



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Analyses of defense morph formation of predator-induced polyphenism in <i>Daphnia pulex</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	檜木, 佑佳
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第11095号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53928
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuka_Naraki_abstract.pdf, 「論文内容の要旨」



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士(理 学) 氏 名 檜 木 佑 佳

学 位 論 文 題 名

Analyses of defense morph formation of predator-induced polyphenism in *Daphnia pulex*.

(捕食者が誘導する表現型可塑性を示すミジンコ (*Daphnia pulex*) の防御形態形成プロセスの解析)

生物は捕食を避けるように進化してきた。多くの動物は遺伝的に固定された形態や行動によって捕食を逃れるしかないが、特定の動物群では捕食者の存在下で、通常の発生プロセスでは発現しない形態や行動の変化が起こり、捕食を回避する。特に、捕食者の存在が刺激となって被食者の発生プロセスが変更され、同一のゲノム情報から異なる表現型が生み出される現象は「捕食者誘導型表現型可塑性 (predator-induced polyphenism)」と呼ばれる。発生過程に生じる変化が進化の原動力となるという考えから、近年爆発的な展開を見せている進化発生学 (evolutionary developmental biology, evo-devo) においては、この捕食者誘導型表現型可塑性が、多様な表現型を生み出す潜在能力を研究するためのモデルのひとつとして大きな注目を集めている。

湖沼に生息する動物プランクトンで一般にミジンコと総称される *Daphnia* 属の多くの種は、頭部の形態を様々に変化させる表現型可塑性を示すことが古くから知られている。かつては「季節型」だと考えられていたこの形態変化が捕食者誘導型の表現型可塑性であることが示されたのは最近になってからである。中でも、ミジンコ (*Daphnia pulex*) が捕食者であるフサカ (*Chaoborus*) の幼生から放出されるカイロモンと呼ばれる化学物質を感受したときにのみ、後頭部にネックティースという小さなトゲを形成し捕食を逃れる現象は、生態学者を中心に良く研究されてきた。過去の研究から、*D. pulex* のネックティース誘導には、胚発生期にカイロモンを受容することが重要で、さらに胚発生が完了した1齢以降もカイロモンにさらされることでネックティースが維持されることがわかっている。しかしながら、カイロモンを感受しネックティース形成が決定される決定的な時期については議論が残っていた。本研究では、このカイロモン感受期を特定することに初めて成功した。また、*D. pulex* は甲殻類で初めてゲノムが解読され、*in situ* hybridization や RNAi 等の分子生物学的な実験手法も確立されてきたことから、防御型

形成に関わる分子メカニズムの解析が始められている。しかし、それらの結果を評価するための基礎となりうる組織学的、形態学的な知見は過去に数例の報告があるのみで非常に乏しいのが現状である。本研究後半では、捕食者誘導型表現型可塑性発現の過程において、形態と遺伝子の間をつなぐ、組織細胞学的知見を得ることを重点に解析を行った。

本論文の CHAPTER1 では、*D. pulex* を捕食誘導型表現型可塑性研究のモデル生物として確立すべく、胚発生から若齢幼体にかけての詳細な発生のタイムコースを定義した。次に、カイロモンが溶け込んでいると想定されているフサカの飼育水を用いて、母体の哺育嚢から取り出した胚および幼体を体外培養して *D. pulex* に防御型形態を誘導する実験系を確立した。また、特定の時期の幼体において通常型と防御型に対するフサカの捕食の成否に顕著な差が見られること明らかにするとともに、それが形成されたネックティースの働きによるものであることを動画解析から明らかにすることができた。

CHAPTER2 では、まず、*D. pulex* を胚発生期から若齢幼体にかけての様々なタイミングでフサカ・カイロモンに間欠的にさらすことで感受時期を探索した。その結果、カイロモンの強い感受期が胚発生の終わりに近いステージ 4 から 1 齢幼体までのごく短い期間にあることを特定した。また、蛍光色素（デキストランテトラメチルローダミン）の取り込み実験により、感受期の *D. pulex* 胚が脱皮に伴ってカイロモンを含む体外の溶液を効率的に吸収するように変化することを推測させる結果が得られた。次に、ネックティース形成時期に、形成部位である後頭部の表皮部分を構成する細胞の分裂頻度を BrdU 取り込み法によって観測すると共に、ネックティースが形成される領域の組織学的観察を行い、防御型の形態が形成される仕組みの組織モデルを提唱した。最後に、分子メカニズム解明への足がかりとして、動物発生過程の主要な遺伝子として知られる Wnt シグナル経路に注目し、予備的実験として防御型誘導系で Gsk-3 β を阻害して Wnt の標的遺伝子の転写活性に影響を及ぼす塩化リチウム処理してみたところ、クレストと呼ばれるネックティース基部の肥厚形成に Wnt シグナル経路が関与する可能性が示唆された。Wnt 遺伝子の発現などの解析はまだ緒についたばかりであるが、*D. pulex* を用いて、遺伝子から形態変化までを一貫して研究できるシステムを構築したことが本研究の大きな成果である。