HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Morphological dynamics and behavior of mitochondria through the life cycle of the brown alga, Mutimo cylindricus [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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士（環境科学）　　氏 名 申 元

審査委員　主査　教 授　長里 千香子
副査　教 授　山羽 悦郎
副査　教 授　星野 洋一郎
副査　教 授　小亀 一弘（大学院理学研究院）

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）

海洋沿岸において重要な一次生産者である褐藻の生活史は，基本的には核相の異なる配偶体と胞子体世代がみられ，配偶体と胞子体の間で有性生殖が行われる。褐藻の有性生殖様式は卵と精子による卵生殖，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。これまでの研究で，卵生殖と同形配偶子接合を行う褐藻では，ミトコンドリア DNA (mtDNA) は母性遺伝することが報告されている。このことは多くの生物での報告と共通しているが，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挙動に関しては生物種によって異なることから，ミトコンドリア母性遺伝の仕組みについては不明な点が多い。本研究では，これまで報告例のなかった異形配偶子接合を行う褐藻でのミトコンドリア遺伝様式を明らかにするためにムチモ (*Mutimo cylindricus*) を用いて，mtDNA の遺伝様式，父性ミトコンドリアの消失過程の詳細な観察，雌雄配偶子形成におけるミトコンドリアの形態と mtDNA コピー数の変化などを中心に研究が行われた。

本研究では，mtDNA に種内多型を持つ雌雄の組み合わせを利用して交雑実験を行なっている。その結果，受精から 20 日後の胞子体では雌性配偶子由来の mtDNA のみ検出されたことからミトコンドリアは母性遺伝することが示された。続いて，父性ミトコンドリアの受精後の挙動を調べるために透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察を行った結果，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，オートファジーによって分解されている過程が詳細に観察された。配偶子に含まれるミトコンドリア 1 個あたりの DNA コピー数を雌雄配偶子間で比較したところ，ミトコンドリアのサイズに差は見られないにも関わらず，雄性配偶子の mtDNA は雌性配偶子のものと比較して 14%程度しか存在していないことが明らかになった。本研究では，葉緑体 DNA (chlDNA) の遺伝様式と雌雄配偶子に含まれるコピー数も調べている。その結果，chlDNA は母性遺伝することが明らかにされたが，雄性配偶子由来の葉緑体は受精後の 4 細胞でも観察されていたこと，配偶子に含まれる葉緑体 1 個あたりの chlDNA コピー数に顕著な差が雌雄配偶子間で見られなかったことから，ミトコンドリアとは異なる機構で父性 chlDNA の消失が生じ

ていることが示唆された。受精前に雄性配偶子の mtDNA コピー数が減少していることが示されたのは，褐藻では本研究が初めてである。本研究では，さらに TEM による連続切片観察画像を用いて，立体像を作成し，そのデータをもとに配偶体，配偶子嚢，雌雄配偶子，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，配偶子嚢の中にあって，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，楕円形に加えて棒状を示すものもあることがわかった。放出直前と直後の配偶子に含まれるミトコンドリアの数と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。配偶体，胞子体では，配偶子の場合と異なり，ミトコンドリアの形態は多様であり，基本的には棒状，盤状を示し，液胞が発達するに従い，形態に複雑さが見られることが明らかとなった。

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生活環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。さらに，配偶子形成の最終段階でミトコンドリアの挙動が雌雄間で異なっていることが示された。このことは，ムチモにおけるミトコンドリアの母性遺伝の仕組みと関係しているのではないかと考察している。生活環を通じたミトコンドリアの形態変化に関する報告は，他の多細胞生物を含めて初めての報告と言える。本研究は，ミトコンドリア母性遺伝機構の仕組についての新たな科学的知見が加えられており，褐藻の有性生殖のみならず他生物群での細胞質遺伝機構を理解する上でも重要な研究成果であると言える。

審査委員一同は，これらの成果を高く評価し，また研究者として誠実かつ熱心であり，大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ，申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。