

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22570084

研究課題名（和文） 藻類におけるオスとメス、2つの性の確立機構に関する分子細胞生物学的研究

研究課題名（英文） Molecular cell biological studies on the evolution of male and female sex in algae.

研究代表者 宮村 新一 (MIYAMURA SHINICHI)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：00192766

研究成果の概要（和文）：緑藻植物における配偶子の細胞融合部位の性特異性が、緑藻植物の中で普遍的な現象であるかどうか明らかにするために、アオサ藻綱のフトジュズモ、エゾヒトエグサ、緑藻綱の *Gonium pectorale* の配偶子と受精過程について電子顕微鏡を用いて調べた。その結果、いずれにおいても、配偶子の細胞融合部位（接合装置）の空間配置は2つの性で異なっていた。また、性決定遺伝子 *MID* の有無との関係について *G. pectorale* を用いて調べた結果、*MID* がある場合には、接合装置は眼点と同じ側、ない場合には反対側に配置した。この結果は、近縁の緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* の場合と同様であり、*MID* の有無と接合装置の配置が密接に関係していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Spatial arrangement of gamete fusion site or mating structure was studied in ulvophyceyan green algae, *Chaetomorpha spiralis*, *Monostroma angicava* and chlorophyceyan green alga *Gonium pectorale* using electron microscopy. In all species, cell fusion site of the gamete was located on the same side of the eyespot in one sex type while it was located on the other side of the eyespot in the opposite mating type. These results support the proposal that sex specific arrangement of cell fusion site or mating structure may be a universal feature in chlorophyte algae. The relationship between the sex determination gene *MID* and sex specific arrangement of mating structure was studied using *G. pectorale*. In the *MID*⁺ gametes, mating structure was present on the same side as the eyespot while in the *MID*⁻ gametes mating structure was present on the opposite side of the eyespot. These results are consistent with that of *Chlamydomonas reinhardtii* and suggest that the close relationship between presence or absence of *MID* and sex specific arrangement of mating structure in these algae.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：植物形態学・細胞学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：性、配偶子、雌雄性、藻類

1. 研究開始当初の背景

多くの真核生物はオスとメス、2つの性を持つが、その起源と進化については不明な点が多い。もしも、オスとメスの区別がつかない同形配偶子と雌雄の区別がはっきりしている異形配偶子の両者に共通する「2つの性を区別する普遍的な性質」が見つければ、その性質の起源やメカニズムを解析することで、オスとメス、2つの性の起源と進化の問題を解明する手がかりが得られると考えられる。そのような性質の一つは、性決定遺伝子を用いた遺伝的な手がかりを探すことである。研究開始当初は、1990年代に緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* (同形配偶) で発見された性決定遺伝子 *MID* のオルソログが同じボルボックス目の *Pleodorina* (異形配偶) で発見され、ボルボックス目において同形配偶子の2つの性と異形配偶子の雌雄の対応づけられる可能性が示唆されていた。これに対して、配偶子の構造面からも手がかりが得られており。それが緑色藻類における雌雄配偶子の細胞融合部位の性特異性である。この現象は、1980年代に *C. reinhardtii* で発見されたものであるが、長い間注目されず、2000年代に入って海産緑藻のシワランソウモドキ、ナガアオサなどで確認されたものである。申請者が、電顕を用いて、同形、異形配偶の海産緑藻で調べた結果、同形、異形配偶に関わらず、細胞融合部位の性特異性がみられることが分かり、形態的にも同形配偶の2つの性と異形配偶の雌雄の対応関係がつかれる可能性があることが分かってきた。しかしながら、調べられた緑藻の種類は少なく、また、性決定遺伝子と配偶子の細胞融合部位の性特異性との関係も不明であった。

