

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24770069

研究課題名(和文) 平板動物の生殖周期・有性生殖・個体発生過程の解明

研究課題名(英文) Breeding cycle, sexual reproduction, and development of placozoans

研究代表者

中野 裕昭 (NAKANO, Hiroaki)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：70586403

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：平板動物の定期的な採集や固定サンプルの解析などの実験を行うことで、繁殖時期の特定、実験室内飼育系統の確立、生殖関連遺伝子や飼育系統確立に有用な遺伝子の単離等に成功している。とくに平板動物の繁殖時期の報告は世界初である。さらに、異なったグループ同士で有性生殖が行われている可能性を検討するため、下田産平板動物の系統解析を行ったところ、下田近海には複数のグループが生息していることが明らかになった。また、日本各地の平板動物でも同様の解析を行い、日本に生息するグループの分布パターンを解明した。これらの成果から、平板動物の生殖、発生、多様性に関する新たな知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：Through regular collections of adult placozoans, analyses of fixed samples, and other experiments, I have succeeded in determining the breeding season of placozoans at Shimoda, establishing a laboratory culture strain, and cloning of some reproduction related and lab-culture related genes. Of special note is the identification of the breeding season, since it is the first report for a placozoan. Furthermore, to examine the possibility that different haplotypes may be more competent for sexual reproduction, I have performed molecular phylogenetic analysis on the Shimoda placozoans and found that different haplotypes can be collected at Shimoda. Further research using animals collected around Japan revealed the distribution pattern of different haplotypes across the country. Through these studies, new implications on placozoan reproduction, development, and diversity were acquired.

研究分野：生物学

キーワード：平板動物 発生 有性生殖 繁殖時期 卵割 胚 進化 後生動物

1. 研究開始当初の背景

平板動物は直径 1mm 前後の円盤状の海産動物である。1883 年に水族館の水槽で発見され、刺胞動物の幼生だという説もあったが、現在では独自の門に属するという説が広く認められている。背側の細胞、腹側の細胞、及びその間の間充織様細胞の 3 層、6 種、数千個の細胞で構成される非常に単純な体制をもつ。器官や組織を欠き、神経細胞や筋肉細胞ももたない。背腹の区別はあるものの、前後軸や左右軸はない。全身に生えている繊毛を用いて、這うように移動することができる。その単純な体制から種の判別が困難で、現在科学的に記載されている種は平板動物門全体で *Trichoplax adhaerens* (センモウヒラムシ) 1 種のみである。最近の分子系統解析や電子顕微鏡を用いた形態学的観察からは複数のグループが門内に存在することが明らかになったが (Eitel & Schierwater, 2010; Guidi et al., 2011)、それらのグループが別属、別種、亜種、何に相当するかは結論は出ていない。現生の中でももっとも原始的な特徴を残す動物の一つであるとみなされ、系統学的研究も盛んで、2008 年にはゲノムも報告されている (Srivastava et al., 2008)。

しかし、動物として基本的な情報の一つである有性生殖過程が、発見から 120 年以上経た現代でも未だ謎である。出芽や分裂等による無性生殖の報告は多いものの、受精卵からの胚発生に関しては、128 細胞期までの報告があるのみである (128 細胞期までで全ての胚が死んでしまうという (Eitel et al., 2011))。また、成熟した精子の報告もこれまでに一件もない。これらのことから、平板動物は門全体で有性生殖を放棄した動物群であるという説も唱えられた。しかし、128 細胞期までとはいえ卵割が観察されたこと (Eitel et al., 2011)、他の動物で生殖細胞に発現している遺伝子がゲノムに存在していること (Srivastava et al., 2008)、遺伝子間組換えに有性生殖をする生物の特徴が確認されたことから (Signorovitch et al., 2005)、平板動物は有性生殖が可能であると広く認められている。では何故、これまで有性生殖の観察に成功していないのか。その理由の一つとして、現在世界中で研究に用いられているほぼ全ての個体が、1969 年に紅海で採集された単一個体由来の、実験室内飼育系統 (通称:Grell クローン) であることが挙げられる。平板動物の研究者では、この個体が雌だった可能性や長い実験室内飼育の過程で有性生殖能力を失った可能性が議論されている。これらの可能性を排除するためにも、平板動物の有性生殖の解明には Grell クローン以外での研究が必須である。

