

ヒトデはどうやって成体への第一歩を踏み出すのか-成体原基形成開始機構の解明-

齋藤 翠 (筑波大学 生物学類)

指導教員：和田 洋 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

多くの海産無脊椎動物はプランクトン型の幼生から変態を経て底生の成体となる。変態において、幼生から成体へ姿かたちを極端に変化させるものはしばしばみられる。棘皮動物のウニやヒトデにおいては変態の前にすでに成体の一部分となる成体原基を体内に形成する。採餌型のヒトデ幼生において成体原基形成には採餌が必要である。摂食を開始した幼生は胃周りに間充織細胞を集合させ、1週間ほどで成体原基の一部である骨片を最初に形成し、骨片は胃の周りを囲うように大きくなっていく。この成体原基を形成し始めるというタイミングはどのように決定されており、どのようなメカニズムで進んでいくかは不明である。

形成し始めるタイミングを決定する確実な要因として、採餌を行うことが挙げられる。餌を得ることがそのまま成体原基形成を促す役目を果たす、もしくは幼生は餌により体サイズが大きくなり、この体サイズが成体原基形成開始のモニターとなり一定の体サイズを超えることで骨片形成を開始するという2パターンが考えられる。また採餌は、成体原基形成の持続性、すなわち受精卵が外部からの刺激を受け取らずとも発生が進んでいくのと同様に成体原基形成も一度開始されれば変態可能な状態まで進むことができるのかという点にも関わってくる。そのため採餌の有無及び餌の量を調査することは成体原基形成開始のトリガー及びメカニズムを知るために重要である。

本研究では成体原基形成開始に注目し、体サイズ及び餌の量と骨片形成の関係、そして骨片形成に関わる因子の *Alx1* の発現様式の調査を行った。

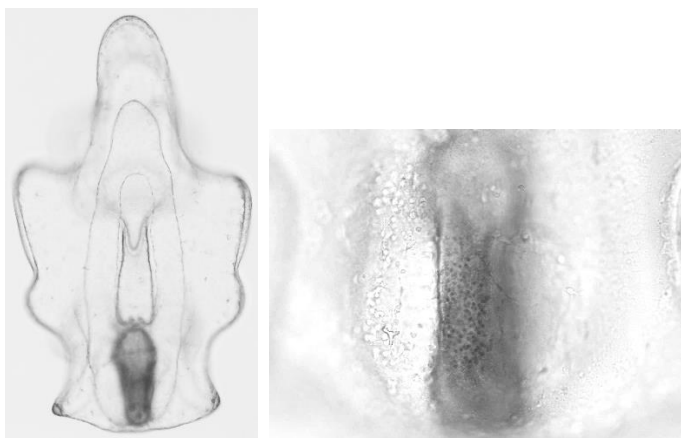


図1 受精後7日目ビピンナリア幼生

【材料・方法】

イトマキヒトデ *Asterina pectinifera* を人工授精させて幼生を得た。餌は幼生が開口する受精後48hから与え始めた。以後餌を与え続けたものを control 胚とした。

体サイズと骨片形成の関係を調べるため、半胚の幼生を以下の方法で得た。受精後、受精膜をパスツールピペットで取り除き、受精卵を馬血清コートシャーレ ASW に移した。受精卵が2細胞期

に達した時ピペッティングにより細胞を分離させ、半胚を得た。control 胚と同様に餌を48hから与え始めた。得られた半胚は体腔、体サイズ、骨片形成に注目して観察を行った。

幼生の採餌期間と骨片形成の関係を調べるために、幼生の採餌開始から24h、48h、72hで餌やりを打ち止めた幼生、餌を一切与えなかった餌ナシ幼生、及びcontrol胚で形態の観察を行った。またそれぞれの胚において骨形成に関わる細胞マーカーである *Alx1* の発現を *in situ* ハイブリダイゼーションによって観察した。

【結果・考察】

半胚

半胚において骨片形成が観察された最小サイズは495.65 μm であり、受精後6dに骨片が観察されたcontrol胚より2日ほど遅い8日に初めて骨片形成がみられた。そのため骨片形成を行うには最低500 μm 前後の体サイズが最低必要であり、それまで採餌を行い、体サイズを増加しなければならないと考えられる。しかしcontrol胚においては、4dの体腔融合していないビピンナリア幼生の時点で大きさが平均600 μm に達している。そのため骨片形成に必要な体サイズは500 μm 前後であると考えられるがcontrol胚では骨片形成が開始される前にすでにその大きさを超えているため、正常胚において体サイズが成体原基形成開始決定のモニターとして関わっている可能性は低い。

採餌期間24h、48h、72h幼生

餌を与えなかった幼生は骨片を形成することはなかった。しかし成長がほぼ止まった時点における餌ナシの幼生は、controlが骨を形成する形態とほぼ違いがみられなかった。

採餌期間が24hであっても骨片が形成された。できた骨片は小さく、骨片の形成がcontrol胚と同じように進むことは観察されなかった。また形態についてもブラキオラリア幼生まで達することはなく、左右の体腔が融合する程度であった。48h、72hにおいてもcontrol胚に比べ骨は小さかったが、全体の骨の数は餌期間が長くなるにつれ多くなっていた。これらのことから採餌期間が短くとも骨片形成は可能であるが、骨片を形成し続けるには採餌の持続が必要であると考えられる。

in situ ハイブリダイゼーション

結果及び考察は卒業研究発表にて示す。