2. 研究の目的

上述した緑藻植物の配偶子における細胞融合部位の性特異性という現象の普遍性とこの現象と性決定遺伝子の関係を明らかにすることを目的として本研究を行った。

3. 研究の方法

研究材料としては、オオハネモ、フトジュズモは、関東近辺の海岸で採集した。エゾヒトエグサは北海道の室蘭で採集した。また、ヒラアオノリ、*Gonium pectorale*, *Chlamydomonas reinhardtii* は培養株を用いた。配偶子の細胞融合部位の観察には走査電顕および透過電顕を用いた。

4. 研究成果

(1) アオサ藻綱の海産緑藻における配偶子の細胞融合部位の性特異性

アオサ藻綱の海産緑藻については、ナガアオサ、ヒラアオノリ、オオハネモ、ヘライワヅタなどで配偶子の細胞融合部位の性特異性が分かっていたが、それ以外の多くの海産緑藻については明らかになっていなかった。そこで、シオグサ目のフトジュズモの同形配偶子とヒビミドロ目のエゾヒトエグサの異形配偶子について電子顕微鏡を用いて調べた。その結果、フトジュズモの同形配偶子では、多くの場合、2つの性で細胞融合部位は異なり、その結果、受精後の動接合子では配偶子由来の2つの眼点が細胞の同じ方向に並んで配置した。また、エゾヒトエグサでは、小さな雄配偶子では、眼点と反対側に細胞融合部位である接合装置が存在し、大きな雌配偶子では眼点と同じ側に接合装置が存在した。配偶子間の融合も接合装置の領域で始まり、その結果、形成された動接合子において雌雄配偶子由来の2つの眼点が細胞の同じ側に並んだ。このように、フトジュズモ、エゾヒトエグサでも際籐融合部位の性特異性が確認され、この現象の緑藻植物における普遍性を支持する結果となった。

(2) ボルボックス目 *Gonium pectorale* における細胞融合部位の性特異性と性決定遺伝子との関係

現在、ボルボックス目の *C. reinhardtii*, *Gonium pectorale* や *Volvox carteri* などでは性決定遺伝子 *MID* を共通して持つことが明らかとなっている。*C. reinhardtii* の場合、性決定遺伝子 *MID* が存在すると交配型マイナスになり、存在しないと交配型プラスになる。また、マイナス配偶子では眼点と同じ側に接合装置が存在し、プラスでは反対側に存在することが分かっている。この *MID* の有無と接合装置の配置の性特異性との関係が *C. reinhardtii* に近縁な *G. pectorale* の同形配偶子でも成り立つかどうかを明らかにするために、*G. pectorale* の受精過程について電子顕微鏡で観察した。その結果、配偶子は、鞭毛で接触後に受精管を伸長させ、受精管部分で接触、融合を開始した。その後、4本鞭毛の動接合子を形成し、2つの眼点が細胞の同じ方向に並んだ。接合装置は、*MID* を持つ配偶子では眼点と同じ側、持たない配偶子では眼点と反対側に配置し、*MID* の有無と接合装置の配置の関係は *C. reinhardtii* の場合と同じであった。従って、*C. reinhardtii* でも *G. pectorale* でも *MID* の有無が、接合装置の性特異的な配置に関与していることが示唆された。

(3) アオサ藻綱オオハネモにおける細胞融合因子 *GCS1* の解析

植物において配偶子の細胞融合に関与するタンパクについての情報は少ないが、唯一、テッポウユリで発見された膜タンパク GCS1 は、多くの植物、藻類、原生生物に共通して存在することが知られている。オオハネモ配偶子から、RT-PCR によってオオハネモ *GCS1* を検出し、配列を決定したところ、*C. reinhardtii* の配列と類似していることが分かった。また、多くの生物の GCS1 に共通した HAP2/GCS1 ドメインを持つことも分かった。現在、抗体を作製し、その分布について検討しているところである。

(4) ヒラアオノリを用いた性特異的遺伝子の解析

緑藻植物のボルボックス目では性決定遺伝子および交配型遺伝子座が明らかにされているものが多いが、アオサ藻綱では全く明らかになっていない。そこで、ヒラアオノリを用いて性特異的遺伝子を明らかにするために雌雄配偶子の EST 解析を行った。配偶子で発現している多くの遺伝子が確認されたが、雌雄特異的な遺伝子の同定には至っていない。引き続き解析中である。

