

プラナリアの生殖様式制御
に関する研究

2012 年度

野殿 英恵

主 論 文 要 旨

報告番号	㊦ 乙 第	号	氏 名	野殿 英恵
主 論 文 題 目 :				
プラナリアの生殖様式制御に関する研究				
(内容の要旨)				
<p>季節や生活環などに応じて無性生殖・有性生殖を転換する生物が広く生物界に存在する。生殖様式転換は両者の利点を状況に応じてともに活かす戦略と考えられている。生殖様式制御は生物の存続、多様性を支える根本原理だが、後生動物でその機構は不明である。本研究では生殖様式規定について調べることを目指した。</p> <p>第1章では、生殖様式制御に関する知見をまとめ、この背景に基づき本研究課題設定に至った概念について述べた。淡水棲プラナリアでは同種内に生殖戦略の異なる3集団(先天的無性 asexual; AS、先天的有性 innate sexual; InS、無性と有性の季節転換)が共存する。さらにAS個体に有性個体を投餌することで人為的有性化(acquired sexual; AqS)個体を得られる。InSは生まれながらに自律的に有性化因子の産生を開始するが、AqSは外因性の刺激により有性化するため、AqSがInS様の「有性状態を自発的に開始する能力」を獲得したか否かは不明であった。InSとAqSの比較により、これまでよくわかっていない生殖様式制御機構に新たな知見を与えることが期待された。</p> <p>そこで第2章では、まず自発的な有性状態開始能力を調べる方法として小片再生実験を考案し、両者を比較した結果、AqSは有性化刺激が無い状態では自発的に有性化を開始する能力は獲得していないと結論付けられ、有性状態の規定に2ステップモデルを提案した。また生殖様式規定の差異がneoblast自体にあると予想されたため、第3章以降でneoblast移植により検討した。第3章ではX線照射したrecipient個体にneoblast画分を移植し、そのレスキュー効果を評価した。さらにマイクロサテライトマーカーやゲノム倍数性を用いて移植細胞の生着・増殖を確認し、個体内でのdonor由来細胞の割合を定量する実験系を構築した。その結果、移植細胞が個体内で増殖し、最終的に致死線量X線照射個体への移植では全身がdonor由来細胞に置換すること、また非致死線量照射の場合はdonorとrecipientの両由来の細胞が安定して共存するキメラとなることを示した。第4章では致死線量を照射したAS recipientに対して、InSおよびAqSのneoblast画分を移植し、neoblastの有性生殖開始能を評価した。InS由来neoblastの移植でのみ有性個体となり、neoblastレベルで生殖様式規定がなされていることが明らかになった。またAqS由来neoblastの移植では有性にならなかったことから、人為的有性化で細胞レベルの先天的生殖様式規定は変化していないとわかった。第5章ではASとInSのキメラ個体を作製した結果、キメラ個体もほぼ全てが有性個体となり、AS由来細胞存在下でもInS由来neoblastは有性状態を開始できることが明らかとなった。さらにキメラ個体では卵巣が肥大し、過剰数形成された。これはInSでは見られず、内因性の有性化因子に対する卵巣形態制御の応答性がInSとASでは異なることが示唆された。</p> <p>第6章では以上の研究を総括し、プラナリアの生殖様式制御について細胞レベルおよび個体レベルから論じた。</p>				

SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School Fundamental Science and Technology	Student Identification Number 80845146	SURNAME, First name NODONO, Hanae
Title Study on the mechanisms underlying the switching of reproductive strategies in planarian		
Abstract <p> Most species switch their reproductive mode from asexual to sexual, and vice-versa. The switching is likely an effective strategy to achieve both advantages in response to varying circumstances. Though the mechanism underlying reproductive strategy regulation is a fundamental principle underpinning the continuation, evolution, and diversity of organisms, it is not understood in metazoans. This study aims to investigate the reproductive mode regulation. </p> <p> In Chapter 1, background knowledge from previous study was summarized. On this basis I described a concept of this research purpose. Planarians are comprised of populations with different reproductive strategies within a species: exclusively innately asexual (AS), exclusively innately sexual (InS), and seasonally switching. Moreover, AS worms can be experimentally sexualized by feeding them with sexual worms; we termed the resulting animals “acquired sexual” (AqS) worms. In contrast, InS worms initiate the sexual state spontaneously. It is unknown whether AqS worms acquire endogenous sexualizing capability like InS worms or not. Comparison between InS and AqS worms are expected to provide important clues to the poorly understood mechanism underlying the reproductive mode regulation. </p> <p> In Chapter 2, we compared endogenous sexualizing activity between InS and AqS worms by small fragment regeneration assay. The result indicated that AqS worms do not acquire the autonomous sexualizing capability. I proposed a 2-step model of sexual state regulation and neoblast-autonomous sexual mode determination. To examine these hypotheses, I performed neoblast transplantation in the following chapters. </p> <p> In Chapter 3, neoblast fractions were transplanted into X-ray-irradiated recipients. The rescue effect was evaluated. Furthermore, I traced donor-derived cells in the transplant by using microsatellite marker and genome ploidy. The temporal changes in the ratio were quantified, revealing that transplanted cells engrafted into lethally irradiated recipient and ultimately replaced all recipient cells. By contrast, transplantation into non-lethally irradiated recipients showed stable chimerism between donor and recipient. </p> <p> In Chapter 4, neoblasts obtained from InS and AqS donors were characterized by transplantation into lethally irradiated AS recipients. The recipients of InS worm neoblasts, but not those of AqS worms, became sexual, clearly showing that there is a neoblast-autonomous determination of reproductive strategy in planarians. The neoblasts from AqS donors did not show autonomous sexualization, showing that experimental sexualization does not change the stem cell level determination of innate reproductive mode. </p> <p> In Chapter 5, chimeric planarians composed of AS- and InS-derived cells were generated. The chimera became sexual, revealing that InS neoblasts can initiate the sexual state even under conditions of coexistence with AS neoblasts. Furthermore, induced ovarian morphology between the chimera and the entirely donor-derived transplant was apparently different, suggesting that responsibility to sexualizing substances differs between InS and AS worms with respect to the regulation of ovary number and size. </p> <p> On the basis of these findings and other preliminary data, in Chapter 6 I discussed the planarian reproductive mode regulation in both stem cell and individual level. </p>		