

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：24506

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K15576

研究課題名(和文)海産付着動物の着底場所選択性に関わる遺伝的基盤の解明

研究課題名(英文)Molecular basis of settlement site selectivity in marine sessile animals

研究代表者

頼末 武史(Yorise, Takefumi)

兵庫県立大学・自然・環境科学研究所・准教授

研究者番号：50766722

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):日本沿岸の代表的な海洋付着性動物であるフジツボ類とサンゴ類を対象に、異なる着底フェロモン濃度刺激に対する幼生の着底応答やストレス環境下での幼生の網羅的遺伝子発現の解析を実施し、幼生の着生行動がフェロモン濃度依存的に変化すること、捕食者が分泌する化学物質のストレス環境下では忌避するための遊泳行動が活発になりことが明らかになった。また、キタアメリカフジツボを対象とした集団ゲノミクスから、着底場所の温度条件の探索に関与している可能性がある遺伝子座を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では幼生の着生行動が低濃度のフェロモン刺激で抑制されることを示した。また、フジツボ類の着底場所の温度条件の探索に関与している可能性のある遺伝子マーカーを検出することに成功した。これらの成果は基礎学術的に新規性が高いだけでなく、付着生物防除などの応用分野にも貢献する成果である。またサンゴ類の幼生においては、捕食者であるオニヒトデが分泌する化学物質刺激によって幼生の行動や遺伝子発現を大きく変化することを発見した。オニヒトデはしばしば大発生してサンゴの深刻な食害をもたらすことが知られているが、本研究の知見はオニヒトデからサンゴ礁生態系を保全するための重要な知見になると考えられる。

研究成果の概要(英文): I conducted larval settlement assays to understand responses to different settlement pheromone concentration stimuli in barnacles. The results revealed that larval settlement behavior changes in a pheromone concentration-dependent manner. I also analyzed behavioral and genetic responses to predator stress environments in coral larvae, which showed that larvae exhibit more active swimming behavior to avoid predator-secreted chemical substances under stressful environments and suppress a number of genes, possibly to manage and reprioritize energy resources. Additionally, population genomics on northern American barnacles revealed a gene locus that may be involved in the search for suitable temperature conditions at the settlement site.

研究分野: 海洋生態学

キーワード: 付着生物 着底 幼生 フェロモン 遺伝子発現解析 探索行動 捕食者忌避

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海洋の付着性動物は世界各地の沿岸域で優占する分類群であり、基盤構成種として生物多様性を支えている。これらの付着性動物は成体の移動能力が低いため、幼生が生残や繁殖に適した場所に着生するかどうかで適応度が大きく左右される。そのため、同種個体が分泌するフェロモンなどの生息環境に由来する物理化学的な因子を頼りに着生場所を探索していることが知られている。しかし、着底場所の選択性は周囲の環境条件や幼生自身のエネルギー貯蔵量などの生理状態の変化に伴って変化することが知られている。例えば、幼生のエネルギー貯蔵量が減少してくると、着底場所の選択性が下がり、生息に適さないような場所にも着生することがある。しかし、このような着底場所の選択性をコントロールする分子メカニズムは未解明である。

2. 研究の目的

本申請課題では、日本沿岸の代表的な海洋付着性動物であるフジツボ類とサンゴ類を対象に、異なる着底フェロモン濃度刺激に対する幼生の応答の解明、及びストレス環境下での幼生の網羅的遺伝子発現解析を通し、幼生の着底場所選択性を司る分子基盤を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 異なるフェロモン濃度刺激に対する幼生の応答

日本沿岸で優占するタテジマフジツボを採集・飼育し、飼育水槽内から本種のノープリウス幼生を集めた。幼生は植物プランクトンを餌料として与え、着底期のキプリス幼生まで飼育した。また、本種の着底誘起フェロモン(WSP)の組換え体タンパク質を大腸菌の発現系を用いて作成した。本フェロモンを用いて、室内でのキプリス幼生の着底試験を実施した。幼生1個体を48ウェルプレートの各ウェルに入れ、フェロモンを0(コントロール), 1, 10, 100 nmol/Lの濃度で添加し、暗所で24時間インキュベートした。その後、各幼生が着底したかどうかを実体顕微鏡で観察し、記録した。