以上の結果、配偶子の細胞融合部位の性特異性という現象は多くの緑藻植物に共通した現象である可能性が高まったが、まだ緑藻綱の多くの藻類について明らかにされていないことや、*C. reinhardtii* や *G. pectorale* 以外での性決定遺伝子との関係などの問題点があり今後解決されなければならないと考えられる。また、本研究遂行中に東日本大震災があり、研究室が壊滅的な被害を受けたために研究計画が大幅に遅れた点が残念である。

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 15 件)

① Yamazaki, T., Owari, S., Ohta, S., Sumiya, N., Yamamoto, M., Watanabe, K., Nagumo, T., Miyamura, S., and Kawano, S. Localization and evolution of septins in algae. *The Plant Journal* 74:605-614.2013. DOI: 10.1111/tpj.12147. 査読あり

② Miyamura, S. Sex specific sapatial arrangement of gamete fusion site in chlorophyte algae. *Aquabiology*. 34: 443-452. 2012. URL: <http://aquabiology.blog93.fc2.com/category7-1.html>. 査読なし

③ Terauchi, M., Nagasato, C., Kajimura, N., Mineyuki, Y., Okuda, K., Kastaros, C. and Motomura, T. Ultrastructural study of

plasmodesmata in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Dictyotales, Phaeophyceae). *Planta* 236: 1013-1026. 2012.

DOI:10.1007/s00425-012-1656-4 査読あり

④ Fu, G., Nagasato, C., Ito, T., Muller, D.G., and Motomura, T. Ultrastructural analysis of flagellar development in plurilocular sporangia of *Ectocarpus siliculosus* (Phaeophyceae). *Protoplasma* 205: 261-272. 2012. DOI: 10.1007/s00709-012-0405-7. 査読あり

⑤ Wayama, M., Ota, S., Matuura, H., Nango, N., Hirata, A., and Kawano, S. Three dimensional ultrastructural study of oil and astaxanthin accumulation during encystment in the green alga *Haematococcus*. *PLOS One* 8: e53618.2012. URL:<http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0053618>. 査読あり

⑥ Sumiya, N., Owari, S., Watanabe, K., and Kawano, S.: The role of multiple FtsZ rings in chloroplast division under oligotrophic and eutrophic conditions in the unicellular green alga, *Nannochloris bacillaris* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *J. Phycol.* 48, 1187-1196. 2012. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2012.01204.x. 査読あり

⑦ Nishikawa, T., Moriyama, Y., Sato, M., Sano, T., Hasezawa, S., Ota, S., and Kawano, S.: Isolation of mitochondrial and plastid ftsZ genes and analysis 1 of the organelle targeting sequence in the diatom *Chaetoceros neogracile* (Diatoms, Bacillariophyceae). *Phycol. Res.* 60, 123-136.2012. DOI: 10.1111/j.1440-1835.2012.0644.x. 査読あり

⑧ Sumiya, N., Watanabe, K., Owari, S., Yamamoto, M., and Kawano, S.: Chloroplast division and differentially regulated expression of FtsZ1 and FtsZ2 in *Nannochloris bacillaris* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Cytologia* 77, 59-66.2012. URL:https://www.jstage.jst.go.jp/article/cytologia/77/1/77_59/_pdf. 査読あり

⑨ Yamamoto, M., Handa, S. and Kawano, S.: DNA Content of *Stichococcus bacillaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) nuclei determined with laser scanning cytometry. *Cytologia* 76, 157-161. 2011. URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/cytologia/76/2/76_2_157/_pdf. 査読あり

