



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Morphological dynamics and behavior of mitochondria through the life cycle of the brown alga, <i>Mutimo cylindricus</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	申, 元
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第14337号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81924
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shen_Yuan_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士 (環境科学)

氏 名 申 元

学 位 論 文 題 名

Morphological dynamics and behavior of mitochondria

through the life cycle of the brown alga, *Mutimo cylindricus*

(褐藻ムチモにおける生活環を通したミトコンドリアの形態と挙動に関する研究)

ミトコンドリアはほぼ全ての真核細胞に見られるオルガネラであり、細胞活動に必須のアデノシン三リン酸 (ATP) を産生する働きを有している。ミトコンドリアの起源は約20億年前に α -プロテオバクテリアを真核生物が取り込んだことに起因すると考えられている。そのため、ミトコンドリアは二重膜に囲まれ、独自のDNAを持つという特徴を有する。ヒトのミトコンドリアDNA (mtDNA) の変異やそれに伴う機能異常は、代謝活性の低下をもたらし、様々な疾患につながる事が報告されている。ミトコンドリアの形態は生物種や発生、分化、生理条件によって異なることが多い。ミトコンドリアの形態におけるダイナミクスはミトコンドリアの融合や分裂の繰り返しによって行われている。そのことにより、mtDNAの均一性が保たれ、ミトコンドリアの品質管理が行われていると言える。加えて、オートファジーによるミトコンドリアの選択的分解機構も、機能障害を持つミトコンドリアの積極的な排除に大きな役割を果たしている。多くの生物で、受精時にmtDNAは母性遺伝するが、片親遺伝というシステムも個体内で生じたmtDNAの変異をリセットする大きな機会となり得る。しかしながら、母性遺伝の仕組みについては不明な点が多い。褐藻の有性生殖は、卵と精子による卵生殖の他に、雌性配偶子が雄性配偶子より大きい異形配偶子接合、雌雄配偶子の大きさが等しい同形配偶子接合の3つの様式が存在している。これまでに卵生殖と同形配偶子接合を行う褐藻では、mtDNAは母性遺伝することが報告されているが、父性mtDNAの消失時期や父性ミトコンドリア構造の最終的な行方に関しては、卵生殖と同形配偶子接合で異なる結果が得られている。本研究では、これまでに報告例のなかった異形配偶子接合を行う褐藻ムチモ (*Mutimo cylindricus*) を用いて、生活環を通したミトコンドリアの形態と挙動を調べることで、褐藻におけるミトコンドリア遺伝の仕組みを明らかにすることを目的とした。

ムチモは配偶体が孢子体よりも大きい異形世代交代を行う。配偶体は雌雄異株であり、配偶子嚢の中に配偶子が形成される。本研究では、まず、ミトコンドリアに加えて独自のDNAを有する葉緑体における遺伝パターンも併せて調べた。mtDNAおよび葉緑体DNA (chlDNA) に多型を持つ雌雄株を用いて交雑実験を行い、受精後20日経過した孢子体を用いて解析を行った。その結果、mtDNAおよびchlDNAは母性遺伝をしていることが明らかとなった。続いて、ミトコンドリアと葉緑体の受精後の挙動を調べるために透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察を行った。受精後2時間の接合子において、ミトコンドリアは細胞質由来の二重膜構造に囲まれ、その中で分解されている様子が観察された。二重膜構造の中で分解を受けるミトコンドリアは、雄性配偶子由来の核、葉緑体、中心小体の近傍に見られた。また、受精後6時間の接合子

に含まれるミトコンドリアの数が受精後2時間の接合子で見られたものより減少しており、その数が雄性配偶子が受精時に持ち込んだミトコンドリアの数に相当することが示された。これらの結果より、受精後2時間の接合子において二重膜構造で囲まれ、オートファジーによって分解されているミトコンドリアは雄性配偶子由来であると結論づけた。一方、雄性配偶子由来葉緑体は、4-、7-細胞期の胞子体でも観察されることがわかったが、それ以降は追跡することはできなかった。受精前の配偶子におけるmtDNAとchlDNAコピー数について調べた結果、雄性配偶子では1個当たりのオルガネラにおけるDNAコピー数が雌性配偶子よりも少ないことが示された。特にmtDNAコピー数は雌雄間で大きな差が見られ、雌性配偶子よりも約86%程度少ないことが明らかになった。ムチモの雄性配偶子由来ミトコンドリア構造の分解が受精後比較的早期に生じる理由として、配偶子形成におけるmtDNAの減少が一つの原因として考えられる。一方で、雄性配偶子由来葉緑体が数細胞期の胞子体でも確認されたことから、ムチモではミトコンドリアと葉緑体では片親遺伝の仕組みが異なることが示唆された。

ムチモの配偶子の中に見られるミトコンドリアは、他の褐藻の遊泳細胞と同様に球状、もしくは楕円形を呈し、クリステの中にはチューブ状で電子密度の高い構造が観察される。褐藻の遊泳細胞に含まれるミトコンドリアの形態は、体細胞に見られるミトコンドリアの形態と異なることが予測されるが、その比較が行われたことはない。また、雌雄配偶子に含まれるミトコンドリアの形態変化についても詳細な観察はほとんどない。そこで、TEMによる連続切片観察画像を用いて、立体再構築像を作成し、そのデータを元に配偶体、配偶子嚢、雌性配偶子、胞子体に含まれるミトコンドリアの体積と形態における複雑さを数値化し解析を行った。その結果、配偶子に含まれるミトコンドリアは、球状に近い形を示していることが明らかになった。しかしながら、配偶子嚢の中であって、鞭毛が形成され、配偶子形成の最終段階にあると思われる細胞のミトコンドリアは、楕円形に加えてダンベル状を示すものもあることがわかった。遊泳直前と直後の配偶子に含まれるミトコンドリアの数、総体積について調べたところ、雄性配偶子では形態変化のみが生じていたが、雌性配偶子では泳ぎ出す直前にミトコンドリアが融合している可能性を強く示唆する結果が得られた。雄性配偶子由来ミトコンドリア消失後の接合子では、雌性配偶子由来ミトコンドリアの体積および複雑さが徐々に増加していく様子を観察することができた。受精から最初の細胞分裂に至るまで、雌性配偶子由来ミトコンドリアの数に大きな違いが見られないことから、雌性配偶子由来ミトコンドリアはほとんど分裂することなく娘細胞へ分配されていることが示された。配偶体、胞子体では、配偶子と異なり、ミトコンドリアの形態は多様であり、基本的にはチューブ状であるが、V、Y字型となるものもあった。そして、液胞が発達するほど、形態に複雑さが生じていた。

本研究では、褐藻ムチモのミトコンドリアの形態変化と挙動について世代を通じて観察を行った。その中で、ミトコンドリアが発生や分化の状況によって異なる形態を示していることが明らかとなった。そして、雌性配偶子では放出直前までミトコンドリア融合が生じていることが示唆された。このことは、雌性配偶子由来mtDNAの不均一性の割合を減少させることにつながると言え、ムチモにおけるミトコンドリアの母性遺伝の仕組みは、雄性配偶子形成と雌性配偶子形成の両方から補償されているものと考えることができた。このような世代を通じたミトコンドリアの形態変化に関する報告は、他の多細胞生物を見ても初めての報告と言える。今後は、褐藻の他の生殖様式におけるミトコンドリアの母性遺伝機構との比較を通して、ミトコンドリア母性遺伝機構の仕組みについてより理解を深めていきたいと考える。