

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 3月31日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23657008

研究課題名（和文） 3倍体プラナリアが正常な半数体を創る減数分裂の分子機構

研究課題名（英文） Bisexual reproduction in triploid planarians

研究代表者

松本 緑 (Midori Matsumoto)

慶應義塾大学・理工学部・准教授

研究者番号：00211574

研究成果の概要（和文）：

マイクロサテライト遺伝子マーカーを用いて3倍体親子鑑定を行い、分子レベルでゲノムが混合していることを明らかにし、「3倍体は有性生殖ができない」という常識を覆し、3倍体でもゲノムが混合して次世代を作っていることを示した。さらに、雄性生殖細胞では第1減数分裂前期で既に2倍体になっているが、雌性生殖細胞の第1減数分裂前期では2価の染色体と1価染色体が共存する3倍体の状態であり、雌雄で染色体の挙動が異なることを発見した。

研究成果の概要（英文）：

While polyploids are common among plants and some animals, polyploidization often causes reproductive failure. Triploids in particular have the potential to form trivalents at meiotic metaphase I that cannot be resolved into balanced products, and random segregation of multiple chromosome types produces mostly aneuploid gametes, which may be associated with sterility. In the case of the Platyhelminthes *Dugesia ryukyuensis*, populations with triploid karyotypes are normally found in nature as both fissiparous and oviparous triploids [6]. Fissiparous triploids can also be experimentally sexualized if they are fed sexual planarians, developing both gonads and other reproductive organs. Fully sexualized worms, termed “acquired sexuals”, begin reproducing by copulation instead of fission. In this study, we examined the genotypes of the offspring obtained by breeding sexualized triploids and found that the offspring inherited genes from both parents, namely they reproduced truly bisexually. Furthermore, we investigated meiotic chromosome behavior in triploid acquired sexuals. The

results suggested that female germ-line cells remained triploid until prophase I, while male germ-line cells became diploid before entry into meiosis. Triploid planarians may form euploid gametes through different processes in female and male germ lines, and thus, they are able to reproduce sexually.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード：triploid, meiosis, planarian

1. 研究開始当初の背景

ゲノムの倍数化は多くの植物および一部の動物で見られ、種分化および進化を促進する大きな要因の一つであると考えられている。ゲノムの倍数化は生殖様式にも関わり、特に3倍体生物は減数分裂による配偶子形成が困難であるため、ほとんどが無性生殖のみで有性生殖は行わないと考えられている。しかし近年、有性生殖を行う3倍体生物が数例報告されている。それらの生物では、特殊な染色体挙動により正常な配偶子を形成し、有性生殖を可能にしていることが示唆されているが、その詳細な機構は多くの場合明らかになっていない。

扁形動物プラナリアは多能性幹細胞ネオブラストが全身の30%の細胞を占めるために高い再生能をもつが、その生殖様式には①生殖器官を持たず、分裂と再生のみで無性的に殖えるもの、②生殖器官をつくり2匹が対合して有性的に殖えるもの、そして③その両者を環境により転換させるものの3種類が共存する。また、核型には、2倍体、3倍体といった倍数性ととも異数性、混数性など染色体の変化が数多く観察されている。

本課題に用いたリュウキュウナミウズムシ *Dugesia ryukyuensis* でも核相は $2n = 14$ の2倍体と $3n = 21$ の3倍体が混在し、さらに上記の3種類の生殖様式が共存する2倍体、3倍体、2倍体と3倍体の混数体が存在し、3倍体で生殖器

官を持たないものは分裂による無性生殖、生殖器官を持つものは単為生殖を行うとされてきた。しかし、先行研究では、生殖器官を持たない3倍体個体に別種の有性プラナリアを投餌することによって生殖器官を誘導した個体（有性化個体）が有性生殖していることが示唆されている。

最近、申請者は有性生殖を行うプラナリアの3倍体個体とその多能性幹細胞から生殖細胞に分化する過程で2倍体になる現象を発見した。そのタイミングは、統計的な結果より第一次減数分裂前と予想されている。

2. 研究の目的

本応募では、この多能性幹細胞から生殖細胞へ分化する時期と3倍体から2倍体になる時期に対する分子レベルで明らかにする。倍数性転換により生殖細胞への分化が起こるのか？生殖細胞の分化により倍数性転換が起こるのか？を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

3倍体の多能性幹細胞から生殖細胞が形成される過程において核相の変化を調べた。

Piwi、Nanos 抗体、減数第一分裂前期の生殖細胞の染色には Spo11 および Rad51 ホモログに対する抗体を作成した。

4. 研究成果

本課題に用いた *D. ryukyuensis* では、生殖器官をもつ3倍体の個体も存在するが、雌性生殖細胞のみの単為発生によりゲノムを混合することなく子孫を作っていると考えられてきた。申請者は生殖器官をもつ個体の卵巣域、精巣域の染色体観察から、相同染色体が対合し、相同染色体間で乗り換えを起こしたキアズマ構造を確認した。