⑩ Kastaros, C., Varvarigosa, V., Gachon, C. M. M., Jerry Brand, Motomura, T., Nagasato, C., and Kupper, F. C. Comparative

immunofluorescence and ultrastructural analysis of microtubule organization in *Uronema* sp., *Klebsormidium flaccidum*, *K. subtilissimum*, *Stichococcus bacillaris* and *S. chloranthus* (Chlorophyta). *Protist* 162:315-331. 2012. Doi.org/10.1016/j.protis.2010.10.004. 査読あり

⑩ Nishikawa, T., Kajitani, H., Sato, M., Mogi, Y., Moriyama, Y. and Kawano, S.: Isolation of chloroplast FtsZ and AtpC, and analysis of protein targeting into the complex chloroplast of the haptophyte *Pavlova pinguis*. *Cytologia* 75, 203-210.2010.URL:https://www.jstage.jst.go.jp/F01S040Init?sourceurl=%2Farticle%2Fcytologia%2F75%2F2%2F75_2_203%2F_pdf. 査読あり

⑪ Nagasato, C., Inoue, A., Mizuno, M., Kanazawa, K., Ojima, T., Okuda, K., and Motomura, T. Membrane fusion process and assembly of cell wall during cytokinesis in the brown alga, *Silvetia babingtonii* (Fueales, Phaeophyceae). *Planta* 232: 287-298.2010. DOI: 10.1007/s00425-010-1188-8. 査読あり

⑫ Terauchi, M., Kato, A., Nagasato, C. and Motomura, T. Analysis of expressed sequence tags from the chrysophycean alga *Ochromonas danica* (Heterokontophyta). *Phycological Research*58:217-221.2010.DOI: 10.1111/j.1440-1835.2010.00578.x. 査読あり

⑬ Miyamura, S. Cytoplasmic inheritance in green algae: patterns, mechanisms and relation to sex type. *J. Plant Res.* 123: 171-184. 2010. DOI: 10.1007/s10265-010-0309-6. 査読あり

⑭ Miyamura, S., Sakaushi, S., Horo, T. and Nagumo, T. Behavior of flagella and flagellar root systems in the planozygotes and settled zygotes of the green alga *Bryopsis maxima* Okamura (Ulvophyceae, Chlorophyta) with reference to spatial arrangement of eyespot and cell fusion site. *Phycol. Res.* 58: 258-269. 2010. DOI: 10.1111/j.1440-1835.2010.00585.x. 査読あり

[学会発表] (計 5件)

① 梅澤 歩、横田真吾、宮村新一、南雲 保、河野重行、浜地貴志、野崎久義. 緑藻 *Gonium pectorale* の配偶子における接合装置の空間配置と交配型の関係. 日本藻類学会第 36 回大会. 2012 年 7 月 14-15 日、札幌、北海道大学.

② 宮村新一. イチョウ精子の構造と進化. 日本動物学会第 82 回大会. 2011 年 9 月 21-23 日. 旭川. 旭川市神楽地区公共施設群.

③ 横田真吾、宮村新一、南雲 保. 緑藻 *Gonium pectorale* の同形配偶子における細胞融合部位の性特異性. 日本植物学会第 75 回大会. 2011 年 9 月 17 日-19 日. 東京. 東京大学.

④ 宮村新一、南雲 保. 海産緑藻オオハネモの接合における雌雄鞭毛装置と眼点の挙動. 日本植物学会第 74 回大会. 2010 年 9 月 9-11 日、春日井市、中部大学.

⑤ 山本真紀、半田信司、宮村新一、南雲 保、河野重行. 母細胞壁の界列と脱離の有無からみたトレボキシア藻の娘細胞連結. 日本植物学会第 74 回大会. 2010 年 9 月 9-11 日、春日井市、中部大学.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮村 新一 (MIYAMURA SHINICHI)
筑波大学・生命環境系・准教授
研究者番号：00192766

(2) 研究分担者

河野 重行 (KAWANO SHIGEYUKI)
東京大学・新領域創成科学研究・教授
研究者番号：70161338

本村 泰三 (MOTOMURA TAIZO)
北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・教授
研究者番号：30183974