(2) ストレス環境下での幼生の遺伝子発現応答

代表的な造礁サンゴの一種である *Acropora* sp.1 を琉球大学瀬底臨海施設周辺で採集し、同施設の飼育水槽で飼育した。産卵日に異なる群体の精子と卵子を掛け合わせて受精させ、プラヌラ幼生まで飼育した。プラヌラ幼生プラヌラ幼生を、サンゴ類の代表的な捕食者であるオニヒトデ *Acanthaster* cf. *solaris* の飼育水中に入れ、2時間インキュベーター内で静置させた後、動画解析によって遊泳量をコントロール実験区と比較した。また一部の個体は RNA later で固定し、後日 RNA を抽出して RNA シークエンスを実施した。

(3) 着底場所の選択に関わる遺伝子マーカーの探索

4. 研究成果

(1) 異なるフェロモン濃度刺激に対する幼生の応答

室内での異なるフェロモン濃度刺激 (0, 1, 10, 100 nmol/L) に対するタテジマフジツボ

の幼生着底試験の結果、本種のキプリス幼生は高濃度(100 nmol/l)のフェロモン添加では着生率が高くなる一方で、低濃度(1 nmol/l)のフェロモン添加で着生率がコントロールよりも下がる傾向があるということが明らかになった。また幼生バッチによってフェロモンへの応答性が異なることも明らかになった。低濃度のフェロモン刺激はキプリス幼生にとって、同種個体が存在する生息に適した着生場所が存在するという情報となり、より好適な着生場所の探索を継続させているのではないかと考えられた。つまり、低濃度のフェロモン刺激は着底場所の選択性を向上させる働きがあり、フェロモン濃度によって着底場所の選択性が変化していることが示唆された。

さらにタテジマフジツボの近縁種であるヨーロッパフジツボにおいても同フェロモンの組換え体タンパク質を作成し、タテジマフジツボとヨーロッパフジツボのキプリス幼生及びフェロモンを用いたプレート着生実験を実施し、同フェロモンの種特異性について検討した。その結果、タテジマフジツボ及びヨーロッパフジツボの領主において、異種のフェロモンに対しても同種のフェロモンと同様に反応したことから、同フェロモンには種特異性がないことが示唆された。

(2) ストレス環境下での幼生の遺伝子発現応答

代表的な造礁サンゴの一種である *Acropora* sp.1 のプラヌラ幼生を対象に、捕食者に由来する化学物質のストレスが遺伝子発現と行動に与える影響を室内実験で評価した。具体的には、*Acropora* sp.1 のプラヌラ幼生を、サンゴ類の代表的な捕食者であるオニヒトデ *Acanthaster cf. solaris* の飼育水中に入れ、2時間インキュベーター内で静置させた後、遺伝子発現応答と遊泳量をコントロール実験区と比較した。その結果、プラヌラ幼生はオニヒトデの飼育水中では、コントロール海水中に比べて一定時間内の遊泳量が大幅に増加することが明らかになった。これはサンゴのプラヌラ幼生が着生後に被食を回避するための行動で可能性がある。また遺伝子発現を調べたところ、オニヒトデの飼育水では多くの遺伝子の発現が抑制されていた。一方、少数の遺伝子は発現が上昇し、その中には感覚シグナル伝達や運動ニューロン機能、酸化ストレスに応答することが知られている遺伝子などが含まれていた。プラヌラ幼生は、捕食者の化学物質によるストレスを受けると、多くの遺伝子の発現を抑制してエネルギーを節約する一方で、ストレス耐性や運動性、感覚受容に関わる最小限の遺伝子の発現を上昇させることで、被食回避行動をとっている可能性が考えられた。本研究から、捕食者飼育水のストレス環境下においては、サンゴの幼生は着底場所の探索をせずに離れた場所への忌避行動をとることが示唆された。しかし遊泳量の増加がオニヒトデ飼育水刺激による異常行動である可能性もあり、今後の詳細な検討が必要である。

(3) 着底場所の選択に関わる遺伝子マーカーの探索

北米太平洋岸原産の外来種であるキタアメリカフジツボを対象に、温度環境に関する着生場所選択の分子基盤の解明を目的として、緯度勾配及び潮位勾配にそってサンプリングした個体を対象に実施した Restriction Site Associated DNA Sequence (RAD-seq) のデータ解析を進めた。その結果、生息場所の温度環境と相関して遺伝子型頻度が変動する遺伝子座を複数検出した。これらの遺伝子座の近傍にある遺伝子が、本種の温度耐性に関わっているほか、着底場所の温度条件の探索に関与している可能性も考えられた。

