

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03212

研究課題名(和文) *C. elegans* 姉妹種を用いた小分子RNAによるトランスポゾン制御機構の解明研究課題名(英文) Small RNA pathway analysis on *C. elegans* and the relatives

研究代表者

菊地 泰生 (Kikuchi, Taisei)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：20353659

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：トランスポゾンは生物進化を助長する一方で、トランスポゾン転移はゲノムの損傷の原因となり、生殖不全や致死など、生物にとって有害な影響をもたらす。石垣島で発見された *C. inopinata* のゲノムにはトランスポゾンが特徴的に多く存在する。本研究期間で、発達ステージごとの small RNA 発現解析、野外分離株を用いた *C. inopinata* のゲノム進化解析を行い、*C. inopinata* における small RNA プロファイルを明らかにし、*C. inopinata* 野生株におけるトランスポゾンの動態を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トランスポゾンは生物の進化に役立つ一方で、ゲノムにダメージを与え、生殖障害や死亡を引き起こすリスクがあります。真核生物はこれを防ぐため、Small RNAによるRNAサイレンシングでトランスポゾンを抑制しています。石垣島で発見された *C. elegans* の姉妹種 *C. inopinata* は、体が約2倍大きく、繁殖方法や生態が異なります。研究により、*C. inopinata* のゲノムには多くのトランスポゾンがあり、重要な遺伝子が損傷を受けていることが分かりました。small RNA パスウェイの変化がトランスポゾンの活性化に関与している可能性もあきらかとなりました。

研究成果の概要(英文)：Transposons are essential for biological evolution; however, their transfer can lead to genetic damage, resulting in severe consequences, including infertility and death. The genome of *C. inopinata*, a closely related species of *C. elegans* found on Ishigaki Island, contains a high number of transposons. In this study, we performed a small RNA expression analysis across various developmental stages of *C. inopinata* and *C. elegans*, uncovering a unique small RNA profile in *C. inopinata*. We also performed a genome comparison of wild isolates to shed light on the dynamics of transposons in wild strains of *C. inopinata*.

研究分野：ゲノム生物学

キーワード：ゲノム構造変化 *C. elegans* 姉妹種 トランスポゾン 進化

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

線虫 *C. elegans* は様々な分野でラボモデルとして利用され、これまで多くの重要な医学生物学的発見をもたらしてきた。*C. elegans* は全ゲノム配列、細胞系譜、神経ネットワークが完全に明らかとなっている「最も理解の進んだ動物」であるが、*C. elegans* は数々の重要な発見を導いてきた優秀なモデル生物であるが、唯一の弱点は、姉妹種が未発見で、比較進化学的な解析が制限されていることであった。これまでは系統的に比較的近縁な *C. briggsae* や *C. remanei* といった線虫が *C. elegans* の比較研究モデルとして使われてきたが、*C. elegans* とこれらの線虫は、遺伝的にヒトとネズミほどの隔たりがあり、*C. elegans* で見つかった興味深い生命現象について、十分な進化学的な理解を得ることが難しい状況にあった。我々は、長らく求められてきた *C. elegans* の姉妹種を石垣島のイチジクから発見し、*Caenorhabditis inopinata* と名付けた (Nature Communications, 2018)。 *C. inopinata* は最近縁であるにもかかわらず、*C. elegans* との興味深い違いが幾つも見られた。体長が最大 3mm で *C. elegans* の 2 倍以上大きい、さらに、*C. elegans* が雌雄同体であるのに対し、*C. inopinata* は完全雌雄異体の生殖システムを持っている (上図)。さらに、*C. elegans* の生活スタイルは自由生活性で土壌や腐った果実などで細菌を餌として生育するのに対して、*C. inopinata* は生きたイチジク (オオパイヌビワ) の花囊で生活をし、イチジクと共生関係にあるイチジクコバチをベクターとして使っている (右図)。これらは他の *Caenorhabditis* 属の線虫にも見られない性質で、姉妹種としては驚くべき違いである。高精度なゲノムの解読と比較によって *C. inopinata* ゲノムは *C. elegans* よりも 20% 大きいことが明らかとなった。

