

令和元年6月20日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2018

課題番号：15K14579

研究課題名(和文) 真核生物のオスとメス、2つの性の起源と進化に関する細胞構造学的研究

研究課題名(英文) Cell biological study on the origin of male and female sex in eukaryotes

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

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)：多くの真核生物にみられるオスとメス、2つの性の起源と進化を解明するために、緑藻植物で発見された配偶子の細胞融合部位の性特異的な細胞内配置に注目して、その分子メカニズム、生態学的な意義などについて解析した。分子メカニズムについては、緑藻クラミドモナスの変異体をスクリーニングすることによる解析を試みたが目的とする変異体を発見することはできなかった。生態学的な意義については、海産緑藻フトジュズモなど動接合子と遊走子について微細構造、鞭毛運動、眼点の面積などについて解析した結果、細胞融合部位の性特異的な細胞内配置が偶然の産物ではなく生育環境への適応の結果進化してきたことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの真核生物と同じ様にヒトもオスとメス、2つの性を持ち、それが社会の基盤になっている。しかしながら、ヒトも含めたオスとメス、2つの性の起源と進化については不明な点が多い。本研究で明らかになった2つの性を区別する配偶子の細胞学的特徴とその生態学的な意義は、2つの性と起源についての手がかりを与える意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate the origin and evolution of two sexes, male and female, which is found in many eukaryotes, we focused on the sex-specific arrangement of the cell fusion site of the gamete in chlorophyte algae and analyzed its molecular mechanism and ecological significance. As for the molecular mechanism, we tried to isolate mutants of green alga *Chlamydomonas*, but it was not possible to find a target mutant. Regarding ecological significance, as a result of the observations of the fine structure, flagellar movement, eye size of planozygotes and zoospores of marine green alga *Chaetomorpha*, it is suggested that sex-specific arrangement of the cell fusion site has evolved as a result of adaptation to the environment of the habitat.

研究分野：細胞生物学

キーワード：性 進化 配偶子 緑色植物 細胞構造

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多くの真核生物にみられるオスとメス、2つの性は、雌雄の区別がつかない同形配偶から雌雄の違いが明確な異形配偶を経て確立したと考えられているが、その詳細については不明な点が多い。もしも、雌雄の確立に重要な段階である同形配偶子と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特徴**」が見つければ、その特徴の起源やメカニズムを解析することで、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。

そのような特徴として一般的なものは性決定遺伝子である。緑藻植物では緑藻綱のクラミドモナス(*Chlamydomonas reinhardtii*) (同形配偶)や *Volvox carteri* (異形配偶)などで性決定遺伝子 *MID* が知られており、*MID*の有無によって同形配偶子の2つの性と異形配偶子の雌雄の対応がつけられる^{1),2)}。しかしながら、性決定遺伝子は異なる分類群間で必ずしも同じではない。これに対して、申請者らは、緑藻植物の配偶子の細胞融合部位(接合装置:原形質膜が特殊化した構造)に注目し、その空間配置が同形、異形配偶に関わらず2つの性で異なることを明らかにしてきた。例えばクラミドモナスの場合、交配型プラス配偶子の接合装置は、鞭毛装置(鞭毛とその基部にある基底小体とその付属構造から構成される)を基準として、光受容装置である眼点と反対側にあり、マイナス配偶子では同じ側にある。その結果、配偶子の細胞の大きさの違いにかかわらず細胞融合部位の配置によって配偶子の「性」は2つに分けられることになる。また、この現象の生物学的な意義としては、動接合子において2つの眼点が同じ面に並び、生理的に同じ性質を持つ鞭毛も同じ方向を向き正常な走光性反応を保證することであるとえられる。このような細胞構造レベルの特徴は、多くの緑藻植物に共通しているが、緑藻植物以外では知られていない。しかしながら、眼点と鞭毛をもつ配偶子と動接合子が真核生物の様々な系統に存在することから、緑藻植物以外でも同様の現象が観察される可能性が高いと予想される。もしもこの現象が真核生物に一般的ならば、2つの性の起源に関わるこれまでに知られていない細胞レベルの特徴になるとえられる。

2. 研究の目的

配偶子の細胞融合部位の性特異的な空間配置は、真核生物において2つの性を区別する普遍的な特徴の候補となり得ると考えられるがいくつかの問題点がある。すなわち、この現象の分子メカニズムが不明な点、野外での生態学的な意義が解明されていない点、緑藻植物以外でもこの現象が認められるか不明な点である。そこで、本研究では、これらの問題を解決することを目的として実験を行なった。

