

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14598

研究課題名(和文) 緑藻の生活史に多様性が進化する機構の解明に迫る

研究課題名(英文) An empirical approach to the evolution of diversified life histories of green algae

研究代表者

富樫 辰也 (Togashi, Tatsuya)

千葉大学・海洋バイオシステム研究センター・教授

研究者番号：70345007

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)：本研究では、単複相の異型世代交代を行うアオサ藻綱の海産緑藻エゾヒトエグサを材料として、主として以下の事柄が明らかになった。配偶子の発生運命はその配偶子が有する資源量に依存しない；遺伝的にも資源量も異なる同一の配偶子嚢に形成された配偶子でも、単為発生して孢子体になるか、配偶体になるかは必ずしも一致しない。しかし、単為発生して生き残る確率はその配偶子が有する資源の量と正の相関がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, using a haplodiplontic marine green alga, *Monostroma angicava* of the Ulvophyceae, we approached to the evolution of diversified life histories of green algae. We found that the parthenogenetic developmental fates are independent of gamete size: genetically identical gametes of an equal size formed in the same gametangium had different fates. However, parthenogenetic survival of gametes by developing into either a partheosporophyte or a parthenogametophyte positively depended on gamete size.

研究分野：進化生態学

キーワード：異型配偶 性淘汰 精子競争

1. 研究開始当初の背景

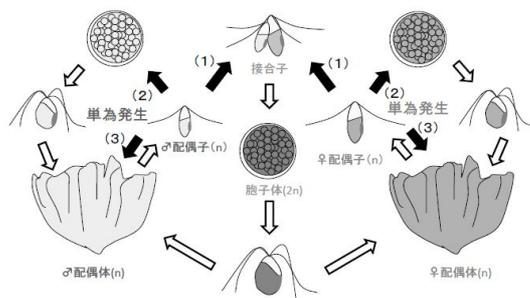
近年、他の研究グループによって、藻類をはじめとする生物に見られる配偶体や孢子体がどのような遺伝子が発現することによって形成されるのかが詳しく明らかにされてきた(Sakakibara et al. 2013)。これに対して、その遺伝子の発現がどのような要因によって制御されているかは不明のままであった(e.g. Togashi et al. 2012)。

多くの生物では配偶体で生産される精子や卵などの配偶子はパートナーと接合できなければ、すべて死滅しその資源は失われてしまう。これに対して、研究代表者(富樫)は、本研究で材料として用いる同型配偶に近い海産緑色藻類エゾヒトエグサ(*Monostroma angicava*)の雌雄の配偶子には次に挙げる3通りの発生運命(developmental fates)があることを発見した(図1)：

(1) 接合して複相の孢子体になり、減数分裂を行って遊走子を形成し、その遊走子が単相の次世代の配偶体となる。

(2) 接合しなかった配偶子が単為発生して孢子体になり、遊走子を形成して複数の単相の次世代の配偶体となる。

(3) 接合しなかった配偶子が単為発生して直接1個体の単相の配偶体になる。



遊走子(n) 図1、エゾヒトエグサの生活史

本種の配偶子は、雌雄の細胞が同調的に分裂することによって形成される。雌雄の間でこの分裂回数は異なり、雌雄ともにその回数にはばらつきがある(Togashi et al. 1997)。このため、研究代表者(富樫)は、第一に雌雄の配偶子のサイズ進化を研究する過程で、この配偶子分裂過程に見られる同調的な細胞

分裂の回数の違いによって、本種にこれまで知られてきたような、配偶子サイズのバラつきが生じているのではないかと考えた。第二に、これまで多くの配偶子サイズの進化モデルで考えられてきたように、遺伝的に異なる配偶子が有する唯一の根本的なパラメータは、その配偶子が有する資源の量、すなわちサイズであり、このケースにおいてもそれが当てはまるとすると、サイズの違いによって、少なくともパートナーと接合出来なかった時に配偶子が行う単為発生の2つの全く異なる発生経路のどちらが選択されるかも、その配偶子が有する資源の量に依存するのではないかと考えた。なぜなら、本種においては、配偶子形成過程で減数分裂を行わないため、同一の配偶体から生産された配偶子は、遺伝的に異なるクローンであると考えられるからである。研究代表者(富樫)は、このことが本種をはじめとする海産緑色藻類に多く見られる多様な生活史経路が進化するメカニズムの根底にあるのではないかと考えていた。また、ここまで述べた事柄からわかるように、これらの仮説を検証するためには、エゾヒトエグサは極めて有利な生物であると考えることが出来た。