本課題で、申請者は個体ごとのゲノムを識別できるマイクロサテライト遺伝子をマーカーとして用いて親子鑑定を行い、分子レベルでゲノムが混合されていることを示した。これらのことは、減数分裂によりできた卵と精子が受精し、ゲノムが混ぜ合わされて次世代を作っていることを示した。また、2匹の3倍体有性生殖個体が接合して産んだ卵殻から、2倍体の仔虫と3倍体の仔虫が同時に誕生するが、これらの減数分裂時の染色体の詳細な観察から、雄性生殖細胞では第1減数分裂前期で既に2倍体になっているが、雌性生殖細胞の第1減数分裂前期では2価の染色体と1価染色体が共存しており3倍体の状態である事が示された。このようにプラナリアでは雌性と雄性における減数分裂の機構が異なることが示唆された。

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5件)

1. Innate sexuality determines the mechanisms of telomere maintenance. Kenta Tasaka, Naoki Yokoyama, Hanae Nodono, Motonori Hoshi, Midori Matsumoto, *International Journal of Developmental Biology*, 57, 69-72 (2013) 査読有
doi: 10.1387/ijdb.120114mm 査読有
2. Stem cells from innate sexual but not acquired sexual planarians have the capability to form a sexual individual.

Hanae Nodono, Yugo Ishino, Motonori Hoshi, Midori Matsumoto, *Molecular Reproduction & Development*, 79: 757-766 (2012)
doi: 10.1002/mrd.22109. 査読有

3. Reproductive Mode and Ovarian Morphology Regulation in Chimeric Planarians Composed of Asexual and Sexual Neoblasts. Hanae Nodono, Midori Matsumoto, *Molecular Reproduction & Development*, 79:451-460 (2012)
doi: 10.1002/mrd.22049. 査読有
4. Drpiwi-1 is essential for germline cell formation during sexualization of the planarian *Dugesia ryukyuensis*. Haruka Nakagawa, Hirotsugu Ishizu, Reiko Hasegawa, Kazuya Kobayashi, Midori Matsumoto *Developmental Biology*, 361, 167-176 (2012)
doi: 10.1016/j.ydbio.2011.10.014. 査読有
5. The newly identified Dr-nanos gene is essential for germ cell specification during sexualization of the planarian *Dugesia ryukyuensis*. Haruka Nakagawa, Hirotsugu Ishizu, Ayako Chinone, Kazuya Kobayashi, Midori Matsumoto, *International Journal of Developmental Biology*, 56, 165-171 (2012)
doi:10.1387/ijdb.113433hn 査読有

[学会発表] (計 5 件)

1. Ayako Chinone, Midori Matsumoto, Meiotic chromosome behavior in triploid planarian 3倍体プラナリアの減数分裂における染色体挙動 日本発生物学会第46回大会 松江 (2013.5.30)
2. Kento Ueda, Sota Takagi, Kazutoshi Yoshitake, Kazuho Ikee, Takashi Gojyobori, Midori Matsumoto Comprehensive screening of sexualization-inducing genes in planarian 日本発生物学会第46回大会 松江 (2013.5.30)
3. Hanae Nodono, Midori Matsumoto, Reproductive mode regulation of innate and acquired sexual planarians: amputation assay and stem cell transplantation Joint meeting of the 2nd Allo-Authentication Meeting and the 5th Egg-Coat Meeting "The International Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction

in Animals and Plant" (Grant-in-aid for Scientific Research on Innovative Areas from MEXT (Japan) entitled "Elucidating Common Mechanisms of Allogeneic Authentication: Mechanisms of Sexual Reproduction Shared by Animals and Plants) ・ Nagoya (Japan)(2012.11.14)

4. 茅根文子・松本緑 rad51 遺伝子を用いた3倍体リュウキュウナミウズムシの配偶子形成機構の解析日本動物学会第83回大会 大阪(2012.9.14)

5. 野殿英恵・松本緑 プラナリア生殖様式の季節転換の野外および飼育下での観察 日本動物学会第83回大会・大阪(2012.9.14)

6. 研究組織

(1)研究代表者

松本 緑 (Matsumoto Midori)
慶應義塾大学理工学部・准教授
研究者番号：00211574

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

立花 和則 (Tachibana Kazunori)
東京工業大学・大学院生命理工学研究科・
准教授
研究者番号：60212031

岩崎 博史 (Iwasaki Hiroshi)
東京工業大学・大学院生命理工学研究科・
教授
研究者番号：0232659