2. 研究の目的

トランスポゾン は生物進化を助長する一方で、トランスポゾンの転移はゲノムの損傷の原因となり、生殖不全や致死など、生物にとって有害な影響をもたらす大きなリスクとなる。そのため、真核生物は Small RNA による RNA サイレncing 機構を駆使してトランスポゾンを抑制する。近年、石垣島で発見された *C. elegans* の姉妹種 *C. inopinata* のゲノムにはトランスポゾンが特徴的に多く存在し、いくつかの重要な遺伝子がトランスポゾンにより損傷を受けていることが明らかとなった。さらに、トランスポゾンの活性化の一因として、*C. inopinata* での Small RNA パスウェイの変化が関連している可能性が示唆された。本研究では、*C. elegans*-*C. inopinata* 比較解析系を用い、トランスポゾン転移を制御する small RNA 機構を比較し、*C. inopinata* でのトランスポゾン活性化の要因を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) *C. inopinata* の発達ステージごとの small RNA 発現解析

C. elegans では各発育ステージあるいは雌雄で、異なる small RNA pathway が動いていることが知られている。*C. inopinata* での発育ステージあるいは雌雄での small RNA の動態を明らかにするため、embryo から成虫までの各ステージの small RNA ライブラリーを作製し、トランスクリプトーム解析を行い、ステージ間比較をする。また、*C. elegans* の野生株、*ergo-1* 変異体、*eri-6/7*, *eri-9* 変異体でも同様の解析を行い、*C. inopinata* の結果と比較し、2 種における small RNA 動態の違いを明らかにする。

(2) *C. inopinata* の Argonaute のインタラクトーム解析

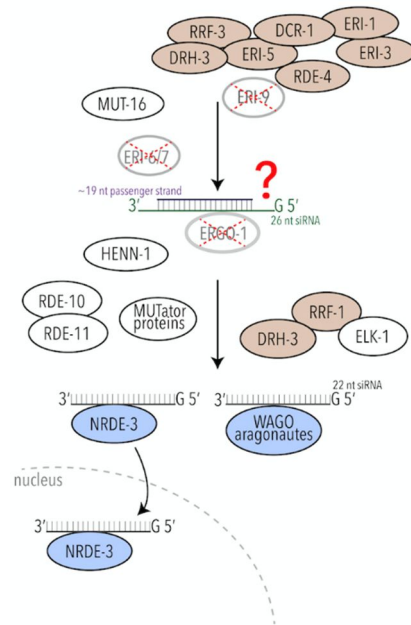
C. inopinata の Argonaute の組換えタンパク質を生成し、タンパク質に対するモノクローナル抗体を作製する。Argonaute を免疫沈降によって精製し結合する small RNA のトランスクリプトーム解析を行う。

(3) 野外分離株を用いた *C. inopinata* のゲノム進化解析

C. elegans の種内ゲノムバリエーションは低いことが判明している。*C. inopinata* の種内バリエーション、トランスポゾンのゲノム進化への影響を明らかにするため、野生分離株のゲノム比較を行う。

4 . 研究成果

(1) *C. inopinata* および *C. elegans* のメス成虫、オス成虫、卵から small RNA ライブラリーを作成し、small RNAseq 解析を行った。各ステージでの small RNAseq リードを種類 (miRNA, siRNA, piRNA, rRNA, tRNA) と長さによって分類し、*C. inopinata* が *C. elegans* と類似した種構成と発現時期をもっているものの、*C. inopinata* には *C. elegans* の Ergo-1 pathway で生成される 26G siRNA がオス成虫で欠失していることを明らかにした。一方で、*C. elegans* にはない種類の siRNA を産出していることが明らかとなり、これが Ergo-1 26G RNA に代わる役割を持っている可能性が示唆された。各 Small RNA(miRNA, siRNA, piRNA)についてターゲットゲノム領域や遺伝子を同定し、*C. inopinata* *C. elegans* 間での比較をおこない、種間の共通性と相違性を明らかにした。



(2) *C. inopinata* と *C. elegans* の Argonaute の比較を行い、*C. inopinata* での欠損と *C. elegans* での重複を明らかにした。このうち *C. inopinata* 特異的な Argonaute タンパク質 2 種類について抗体の作成を行い、インタラクシオンする RNA の解析に用いた。