3. 研究の方法

接合装置の性特異的な空間配置の分子メカニズムを解明するために、クラミドモナスのプラス株にハイグロマイシン耐性遺伝子を組み込んだベクターを用いて挿入突然変異体を作成し、野生株マイナス配偶子と混合し、細胞融合方向の以上株を光学顕微鏡で探索するか、プラス配偶子の受精管を抗アクチン抗体で染色後に蛍光顕微鏡で観察することでスクリーニングを行なった。また、この現象の生態学的な意義を明らかにするためには潮間帯に生育する海産緑藻(フトジュズモなど)を用いて配偶子、動接合子、遊走子の構造を電顕微鏡観察するとともに鞭毛運動の高速ビデオ観察を行った。さらにツボカビ *Allomyces* の雌雄配偶子の融合方向と鞭毛の配置を海産緑藻と同様の方法で観察した。

4. 研究成果

クラミドモナスのプラス配偶子を用いてスクリーニングを行なったが、目的とする接合装置の空間配置に関する突然変異体を発見することができなかった。そこで、スクリーニングと平行して、接合装置の空間配置が2つの性で異なることの生態学的な意義を明らかにすることを試みた。そのためにクラミドモナスの代わりに生育環境が明らかな海産緑藻を用いて動接合子において2つの眼点が細胞の同じ方向に並ぶことが偶然なのか環境への適応なのかを調べた。ただし、海産緑藻の配偶子、動接合子を用いて生育現場の潮間帯で実験することが難しいので、動接合子と同じく走光性によって海底に向かって遊泳、着生する性質をもつことより動接合子と同じ様な環境に適応していると考えられる遊走子と眼点の大きさと鞭毛装置の配置を比較した。最初にアオサ藻綱シオグサ目に所属する海産緑藻フトジュズモ(*Chaetomorpha spiralis*)の同形配偶子における細胞融合部位の空間配置を調べた。その結果、接合装置は観察できなかったが、ほぼ全ての動接合子で配偶子由来の2つの眼点が細胞の同じ面に隣り合って並んでいたことから、他の緑藻植物と同様に細胞融合部位の空間配置は性特異的だとえられる。次に、動接合子と遊走子の鞭毛装置と眼点の配置、大きさを比較した。電界放射型走査電顕および透過電顕観察により、動接合子では、2つの配偶子由来の4本の鞭毛のうち2本の鞭毛がそれぞれペアになり平行に並び、そのうちの一つのペアが眼点方向を向いた。この鞭毛装置と眼点の関係は、すでに明らかになっている4本鞭毛の遊走子の鞭毛装置と眼点の位置関係に類似していた。すなわち、動接合子と遊走子の何でも4本の鞭毛のうち2本が眼点方向を向き、他の2本が反対方向を向いた。次いで鞭毛と眼点の配置だけでなく鞭毛運動パターンも類似しているかどうか確かめるために、動接合子と遊走子の鞭毛運動パターンを高速ビデオで観察した。その結果、動接合子と遊走子のいずれでも、ペアを形成する2本の鞭毛は同調的に運動した。さらに光受容体である眼点の面積(受光面積)についても比較したところ、遊走子では約 $8\mu\text{m}^2$ 、

動接合子では約 $6\mu\text{m}^2$ でいずれも同形配偶子の眼点の倍近い面積であり、暗い海底に向かって遊泳する動接合子と遊走子において光受容体の受光面積が増加している可能性を示唆している。このような動接合子と遊走子の間での鞭毛と眼点の空間配置、眼点の面積と鞭毛運動パターンの類似性は、両者を放出する配偶体と孢子体が同所的に生育し、しかも最終的には動接合子と遊走子とがともに負の走光性によって暗い海底に着生することを考えると、同じような生育環境への適応と考えられる。また、同じような4本鞭毛の動接合子と遊走子の間での鞭毛と眼点の配置、眼点の面積の類似性は、配偶子における細胞融合部位の性特異性が明らかになっているアオサ藻綱アオサ目に所属する海産緑藻ナガアサ(*Ulva arasaki*)でも認められた。従って、動接合子において2つの眼点を並べる仕組みとしての配偶子の細胞融合部位の性特異的な空間配置もまた生育環境への適応の結果、緑藻植物で進化してきたことが示唆される。