2. 研究の目的

これまでエゾヒトエグサをはじめとするアオサ藻綱の海産緑色藻類に確認されている多様な生活史経路の存在が、それぞれの配偶子が有する初期資源量の違いに依存する現象であるかどうかを実験を通して確かめることによって、これらの生物の生活史に多様性が進化する機構の解明に迫ることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

アオサ藻綱を中心とする海産の緑色藻類に見られる多様な生活史の多様性の進化機構の解明はこれまでほとんど手が付けられていない研究領域であった。その理由は、ひと

つには、この問題にアプローチするための仮説がほとんど提案されてこなかったことにあり、さらにもうひとつにはたとえ提案されたとしてもそれを実験によって検証する方法が無かったことが挙げられる。

本研究では、「緑藻の生活史において、配偶子からの発生経路に見られる多様性は、配偶子が有する初期資源量（配偶子のサイズ）が異なることに起因するのではないか」というまったく新しい仮説を提案した。

この仮説を実験によって検証することは、一般には極めて困難であると言えることが出来る。その理由は、多くの生物で配偶子のサイズにばらつきが小さく、配偶子をサイズの違いによって分けることが極めて難しいためである。しかし、本研究では、海産緑藻・エゾヒトエグサが有するユニークな特性を利用することによってこれらの困難を乗り越えることに挑んだ。

同調的な細胞分裂によって配偶子形成が終了したエゾヒトエグサ (*Monostroma angicava*) の配偶子嚢を単離し、分裂回数の違いによって生じる配偶子のサイズの違いによってその後の単為発生経路が決められているかどうかを調べた。

(1) 野外で成熟個体を採集(春の大潮を利用)。研究材料となる配偶子が形成され成熟したエゾヒトエグサの配偶体を北海道大学北方生物圏フィールド科学センター室蘭臨海実験所(北海道室蘭市)で採集する。雌雄の配偶体を実験室内で単藻培養して配偶子形成を行わせることもできるが、配偶子形成までに時間が掛るうえ、大きな労力が必要となる。これに対して、野外での材料採集には研究代表者(富樫)のこれまでの研究から以下の利点がある(Togashi & Cox 2001):

1 フェノロジーが解明されており、潮汐リズムにもとづいて正確に繁殖スケジュールを予測することができる(2月から6月の干潮時の潮位が昼間にはじめて30cm以下になる

日の干潮時)。

2 配偶体は高密度で潮間帯上部に繁茂し、干潮時には陸上に露出するので、採集を安全に行うことができる。

3 配偶体は、個体の識別が容易であるほか、成熟部分の色の違い(雄:黄色;雌:濃緑色)によって雌雄を野外でも確実に見分けることができる。

このため、本研究では、春の大潮(4月から6月まで月2回)に、野外で成熟した配偶体を実験材料として採集した。

(2) 配偶子嚢のサイズと配偶子嚢内に形成された配偶子の数を調べた(配偶子の核を蛍光染色)。

配偶体の成熟部分を細断し、滅菌海水中でピペティングして配偶子嚢を各個に遊離させてサイズを測定したのち、パスツールピペットを使ってこれを単離して、内部に形成された配偶子の核を蛍光染色することによって計数した。

(3) 内部に形成された配偶子の数を確認した配偶子嚢をカルチャープレートのスポットに単離。

培養する配偶子嚢は、形成された配偶子の数を確認し、サイズ計測のための顕微鏡写真を撮影したのち PES 培地を満たした培養シャーレ中に単離した。

(4) 配偶子を放出(光刺激を利用)。

配偶子嚢から光照射条件下でのみ配偶子放出を促進する物質が分泌される(Togashi & Cox 2001)。この性質を利用して、培養する配偶子嚢に光を当てて配偶子を放出させた。

(5) 放出された配偶子を培養し、発生経路を調べる。

単為発生させる配偶子は、人工気象器を用いて14 長日条件で人工気象器を使用して培養実験を行ってその発生経路を調べた。

4. 研究成果

(1) 本研究において主たる研究材料とした工

ゾヒトエグサの配偶子形成過程において見られる同調的な細胞分裂が本研究で行った定量的な解析の結果、等しいサイズの娘細胞を生み出す等割であることが明らかになった。これによって、本種においては同一の配偶子嚢内に形成された配偶子は、遺伝的に異なるクローンであるのみならず、有する資源の量も異なることが示された。

(2)従来の研究で示されていたように、この同調的な等分割の回数には、同一の配偶体形成された配偶子嚢においても異なる配偶子嚢の間にバラつきが確認されたが、この分裂回数のバラつきは、配偶子嚢のサイズと正の相関関係があることが分かった。すなわち、これは配偶子形成過程に見られる同調的な細胞の等割の回数のバラつきは、これまで考えられていたようにその配偶子嚢の中で生産される配偶子のサイズをバラつかせる要因となっているわけではなく、むしろ異なるサイズの配偶子嚢においても出来るだけに配偶子のサイズを均一にするためのメカニズムであることが分かった。すなわち、本種に見られる配偶子サイズのバラつきは、この機構で補正しきれない、配偶子嚢サイズのバラつきに起因していることが分かった。