(3) *C. inopinata* の宿主であるオオパイヌビワは奄美大島以南の南西諸島と台湾に分布している。各島のオオパイヌビワから合計で 80 の野生株 *C. inopinata* を分離した。これらのアイソレイトをリシーケンシングし、*C. inopinata* の種内ゲノムバリエーションの解析を行った。また、研究室で継代維持されている *C. inopinata* 株の半年ごとのゲノム解析も同様に行い、トランスポゾンが現在もアクティブであり、トランスポゾンがゲノム構造変化にどのような影響があるかを解析した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kawahara Kazuma, Inada Taruho, Tanaka Ryusei, Dayi Mehmet, Makino Takashi, Maruyama Shinichiro, Kikuchi Taisei, Sugimoto Asako, Kawata Masakado	4. 巻 15
2. 論文標題 Differentially Expressed Genes Associated with Body Size Changes and Transposable Element Insertions between <i>Caenorhabditis elegans</i> and Its Sister Species, <i>Caenorhabditis inopinata</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Genome Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/gbe/evad063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Tokiwa Toshihiro, Fushimi Momo, Chou Shyun, Yoshida Akemi, Kinoshita Kensei, Hikima Atsushi, Kikuchi Taisei, Ozaki Kiyokazu	4. 巻 20
2. 論文標題 Aberrant sparganosis in cat caused by <i>Spirometra mansoni</i> (Cestoda:Diphyllobothriidae): a case report	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 BMC Veterinary Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12917-024-03995-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sun Simo, Kanzaki Natsumi, Dayi Mehmet, Maeda Yasunobu, Yoshida Akemi, Tanaka Ryusei, Kikuchi Taisei	4. 巻 23
2. 論文標題 The compact genome of <i>Caenorhabditis niphades</i> n. sp., isolated from a wood-boring weevil, <i>Niphades variegatus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-022-09011-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Shinya Ryoji, Sun Simo, Dayi Mehmet, Tsai Isheng Jason, Miyama Atsushi, Chen Anthony Fu, Hasegawa Koichi, Antoshechkin Igor, Kikuchi Taisei, Sternberg Paul W.	4. 巻 13
2. 論文標題 Possible stochastic sex determination in <i>Bursaphelenchus nematodes</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-30173-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Broitman-Maduro Gina, Sun Simo, Kikuchi Taisei, Maduro Morris F.	4. 巻 149
2. 論文標題 The GATA factor ELT-3 specifies endoderm in <i>Caenorhabditis angaria</i> in an ancestral gene network	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.200984	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Suleiman Mona, Kounosu Asuka, Murcott Ben, Dayi Mehmet, Pawluk Rebecca, Yoshida Akemi, Viney Mark, Kikuchi Taisei, Hunt Vicky L.	4. 巻 12
2. 論文標題 piRNA-like small RNAs target transposable elements in a Clade IV parasitic nematode	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-14247-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sun Simo, Kanzaki Natsumi, Dayi Mehmet, Maeda Yasunobu, Yoshida Akemi, Tanaka Ryusei, Kikuchi Taisei	4. 巻 23
2. 論文標題 The compact genome of <i>Caenorhabditis niphades</i> n. sp., isolated from a wood-boring weevil, <i>Niphades variegatus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 XX
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-022-09011-8	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lai Cheng Kuo, Lee Yi Chien, Ke Huei Mien, Lu Min R., Liu Wei An, Lee Hsin Han, Liu Yu Ching, Yoshiga Toyoshi, Kikuchi Taisei, Chen Peichen J., Tsai Isheng Jason	4. 巻 23
2. 論文標題 The Aphelenchoides genomes reveal substantial horizontal gene transfers in the last common ancestor of free living and major plant parasitic nematodes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecular Ecology Resources	6. 最初と最後の頁 905 ~ 919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1755-0998.13752	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Dayi Mehmet, Sun Simo, Maeda Yasunobu, Tanaka Ryusei, Yoshida Akemi, Tsai Isheng Jason, Kikuchi Taisei	4. 巻 9
2. 論文標題 Nearly Complete Genome Assembly of the Pinewood Nematode <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> Strain Ka4C1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 XX
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mra.01002-20	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sun Simo, Shinya Ryoji, Dayi Mehmet, Yoshida Akemi, Sternberg Paul W., Kikuchi Taisei	4. 巻 9
2. 論文標題 Telomere-to-Telomere Genome Assembly of <i>Bursaphelenchus okinawaensis</i> Strain SH1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 XX
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mra.01000-20	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Dayi Mehmet, Kanzaki Natsumi, Sun Simo, Ide Tatsuya, Tanaka Ryusei, Masuya Hayato, Okabe Kimiko, Kajimura Hisashi, Kikuchi Taisei	4. 巻 11
2. 論文標題 Additional description and genome analyses of <i>Caenorhabditis auriculariae</i> representing the basal lineage of genus <i>Caenorhabditis</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 XX
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-85967-z	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	平形 樹生 (Hiragata Mikio) (40844791)	東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・助教 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐藤 薫 (Sato Kaoru) (20548507)	東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・助教 (12601)	
研究分担者	塩見 美喜子 (Shiomi Mikiko) (20322745)	東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・教授 (12601)	削除：2019年8月7日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関