2. 研究の目的

筑波大学下田臨海実験センターの所在地である下田市からは 1977 年に平板動物が報告されている (Sudzuki, 1977)。しかしながら、

過去に多くの研究者が筑波大学下田臨海実験センターでの採集を試みたものの、誰も成功していなかった。私は共同研究者とともに 2010 年 4 月にセンターでの採集に成功した。その後、採集方法や採集場所の検討を重ねてきた結果、安定した採集が可能になっている。現在は毎月採集を行っており、多い月では 250 匹以上、少ない月では 20 匹前後が採集されることから、個体数には季節の変動が存在することが明らかになった。また、3 ヶ月以上の研究室内での飼育にも成功しており、飼育下の個体における無性生殖や摂餌行動の観察にも成功している。本研究では、このように安定的な採集が可能で、Grell クローンではない下田集団を用い、平板動物で長く謎であった生殖周期の有無や有性生殖過程、個体発生過程を解明するのが目的である。

3. 研究の方法

私は 2010 年 4 月に下田臨海実験センターに着任してから、共同研究者と共にセンター内で平板動物を発見することに成功している。その後センター内外各所で採集を試み、既に安定した採集方法を確立し、採集可能な場所を複数確認している。研究期間中は定期的な採集を行い、毎月の採集個体数、及び採集個体のサイズを測定を行った。また、その際に一匹一匹を実体顕微鏡下で観察することで卵や胚の有無やその個数を確認した。

採集された個体の一部、または全個体を実験室内で飼育し、飼育下で卵成熟が進行するかも確認した。この飼育下での分裂、出芽等の回数を記録し、無性生殖の活発な時期も推定した。また、高密度下で飼育すると卵成熟が誘起されるという報告があるので (Eitel et al., 2011)、これも試した。さらに、他の動物で卵成熟促進をする試薬や、放卵誘起をする試薬、温度・明暗刺激といった手法は海外の平板動物では効果がないとされているが、日本産の平板動物からは未報告であったので、確認した。繁殖期にはより多くの個体を採集し、有性生殖行動の観察を試みた。受精卵や発生中の胚が発見された場合、成体になるまでの飼育も試行した。また、卵、胚を固定し、これらの固定サンプルに対して各種染色法、組織切片などの手法を用いて平板動物の個体発生過程を解析した。

4. 研究成果

(1) 筑波大学下田臨海実験センターにおいて定期的に平板動物を採集し、一匹一匹を実体顕微鏡下で観察し、卵や胚の有無やその個数を確認することで、下田に生息する平板動物の繁殖時期が推定できた。平板動物の繁殖時期の報告は世界初である。

(2) これまで報告のあった卵や卵割期の胚、及びこれまで報告の無かった発生段階の観察に成功した。また、これらの固定サンプルも作製し、現在も解析を続けている。

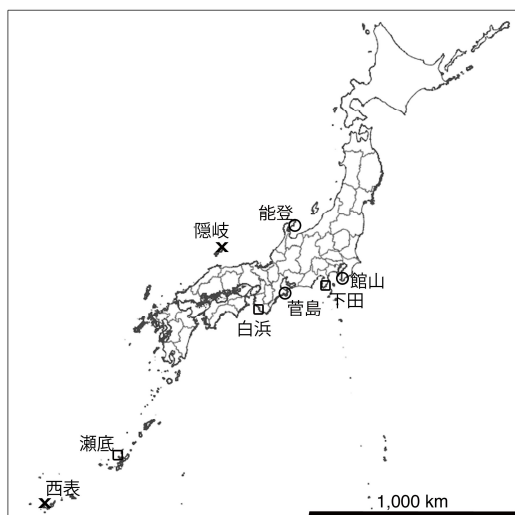
(3)繁殖時期に採集した個体を実験室内で飼育し、飼育下で卵が成熟してくるかの確認も行った。この過程で、下田産平板動物の安定した実験室内飼育系を確立し、採集後1年以上に渡る飼育にも成功している。

(4)発生学も含め、実験動物として有用な系統を確立するために、下田で採集した1匹由来の実験室飼育も進めており、現在ではその1匹が分裂を重ねることで、数百匹に増殖している。

