 4 回の多細胞化が起こったものと推測された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 16 件)

1. Featherston, J., Arakaki, Y., Nozaki, H., Durand, P. M. and Smith, D. R. 2016. Inflated organelle genomes and a circular-mapping mtDNA likely 1 existed at the origin of coloniality in volvocine green algae. *Eur. J. Phycol.* In press. 査読有
2. Kawafune, K., Hongoh, Y., Hamaji, T., Sakamoto, T., Kurata, T., Hirooka, S., Miyagishima, SY. and Nozaki, H. 2015. Two different rickettsial bacteria invading *Volvox carteri*. *PLoS ONE* 10(2):e0116192. doi:10.1371/journal.pone.0116192 査読有
3. Nozaki, H., Ueki, N., Misumi, O.,

- Yamamoto, K., Yamashita, S., Herron, M. D. and Rosenzweig, F. 2015. Morphology and reproduction of *Volvox capensis* (Volvocales, Chlorophyceae) from Montana, USA. *Phycologia* 54: 316-320. DOI: 10.2216/15-14.1 査読有
4. Sugasawa, M., Matsuzaki, R., Arakaki, Y. and Nozaki, H. 2015. Morphology and phylogenetic position of a rare four-celled green alga, *Pascherina tetras* (Volvocales, Chlorophyceae), based on cultured material. *Phycologia* 54: 342-348. DOI: 10.2216/15-27.1 査読有
 5. Matsuzaki, R., Kawai-Toyooka, H., Hara, Y. and Nozaki, H. 2015. Revisiting the taxonomic significance of aplanozygote morphologies of two cosmopolitan snow species of the genus *Chloromonas* (Volvocales, Chlorophyceae). *Phycologia* 54: 491-502. DOI: 10.2216/15-33.1 査読有
 6. Takahashi, T., Nishida, T., Saito, C., Yasuda, H. and Nozaki, H. 2015. Ultra-high voltage electron microscopy of primitive algae illuminates 3D ultrastructures of the first photosynthetic eukaryote. *Sci. Rep.* 5: 14735. DOI: 10.1038/srep14735. 査読有
 7. Sugasawa, M., Matsuzaki, R., Kawafune, K., Takahashi, T., Kawachi, M., Krienitz, L. and Nozaki, H. 2015. Taxonomic study of *Pyrobotryx* (Spondylomoraceae, Chlorophyceae) based on comparative morphological and molecular analyses of culture strains established using novel methods. *Cytologia* 80: 513-524. DOI: org/10.1508/cytologia.80.513 査読有
 8. Kawafune, K., Hongoh, Y. and Nozaki, H. 2014. A rickettsial endosymbiont inhabiting the cytoplasm of *Volvox carteri* (Volvocales, Chlorophyceae). *Phycologia* 53: 95-99. doi:10.2216/13-193.1 査読有
 9. Nozaki, H., Yamada, T. K., Takahashi, F., Matsuzaki, R. and Nakada, T. 2014. New "missing link" genus of the colonial volvocine green algae gives insights into the evolution of oogamy. *BMC Evol. Biol.* 14: 37. doi:10.1186/1471-2148-14-37 査読有
 10. Kawai-Toyooka, H., Mori, T., Hamaji, T., Suzuki, M., Olson, B. J. S. C., Uemura, T., Ueda, T., Nakano, A., Toyoda, A., Fujiyama, A. and Nozaki, H. 2014. Sex-specific posttranslational regulation of the gamete fusogen GCS1 in the isogamous volvocine alga *Gonium pectorale*. *Eukaryotic Cell* 13:

- 648-656. doi:10.1128/EC.00330-13 査読有
11. Matsuzaki, R., Hara, Y. and Nozaki, H. 2014. A taxonomic study of snow *Chloromonas* species (Volvocales, Chlorophyceae) based on light and electron microscopy and molecular analysis of cultured material. *Phycologia* 53: 293-304. DOI: 10.2216/14-3.1 査読有
 12. Takahashi, T., Sato, M., Toyooka, K. and Nozaki, H. 2014. Surface ornamentation of *Cyanophora paradoxa* (Cyanophorales, Glaucophyta) cells as revealed by ultra-high resolution field emission scanning electron microscopy. *Cytologia* 79: 119-123. DOI: 10.1111/jpy.12236 査読有
 13. Yang, Y., Matsuzaki, M., Takahashi, F., Qu, L. and Nozaki, H. 2014. Phylogenomic analysis of “red” genes from two divergent species of the “green” secondary phototrophs, the chlorarachniophytes, suggests multiple horizontal gene transfers from the red lineage before the divergence of extant chlorarachniophytes. *PLoS ONE* 9: e101158. 査読有
 14. Hirooka, S., Higuchi, S., Uzuka, A., Nozaki, H. and Miyagishima, SY. 2014. Acidophilic green alga *Pseudochlorella* sp. YKT1 accumulates high amount of lipid droplets under a nitrogen-depleted condition at a low-pH. *PLoS ONE* 9: e107702. DOI: 10.1371/journal.pone.0101158 査読有
 15. Takahashi, T., Sato, M., Toyooka, K., Matsuzaki, R., Kawafune, K., Kawamura, M., Okuda, K. and Nozaki, H. 2014. Five *Cyanophora* (Cyanophorales, Glaucophyta) species delineated based on morphological and molecular data. *J. Phycol.* 50: 1058-1069. DOI: 10.1111/jpy.12236 査読有
 16. Arakaki, Y., Kawai-Toyooka, H., Hamamura, Y., Higashiyama, T., Noga, A., Hirono, M., Olson, B. J. S. C. and Nozaki, H. 2013. The simplest integrated multicellular organism unveiled. *PLoS ONE* 8: e81641. doi: 10.1371/journal.pone.0081641 査読有
- [学会発表](計 14 件)
1. 新垣陽子、菅澤瑞穂、松崎令、豊岡博子、野崎久義 “緑藻綱ボルボックス目における多細胞化の初期段階” (2015年9月3~4日、第12回クラミドモナス研究会、中央大学理工学部、東京都・文京区)
 2. 新垣陽子、菅澤瑞穂、松崎令、豊岡博子、野崎久義 “ボルボックス目藻類で探る多細胞化初期過程” (2015年9月5日、日本植物形態学会第27回総会・大会、朱鷺メッセ：新潟コンベンションセンター、新潟県・新潟市)
 3. 菅澤瑞穂、松崎令、川船かおる、高橋紀之、野崎久義 “群体性緑藻スポンディロモルム科(ボルボックス目)2属の新規培養株を用いた比較形態観察と分子系統解析による分類学的研究” (2015年3月6日~8日、日本植物分類学会第14回大会、福島大学、福島県・福島市)
 4. 野崎久義 “ボルボックスの仲間を用いて探るメスとオスの進化” (2014年11月23日、自然史学会連合講演会「第一線の研究者が語る進化の謎」、ミュージアムパーク茨城県自然博物館、茨城県・坂東市) 招待講演
 5. 新垣陽子、豊岡博子、野崎久義 “緑藻ボルボックス目“シアワセモ”で探る多細胞化の初期過程” 「若手の会シンポジウム~真核生物のスーパーグループを渡り歩く~」(2014年10月31日~11月2日、第47回日本原生生物学会大会、宮城教育大学、宮城県・仙台市) 招待講演
 6. 宗像英仁、仲田崇志、野崎久義、富田勝 “群体性藻類 *Stephanosphaera* (緑藻綱, オオヒゲマワリ目)の単細胞性姉妹群の再検討” (2014年9月12日~14日、日本植物学会第78回大会、明治大学生田キャンパス、神奈川県・川崎市)
 7. Nozaki, H. “ “200 MY time Travel” for origin of female and male genders by driving the evolutionary time machine “colonial Volvocales” (DBS Special Seminar, Division of Biological Sciences, University of Montana, Missoula, Montana, USA, 30 July 2014) 招待講演
 8. 野崎久義、山田敏寛、高橋文雄、松崎令、仲田崇志 “群体性ボルボックス目の“ミッシングリンク”新属” (2014年3月21~24日、日本植物分類学会第13回大会、熊本大学黒髪南キャンパス、熊本県・熊本市)
 9. 野崎久義、豊岡博子、森 稔幸、浜地貴志、鈴木雅大、豊田 敦、野口英樹、藤山秋佐夫 “群体性ボルボックス目のゲノム情報から探る雌雄性の進化と多細胞化” (2013年8月28日~29日、新学術領域研究「ゲノム支援」拡大班会議、ポートピアホテル、兵庫県・神戸市)
 10. Nozaki, H., Yamada, T. K., Takahashi, F., Matsuzaki, R., and Nakada, T. “A new “missing link” genus of the colonial volvocine greens growing in Japanese and Austrian freshwaters” (10th International Phycological Congress Annual Meeting, Renaissance Orlando at SeaWorld, Orlando, Florida, USA, 4-10 August 2013)

11. Arakaki, Y., Kawai-Toyooka, H., Hamamura, Y., Higashiyama, T., Noga, A., Hirono, M. and Nozaki, H. “ The simplest multicellular organism *Tetrabaena socialis*” (Second International *Volvox* Conference, University of New Brunswick, Fredericton, New Brunswick, Canada, 31 July-3 August 2013)
11. 新垣陽子、豊岡博子、浜村有希、東山哲也、苗加彰、廣野雅文、野崎久義 ” 最もシンプルな統合された多細胞体の発掘 ” (2013年6月8日、第13回東京大学生命科学シンポジウム、東京大学伊藤国際学術研究センター・小島ホール、東京都・文京区)
13. 新垣陽子、豊岡博子、野崎久義 “ 4細胞性初期多細胞体テトラバエナ (緑藻綱、ボルボックス目) の微細構造観察 ” (2013年3月28日～29日、日本藻類学会第37回大会、山梨大学甲府西キャンパス、山梨県・甲府市)
14. 新垣陽子、豊岡博子、浜村有希、東山哲也、野崎久義 “ 群体性ボルボックス目における多細胞化初期段階の形態進化 ” (2012年9月15日～17日、日本植物学会第76回大会、兵庫県立大学姫路書写キャンパス、兵庫県・姫路市)

〔図書〕(計 1 件)

1. Nakada, T. and Nozaki, H. 2015. Flagellate Green Algae. In *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*, 2nd edition (J. D. Wehr, R. G. Sheath and J. P. Kociolek Eds.). pp. 605-650.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)
取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

東京大学 大学院理学系研究科・理学部プレスリリース

<http://www.s.u-tokyo.ac.jp/ja/press/2013/47.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野崎 久義 (NOZAKI, Hisayoshi)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：40250104