



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_review.pdf, 「審査の要旨」



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理 学） 氏 名 植 木 佑 佳

	主 査	教 授	枡 内 新
審 査 担 当 者	副 査	教 授	増 田 隆 一
	副 査	准教授	三 浦 徹 （環境科学研究院）

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）

博士学位論文審査等の結果について（報告）

分子生物学の飛躍的な発展に伴い、生物のかたちづくりのプロセスである発生過程の分子メカニズムが次々と明らかになってくるとともに、発生プロセスに生じた変化が遺伝的に固定されることで新規形質が進化するという考え方から、進化学と発生生物学を統合した学問分野である「進化発生生物学（Evo-Devo）」が提唱され、発展しつつある。一方で、動物個体が環境に合わせて発生プロセスを変化させ、同一の遺伝子型から複数の表現型形質を示す「表現型可塑性」という現象がある。一般にミジンコと呼ばれる *Daphnia* 属では、季節によって頭部形態が変化する現象が古くから知られていたが、20 世紀の終わりにそれが捕食者に誘導される表現型可塑性の結果であることが示され、その後 *Daphnia* 属の多くの種が、捕食者の存在下で頭部形態を様々に変化させる表現型可塑性を示すことが報告された。本論文は、近年ゲノム解読が完了したことにより新しい実験モデル生物として注目を浴びている *Daphnia pulex*（和名：ミジンコ）を材料とし、表現型可塑性による発生プロセス調節の実態に迫ることを目的としており、これまでは生態学的な研究が主であったミジンコの表現型可塑性を Evo-Devo 研究のモデルとして、発生生物学的な手法でアプローチしたパイオニア的研究のひとつとなった。

Daphnia pulex は、捕食者であるフサカ（*Chaoborus*）幼生が水中に放出するカイロモンと呼ばれる化学物質を感受した時にのみ、若齢幼体の後頭部に neckteeth（ネックティース）というトゲを作る。カイロモンは異なる種間ではたらく情報物質で、受け取る側にとって有利な作用を及ぼすものの総称である。フサカ・カイロモンはフサカ幼生が *D. pulex*

を食べた時にのみ放出されると考えられているが、どのような物質であるかはまだ特定されておらず、作用機序を知るための研究もまだ少ない。本論文の第1章では、北海道大学構内で採集した *D. pulex* を実験室内で安定的に飼育する条件を設定し、単為生殖する *D. pulex* のクローン集団を殖やすとともに、胚発生から若齢幼体までの発生の詳細な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る、*D. pulex* を餌として与えたフサカの飼育水を調整し、母親の哺育嚢から取り出した *D. pulex* 胚を体外培養して neckteeth を誘導する実験系を確立した。この系により、フサカ・カイロモンが効果を発揮するには一定以上の濃度が必要であり、neckteeth は *D. pulex* が2 齢幼体のときにもっとも顕著に形成されることを明らかにした。さらには、特定の体サイズ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を示すとともに、それが neckteeth の形状がフサカの口に合わなくなるためであることを動画解析から明らかにしている。これらの基本情報は、*D. pulex* を表現型可塑性研究のモデル生物として扱う、新たな研究者の参入を容易にする重要な基礎データである。

過去の研究から、*D. pulex* が neckteeth を形成するには、胚発生期にカイロモンを受容することが重要であることまではわかっていたものの、カイロモンを感受し neckteeth 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。第2章では、*D. pulex* の発生初期から2 齢幼体までの様々なタイミング、期間にフサカ・カイロモン処理を行うことで、胚発生の終わりに近い限られた時期にその感受期があることを世界で初めて特定することに成功した。飼育水に蛍光色素を溶かし胚に取り込まれる様子を観察したところ、カイロモン感受期になると急激に飼育水中の物質が体内に取り込まれるようになることが示唆される結果も得られた。続いて、BrdU を用いて neckteeth 形成部位における表皮の細胞分裂頻度を解析するとともに、neckteeth を形成する細胞の組織学的な観察を行い、カイロモンを感受した *D. pulex* において防御型が形づくられる際の組織モデルを提唱した。最近になって、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ものの、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、形態学的な知見は非常に乏しい。本論文の成果は同研究分野にとって大きな貢献となるものである。さらに、分子メカニズム解明への足がかりとして、多くの動物の発生過程における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を行ったところ、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。まだ緒についたばかりであるが、Wnt シグナル関連遺伝子の発現解析も試みている。

このように、著者は *D. pulex* を用いて、遺伝子発現から形態の変化に至るまでのプロセスを一貫して研究できるシステムの構築に成功しており、本論文に示された結果が、今後の Evo-Devo 研究に大きく貢献することが期待される。

よって、著者は北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと審査担当者一同が認めるものである。