配偶子における細胞融合部位の性特異的な空間配置は、緑藻植物において多くのアオサ藻綱の海産緑藻、緑藻綱のクラミドモナス、ブラシノ藻類の *Nephroselmis* などで明らかになっており、おそらく緑藻植物の中では普遍的な性質であることが予想される。もしもこの現象が他の真核生物でも認められるなら、2つの性を区別する普遍的な特徴である可能性が高くなると考えられる。そのために生活環の一時期に遊泳細胞を作るツボカビ *Allomyces* の異形配偶子に注目して観察した。

Allomyces は異形配偶であり、雌雄配偶子は細胞後部から1本の鞭毛を生じる。雌配偶子は、細胞体の片側に Side Body Complex(SBC)という眼点様の構造を持つことが知られている。海産緑藻の場合と同様に動接合子を観察したところ雌雄配偶子は細胞体の側面で融合し2本鞭毛の動接合子を形成した。動接合子において2本の鞭毛は同じ方向を向いて並んだ。雄配偶子はSBCを持たないのではっきりしないが、雌配偶子はSBCの反対側で雄配偶子と融合している傾向を示したが、観察数が少ないためにさらなる観察が必要である。

本研究においてクラミドモナスを使った変異体の解析は予定通り進まなかったが、配偶子における細胞融合部位の性特異的な空間配置の生態学的な意義については、海産緑藻を用いることによって解明への手がかりが見えてきた。*Allomyces* を使った緑藻植物以外での研究も含めてさらに研究を進めることで真核生物における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。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4件)

- (1) [Miyamura, S.](#), Nomura, M., Mitsuhashi, F., Nagumo, T. High-speed video analysis of the flagellar movement of isogametes during fertilization of the marine green macroalga *Chaetomorpha spiralis* (Ulvophyceae, Chlorophyta). *Cytologia* 83: 109-114. 2018. 査読あり
- (2) Yamazaki, T., Ichihara, K., Suzuki, R., Oshima, K., [Miyamura, S.](#), Kuwano, K., Toyoda, A., Suzuki, Y., Sugano, S., Hattori, M., Kawano, S. Genomic structure and evolution of the mating type locus in the green seaweed *Ulva partita*. *Scientific Reports* 7: 11679. 2017. 査読あり、
- (3) [Miyamura, S.](#), Nagumo, T. Sex-specific cell fusion pattern of isogametes in marine green alga, *Acetabularia caliculus* (Ulvophyceae, Chlorophyta). *Cytologia* 81: 215-219. 2016. 査読あり、
- (4) [Miyamura, S.](#), Nagumo, T., Maegawa, M., Hori, T. Rearrangement of the flagellar apparatuses and eyespots of isogametes during the fertilization of the marine green alga, *Monostroma nitidum* (Ulvophyceae, Chlorophyta). *Phycological Research* 63: 284-299. 2015. 査読あり

[学会発表](計 9件)

- (1) [宮村新一](#)、海産緑藻オオハネモの配偶子と動接合子における走光性行動の変化、日本植物学会第82回大会、2018
- (2) 佐藤康太、市原健介、太田修平、山崎誠和、工藤恭子、[宮村新一](#)、平田愛子、河野重行、アオノリ接合初期の細胞動態と葉状体発達過程における雌雄オルガネラの排除と選択、日本藻類学会第42回大会、2018
- (3) 市原健介、山崎誠和、[宮村新一](#)、河野重行、長里千香子、本村泰三、緑藻スジアオノリの雌雄配偶子と無性型二本鞭毛遊走子の微細構造比較、日本藻類学会第42回大会、2018、
- (4) [宮村新一](#)、野村真未、南雲 保、海産緑藻フトジュズモの動接合子、遊走子における眼点と鞭毛の配列と協調的鞭毛運動、日本植物学会第81回大会、2017、
- (5) [宮村新一](#)、南雲 保、海産緑藻フトジュズモの動接合子と遊走子における眼点と鞭毛の配列と同調的鞭毛運動、日本藻類学会第41回大会、2017、
- (6) [宮村新一](#)、南雲 保、河野重行、森 稔幸、海産緑藻オオハネモの雌雄配偶子における細胞融合因子 GCS1 の解析、日本植物学会第80回大会、2016、
- (7) 市原健介、山崎誠和、[宮村新一](#)、平岡雅規、河野重行、アボミクシスはスジアオノリの適応戦略に影響するか?、日本植物学会第80回大会、2016、

- (8) 宮村新一、海産大型緑藻の配偶子、動接合子、遊走子における眼点の大きさと生育場所との関係、日本藻類学会第40回大会、2016、
- (9) 宮村新一、海産緑藻の配偶子、動接合子、遊走子における眼点のサイズ、分布、走光性と生育場所との関係、日本植物学会第79回大会、2015、

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。