(5)平板動物の生殖関連遺伝子や、飼育系統確立に有用と考えられる遺伝子の単離を行い、その発現に関しても予備的な結果が得られている。

(6)下田臨海実験センターで採集した個体の分子系統解析を行ったところ、下田近海には複数グループが生息していることが明らかになった。その中には日本初報告となるグループも含まれている。現在は、異なったグループを同時に飼育することで、有性生殖の誘起を試行している。

(7)日本各地で平板動物の採集を行い、調査を行った全6箇所での採集に成功した。下田、白浜の2カ所からは冬期にも採集に成功しており、一年中日本各地に平板動物が生息していることが示唆された。また、熱帯から亜熱帯性と考えられてきた平板動物が、北太平洋をはじめ世界中の温帯や亜寒帯の海域にもいることが推測され、これらの集団を研究



することで、発生過程など未だに多く残る平板動物の謎の解明が進むことが期待される。図1：日本での平板動物の分布。本研究で明らかになった3カ所：（能登、館山、菅島）。以前報告があり、本研究でも採集に成功した3カ所：（下田、白浜、瀬底）。以前報告があるが、本研究では調査を行っていない2カ所：X（隠岐、西表）。

(8)日本各地で採集した平板動物でも分子系統解析を行い、日本に生息するグループに関して、その分布パターンを明らかにした。

引用文献

- Sudzuki, Proc. Jap. Soc. Syst. Zool. 13: 1-3 (1977)
Maruyama, Biological Bulletin 206: 55-60 (2004)
Signorovitch et al., PNAS 102: 15518-15522 (2005)
Srivastava et al., Nature 454: 955-960 (2008)
Eitel & Schierwater, Molecular Ecology 19: 2315-2327 (2010)
Guidi et al., Journal of Morphology 272: 371-378 (2011)
Eitel et al., PLoS One 6: e19639 (2011)

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1件)

Hiroaki Nakano, Survey of the Japanese Coast Reveals Abundant Placozoan Populations in the Northern Pacific Ocean, Scientific Reports, 4: 5356 (2014) 査読有、DOI: 10.1038/srep05356

〔学会発表〕(計7件)

Hiroaki Nakano, Strange and simple placozoans- 'biologically immortal' animals? Tsukuba Global Science Week 2014, 2014年9月29日、筑波大学（茨城県・つくば市）

埴宗・中野裕昭、平板動物における糖鎖分解酵素の探索、日本動物学会第85回大会、2014年9月13日、東北大学（宮城県・仙台市）

中野裕昭、平板動物-神経細胞も筋肉細胞もない自由生活性の動物、日本動物学会第85回大会、2014年9月12日、東北大学（宮城県・仙台市）

中野裕昭、日本産平板動物の実験系の確立に向けて、全国国立大学臨海臨湖実験所所長会議ミニシンポジウム、2014年6月5日、岡山大学理学部附属牛窓臨海実験所（岡山県・瀬戸内市）

中野裕昭、海産無脊椎動物幼生の進化と起源、日本動物学会第84回大会、2013年9月26日、岡山大学（岡山県・岡山市）

中野 裕昭、日本産平板動物の研究、第31回瀬戸海洋生物学セミナー、2012年12月19日、京都大学瀬戸臨海実験所(和歌山県・白浜町)

中野 裕昭、日本産平板動物の発生、多様性の解明、第19回臨海臨湖若手の会、2012年9月16日、名古屋大学大学院理学研究科附属菅島臨海実験所(三重県・鳥羽市)

〔その他〕

一般向け講演会

中野 裕昭、無神経な平板動物～珍しい原始的な動物、第3回筑波大学下田臨海実験センター一般公開講演会、2012年11月10日、筑波大学下田臨海実験センター(静岡県・下田市)

ホームページ

<https://sites.google.com/site/hiroakinaKANOLAB/home>

http://www.shimoda.tsukuba.ac.jp/~jambio/dl_files/1412newsletter.pdf

http://scienceportal.jst.go.jp/news/newflash_review/newsflash/2014/07/20140709_03.html

<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201406191800.html>

http://www.shimoda.tsukuba.ac.jp/~jambio/dl_files/1212newsletter.pdf

受賞

2014年6月：平成26年度筑波大学若手教員特別奨励賞

2014年4月：平成26年度 科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞

2013年8月：日本進化学会 研究奨励賞

報道関連情報

朝日新聞朝刊に記事「平板動物、能登半島に冷たい海でも生息の可能性」2014年6月26日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中野 裕昭 (NAKANO, Hiroaki)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：70586403