(3)単離培養を行ったそれぞれの配偶子嚢に形成された配偶子の発生運命を追跡した結果からは、以下のことが分かった。

配偶子とそのパートナーと出会えない場合、それぞれの配偶子は、単為発生胞子体になるか単為発生配偶体になるかの2つの方法で生き残ることが可能である。

単為発生胞子体になるか単為発生配偶体になるかして、パートナーと出会えなかった配偶子が生き残ることが出来る可能性とその配偶子が有する資源の量には正の相関関係がある。すなわち、大きな配偶子ほど単為発生することによって生き残りやすい。

しかし、ある配偶子が単為発生胞子体になるか単為発生配偶体になるかは、全体として単為発生胞子体になる割合が高いものの、その配偶子が有する資源の量とは独立に決まっている。

単為発生して配偶体になる配偶子の割合ももしそれが突然変異によって発生したと考えた場合よりも格段に高いうえ、単為発生配偶体から得られた配偶子も再び胞子体に単為発生することが出来ることが確認されたため、配偶体への単為発生も偶発的な突然変異ではないことがわかった。さらに、本研究で主として用いたエゾヒトエグサ以外にもアオサ藻綱の海産緑色藻類の配偶システムと生活史経路の多様性を広く調べてみると、生活史経路の多様性は、同型配偶もしくは弱い異型配偶を行う種において顕著に高くなっていることがわかった。これらのことから、配偶子の単為発生による生活史経路の多様化は、パートナーの配偶子の数が相対的に少ないことを補うための生活史戦略ではないかと考察することが出来た。

参考文献

- Sakakibara K. et al. 2013. *Science* 339: 1067-1070.
- Togashi T. et al. 2012. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA (PNAS)* 109: 13692-13697.
- Togashi T. & Cox P.A. 2001. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 264: 117-131.
- Togashi T. et al. 1997. *Sexual Plant Reproduction* 10: 261-268.

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 4 件)

1 Yasumasa Kokubo, Sandra Banack, Satoru

Morimoto, Shigeo Murayama, Tatsuya Togashi, James S. Metcalf, Paul Alan Cox, and Shigeki Kuzuhara (印刷中)

-N-methylamino-L-alanine analysis in the brains of Kii ALS/PDC patients 査読有り

² 杉井優太郎、富樫辰也. (印刷中).

北海道小樽市の忍路湾に生育するハネモ属海産緑藻1種の分類学的位置付けについて

A reconsideration of the classification of the marine green alga in the genus *Bryopsis* in Oshoro bay, Otaru city, Hokkaido, Japan.

海洋バイオシステム研究(Marine Biosystems Research) 査読有り

³ Togashi, T., Y. Horinouchi, H. Sasaki and J. Yoshimura. 2015.

Evidence for equal size cell divisions during gametogenesis in a marine green alga, *Monostroma angicava*.

Scientific Reports (Sci. Rep.) **5**, 13672; DOI:10.1038/srep13672 査読有り

⁴ 北野慎容、長谷川一幸、秋本泰、岡部克顕、富樫辰也. 2015.

千葉県鴨川市内浦湾における大型海藻類の分布の現状とその植生変化

Large seaweeds Uchiura Bay, Kamogawa, Chiba: Distribution, seasonal change.

海洋バイオシステム研究(Marine Biosystems Research) **29**:2-10. 査読有り

〔学会発表〕(計 3 件)

¹ 堀之内祐介、茂呂竜太郎、若菜雄、富樫辰也

海産緑藻の生活環における隠れた種内多型の発見

第64回日本生態学会大会、2017年3月14日 18日、早稲田大学早稲田キャンパス(東京都新宿区)

² 富樫辰也

海産緑藻配偶システムの進化に見る偶然と必然

自由集会「藻類の多様性から迫る生物進化と生態・環境」

第63回日本生態学会大会、2016年3月20日 24日、仙台国際センター(宮城県仙台市)

³ 堀之内祐介、杉井優太郎、若菜雄、茂呂竜太郎、富樫辰也

海産緑藻エゾヒトエグサにおいて新たに発見した生活史経路

第63回日本生態学会大会、2016年3月20日 24日、仙台国際センター(宮城県仙台市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富樫辰也 (TOGASHI, Tatsuya)

千葉大学・海洋バイオシステム研究センター・教授

研究者番号: 70345007