(4) 派生した研究の成果

- a. 深海性のフジツボ類の着底機構などを含めた進化生態学的研究をレビューし、創設としてまとめた。
- b. フジツボ類を対象とした室内試験の過程で、海洋天然物であるスカプロライド F およびその関連化合物がフジツボ類の着底を阻害する効果を示し、かつ環境毒性を示さないことを見出した。
- c. 着底場所の選択に関わる遺伝子マーカーの探索の過程で、外来種であるキタアメリカフジツボのミトコンドリア DNA 及び核 DNA マーカーを用いた集団遺伝学的解析を行なった。その結果、本種の起源が国内生息域全域においてアラスカ~カナダ沿岸の集団であり、先行研究の結果との比較解析から、2000 年代から現在にかけて、ミトコンドリア DNA 及び核 DNA マーカーの多様性に変化が生じていないことを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kitade Shiori, Endo Noriyuki, Nogata Yasuyuki, Matsumura Kiyotaka, Yasumoto Ko, Iguchi Akira, Yorisue Takefumi	4. 巻 9
2. 論文標題 Faint chemical traces of conspecifics delay settlement of barnacle larvae	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Marine Science	6. 最初と最後の頁 983389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmars.2022.983389	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 Yorisue Takefumi	4. 巻 10
2. 論文標題 Lack of a genetic cline and temporal genetic stability in an introduced barnacle along the Pacific coast of Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PeerJ	6. 最初と最後の頁 e14073 ~ e14073
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7717/peerj.14073	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 頼末 武史、佐藤 允昭、矢萩 拓也	4. 巻 76
2. 論文標題 報告 2021年日本ベントス学会・プランクトン学会合同大会 自由集会「分野横断で挑む海洋幼生生態学」開催報告	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Benthology	6. 最初と最後の頁 130 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5179/benthos.76.130	査読の有無 無
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 頼末武史	4. 巻 75
2. 論文標題 熱水性フジツボ類の進化生態学的研究：深海熱水動物群集の多様性創出・維持機構の解明に向けて	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本ベントス学会誌	6. 最初と最後の頁 19-28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5179/benthos.75.19	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 Hiroyoshi Takamura, Yuki Sugitani, Ryohei Morishita, Takefumi Yorisue, Isao Kadota	4. 巻 -
2. 論文標題 Total synthesis and structure–antifouling activity relationship of scabrolide F	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d4ob00698d	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 頼末武史
2. 発表標題 フジツボの幼生が着生に至る過程
3. 学会等名 日本付着生物学会50周年記念シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 頼末武史
2. 発表標題 フジツボの生息場所探索機構
3. 学会等名 大阪湾海岸生物研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 本田琉将、佐藤亮太、頼末武史、野方靖行、小林元康
2. 発表標題 キブリス幼生の一時付着力における海水溶存性着生誘起フェロモンの影響
3. 学会等名 日本付着生物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 頼末武史
2. 発表標題 外来フジツボの定着・拡大過程における種間相互作用と進化外来フジツボの定着・拡大過程における種間相互作用と進化
3. 学会等名 瀬戸海洋生物学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北出汐里、松村清隆、遠藤紀之、安元剛、井口亮、頼末武史
2. 発表標題 フジツボにおける海水溶存性着生誘起フェロモンの濃度依存性および種特異性の検討
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 頼末武史
2. 発表標題 岩礁域における固着性ベントスの着底
3. 学会等名 日本生態学会第68回全国大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 本田琉将・瀧口耀士・頼末武史・野方靖行・小林元康
2. 発表標題 末端アジド化ポリマーグラフト化微粒子コーティング表面におけるキブリス幼生の一時付着力測定
3. 学会等名 日本付着生物学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 頼末武史
2. 発表標題 フジツボ類の幼生着生誘起フェロモンの濃度依存性と種特異性
3. 学会等名 第15回化学生態学研究会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>同種個体の微かな化学的痕跡はフジツボ幼生の着生を遅らせる https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2022/pr20220929/pr20220929.html ひとく研究員の発表論文紹介 https://www.hitohaku.jp/research/h-research/2023.html#2023-4-yorissue1 フジツボは視覚情報を利用して同種個体を認識する https://www.hitohaku.jp/exhibition/planning/research-activities2024.html</p>
--

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
---------	---------