

## 山梨県若手研究者奨励事業 研究成果概要書

所属機関

山梨大学

職名・氏名

特任助教・埜 宗継

## 1 研究テーマ

原始的動物”平板動物”の有性生殖機構の解明と胚発生条件の検討

## 2 研究の目的

平板動物は消化器官や神経細胞、筋細胞を持たない直径1mm、厚さ15 $\mu$ mほどの単純な海産無脊椎動物であり、多細胞動物のなかでも初期に分岐した動物の1つである。その単純な見た目に反し、ミトコンドリアゲノム16S rRNA 遺伝子配列に基づいて20種類のハプロタイプ(H0~H19)に分けられているが、それらハプロタイプが動物分類における属や種を反映しているのか不明であり、また形態学的にも分類することが難しい動物である。

平板動物は小型であることに加えて無色透明なために自然界で直接観察された報告はなく、これまでに平板動物の生活環について判明していることは非常に少ない。その生殖様式としては無性生殖(分裂)のみが知られているが、有性生殖に関連する遺伝子がゲノム上に存在することや自然界から採取された個体の中には過密飼育して飢餓状態に曝すと個体内に卵母細胞が発生するものも存在するため特殊な環境下においては有性生殖を行う可能性も示唆されている。また、精子の存在が確認されないにもかかわらず、産卵後に胚発生(ただし、研究室飼育系では128細胞期までの発生で停止することが報告されている)するため、精子以外の遺伝情報を伝達する手段を持っている可能性が考えられる。以上のことから平板動物の有性生殖機構に関して大きなギャップが存在しているが現状である。

多細胞動物の有性生殖は配偶子を介したものや単為生殖等のバリエーションに富むが、本研究は原始的な動物である平板動物がこれまでに多細胞動物から報告のない個体間でのキメラ形成を介して有性生殖を行う可能性について着眼点を持って行われた研究である。原始的動物である平板動物の有性生殖機構を明らかにすることは、多細胞動物の祖先が現在のような精子による遺伝情報伝達方法だけではなく、平板動物のようなキメラ形成を介した生殖様式も採用していた可能性を示唆し、多細胞動物の有性生殖の進化解明の一助になると考えられる。また、本研究から得られた成果は自然界から時折採取される卵母細胞を形成する個体が本研究で示されたようなキメラ形成により卵母細胞形成能を獲得していることを示唆するものであると考えられる。

## 3 研究の方法

本研究で使用した日本産平板動物はハプロタイプ H2(2014年飼育系統)、ハプロタイプ  
留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

H2(2019年飼育系統)、ハプロタイプH17(2018年飼育系統)の3系統である(各系統はこれまで卵母細胞の形成が確認されていないもの)。それぞれの系統間でキメラ形成を誘導した後に1ヶ月前後飼育し、その卵母細胞の形成から産卵および胚発生の過程を観察した。

個体、あるいは卵に含まれる各ハプロタイプ由来遺伝子の検出にはPCRによって増幅されたDNA断片をベクターに組込んだ後、大腸菌へ形質転換して各ハプロタイプ由来遺伝子を検出する方法をとった。

#### 4 研究の成果

本研究では平板動物に物理的な刺激を与え、キメラ形成を誘導すると卵母細胞を形成するキメラ個体を得ることができた。また、キメラ個体にはそれぞれの個体由来の細胞が長期間、少なくとも半年以上安定して維持され、その間に定期的に卵母細胞を形成するようになったことから、キメラ形成を介して卵母細胞形成能を獲得したと考えられる。キメラ形成はハプロタイプH2個体間(2014年飼育系統×2018年飼育系統)およびH2とH17個体間(H2:2014年飼育系統 or H2:2019年飼育系統×H17:2018年飼育系統)のいずれの組み合わせでも観察することができたが、H2とH17個体間の組み合わせのみで卵母細胞形成が観察された。個体から産卵された卵(受精卵)は胚発生を64細胞期まで進行させたが、それ以降の発生は観察することができなかった。また、胚から抽出した遺伝子を解析した結果、ハプロタイプH2およびH17の両方の個体由来の遺伝子が検出されることが明らかとなったため、各個体由来の細胞同士が卵母細胞発生過程で融合している可能性を示唆する結果を得た。

#### 5 今後の展望

本研究により、平板動物の卵母細胞形成条件が個体間におけるキメラ形成であることがはじめて明らかとなった。加えて、同じハプロタイプ間では卵母細胞の形成が誘導されないことから、単純な物理刺激による誘導ではなく分子レベルで互いの細胞を識別し、卵母細胞を形成する機構が備わっていると考えられる。また、平板動物の胚からはハプロタイプH2およびH17の両方の由来の遺伝子が検出されるため、卵母細胞発生の過程で互いの細胞が融合している可能性が示唆される。本研究では、平板動物の有性生殖機構の一端を明らかとすることができたと考えられるが、得られた胚はその発生を64細胞期で停止してしまい、個体発生までに至っていない。したがって、今後はさらに平板動物を採取して様々なハプロタイプ間でキメラ形成を誘導し、それら胚発生の観察や発生条件の検討を行うことで個体発生の全過程を明らかとすることができると考えられる

#### 6 研究成果の発信方法(予定を含む)

平成30年度 日本動物学会 中部支部大会にて本研究成果の発表を行った。また、今年9月に開催される Marine Biotechnology Conference 2019 および International Workshop "At the

#### 留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

roots of bilaterian complexity: insights from early emerging metazoans"にて本研究成果を発表予定である。本年度中に本研究成果を論文として投稿を目指している。

1. ○埴 宗継、小田賢幸「研究室内飼育下における日本産平板動物の観察」、『平成30年度日本動物学会 中部支部大会』、愛知県名古屋市、2018年12月
2. ○Munetsugu Bam and Toshiyuki Oda 「Vitellogenin accumulation in yolk during oogenesis in the simplest free living animal placozoans」, 『Marine Biotechnology Conference 2019』, Shizuoka, September 2019
3. ○BAM, M. and ODA, T. 「DETECTION AND CHARACTERIZATION OF THE MAJOR YOLK PROTEIN VITELLOGENIN FROM OUTSIDE YOLK IN A JAPANESE PLACOZOAN」, 『International Workshop "At the roots of bilaterian complexity: insights from early emerging metazoans"』, Tutzing, September 2019

#### 留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。