

## 二枚貝における閉殻筋獲得機構の解明

岡島 優太 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 守野 孔明 (筑波大学 生命環境系)

### 【背景と目的】

軟体動物は多様なボディプランを持つ。そして軟体動物のボディプランの進化には殻の形態と殻を機能的に利用するための筋肉の形態が深く関わっている。二枚貝も二枚の殻と開閉を制御する閉殻筋によって、他の軟体動物や共通祖先とは異なるボディプランを獲得した。これら2つの形質は揃うことで機能的に働く形質であり、このような機能的に強い関わりのある2つの形質が二枚貝の進化の中で独立に獲得されたのか、もしくは進化の中で何らかのつながりがあったのかを探るために、本研究では閉殻筋に着目し、その獲得メカニズムを明らかにすることを目指す。

先行研究では閉殻筋の起源について探るため、二枚貝ムラサキインコガイと軟体動物の共通祖先のボディプランを留めると考えられる腹足類クサイロアオガイでのトロコフォア幼生の筋形成初期での形成過程の観察、比較が行われた(1)。トロコフォア幼生の段階では、二枚貝腹足類ともに前方に出現した筋芽細胞集団が伸長し、幼生牽引筋が形成されていた。二枚貝ではその主要な筋集団の一部が分離して閉殻筋が形成されていた。閉殻筋が分離した原因として、二枚貝で新たに筋付着点が獲得され、そこからの誘導により閉殻筋が分離、形成されるという仮説が立てられた。本研究では仮説検証のため筋集団の分離を促す筋付着点が存在するのか、また存在した場合それがどのような遺伝的改変によって獲得されたのか探る。

### 【方法】

軟体動物での筋付着点を特定するために、筋付着点で発現しその特異化を行う遺伝子の候補として、ショウジョウバエにおいて筋付着点での発現が知られ、細胞接着や筋肉細胞集団の伸長を誘導する機能を持つ遺伝子の転写を促進する転写因子 *egr* (2) を第一候補とした。*egr*、そして筋肉マーカー (*troponin t*) を標的に二枚貝ムラサキインコガイのトロコフォア幼生の各段階で *in situ* hybridization (以下 ISH) を行った。それらの発現パターンを比較することで、*egr* が筋付着点、もしくは筋肉の伸長する先で発現しているのか、トロコフォア幼生の発生段階ごとに検証した。

腹足類クサイロアオガイでの ISH では背側の貝殻腺の端に強い非特異的な染色が見られたため、非特異的な染色を抑える ISH 尿素プロトコル (3) によって観察、検証を行った。

### 【結果・考察】

二枚貝ムラサキインコガイのトロコフォア幼生で筋肉マーカー *troponin t*、筋付着点マーカー候補 *egr* の ISH を行い、発現パターンを比較したところ、先行研究で見られた幼生牽引筋の付着点と推測される面盤、原殻の付近の表皮の一部、前方閉殻筋の位置に対応する表皮での *egr* の発現が見られた (図 1)。受精後 14 時間 (14 hpf) の胚の背側の発現と 16 hpf 以降の背側の発現については、殻領域の大きさとその位置関係から、それぞれ幼生牽引筋と閉殻筋の付着点に対応する別々の発現であると考えられる。以上のように *egr* の発現は幼生牽引筋の付着する面盤、殻、前方閉

殻筋に対応する表皮付近で共通して見られた。

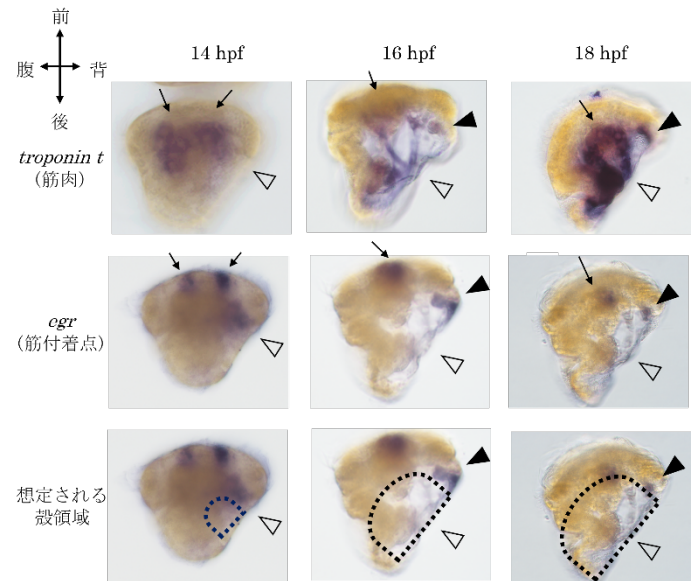


図 1. ムラサキインコガイ幼生での *in situ* hybridization 結果 (矢印: 幼生牽引筋の面盤へ付着点、△: 幼生牽引筋の殻への付着点、▲: 前方閉殻筋とその付着点、点線: 殻領域)

腹足類クサイロアオガイでの ISH 結果、考察については発表会にて説明を行う。

今回の結果より、ムラサキインコガイの 16 hpf 以降に見られる前方の *egr* の発現は閉殻筋に対応する付着点であると示唆される。また *egr* はその発現パターンからムラサキインコガイにおいても、ショウジョウバエでの機能と同様に筋肉の誘導、付着に関わる機能が推測される。*egr* がそのような機能を持つ場合には、*egr* の発現の変化が閉殻筋獲得につながる遺伝的改変の一つである可能性が考えられる。今後はその可能性について検証するために、二枚貝と腹足類での *egr* 発現の比較から、閉殻筋に対応すると思われる *egr* の発現が二枚貝で新たに獲得されたものかを確認する。また *egr* が軟体動物での筋付着点の特異化、筋集団の分離に作用しているのかモルフォリノオリゴを用いた機能阻害により明らかにすることを目指す。

### 【引用文献】

1. Kurita *et al.* (2016) *Biological Journal of the Linnean Society*, **119**, 420-429
2. Gotz *et al.* (1996) *The EMBO Journal*, **15**, 1642-1649
3. Sinigaglia *et al.* (2018) *Developmental Biology*, **434**, 15-23