

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06811

研究課題名(和文)線虫の進化に関わる宿主探索機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of host searching behavior related with nematode evolution

研究代表者

田中 龍聖(Tanaka, Ryusei)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：70723550

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、単純な体構造を持ち扱いやすい線虫を用い、その宿主探索「宿主の匂いと振動の受容」の詳細を明らかにすることを目的とした。本研究の結果、宿主の匂いを受容する受容体の候補が絞られ、野外の同所的に生息する複数の線虫種において、宿主の匂いを受容する線虫種の方が、受容しない線虫種より効率よく宿主に運搬されることが明らかとなった。さらに、振動は線虫の全身の体表に存在する受容体により受容され、特に宿主となる節足動物が発する振動域付近の振動に線虫が敏感に反応することが明らかとなった。また、振動受容は宿主探索だけでなく、大型動物の踏み付けからの回避にも役立っていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、線虫において、宿主の匂いを受容する受容体の候補群が得られた。これを基に、最終的な匂い受容体の同定につながる。また、宿主の匂いを受容する線虫種の方が、その他の線虫種より効率よく餌から餌へ運ばれており、この現象が進化の原動力の一つになっている可能性が示唆された。この情報と比較ゲノム等により、進化学の新たな知見が得られると考えている。また、本研究で明らかとなった線虫の振動受容の知見を発展させることにより、寄生性の線虫の防除などへの応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：To understand the nematode's host searching systems, we tried to identify the receptors for the host chemicals and clarify the details of the reactions for the host vibrations. As the results, we identified the candidates of the receptors which detect the host chemicals. Additionally, the nematode which can react the host chemicals was transferred effectively than other nematode species. Nematode detected the vibrations via the receptors which exist the surface of its whole body. Nematode reacted sensitively around the host's vibration ranges. Furthermore, it was suggested that nematode used the information of vibrations not only for the host searching behavior but also for the escape from large animal stamps.

研究分野：線虫学

キーワード：宿主探索 線虫

## 1. 研究開始当初の背景

探索は生命の最も重要な活動のひとつである。探索は、主に餌や異性を見つけるために、能動的に動く大半の生物が行う。探索能力を有していた生物個体が探索能力を失うと子孫を残せない可能性が高まり、逆に、優れた探索能力を持つ個体は多くの子孫を残せる例は多い。したがって、探索能力は生物種の繁栄並びに進化に大きく影響すると考えられている。探索行動の中でも寄生虫などが寄生する相手(宿主)を探し出す宿主探索は、特にその生物の生活史が成立するための重要な行動である。

宿主探索は、種の成り立ちに深く関わり、「寄生虫の防除への知見の利用」のような応用への可能性があるにもかかわらず、材料の扱いにくさや適切な装置やゲノム情報が整備されていないなどの理由で、観察的研究にとどまっており、宿主探索機構をゲノムレベル明らかにし、それが進化に影響したことを実験的に示した例はほとんどない。

宿主探索は、線虫から魚まで多くの生物群で観察できる。しかし、宿主探索機構を調べる場合、高等生物になればなるほど学習などの要因が行動に影響を与え解析が困難になる上に飼育や遺伝子改変など実験動物としての扱いでも手間を要する。そこで本研究では、宿主探索機構とその進化への影響を調べるために、単純な体構造を持ち扱いやすい「線虫」が最適な材料であると考えた。線虫には、「他の生物に付着し養分を得る、寄生性線虫」だけでなく「細菌などを食べ、昆虫等に運ばれる、寄生しない線虫」も存在する。寄生性線虫は、宿主探索をする種は多いものの、遺伝子改変や飼育は困難である。そこで申請者は線虫の中でも扱いやすく宿主探索をする、昆虫便乗線虫に注目した。昆虫便乗線虫は、昆虫からは養分を得ず、昆虫を餌から餌への移動手段としてのみ使う。また昆虫便乗線虫の餌は大腸菌などであるため非常に扱いやすい。したがって、本研究では、昆虫便乗線虫を用いて宿主探索機構およびその進化への影響を調べる。

## 2. 研究の目的

本研究では、線虫の宿主認識機構を明らかにし、それが進化に影響することを実験的に証明することを目的とする。宿主が発する情報は、視覚的なものから触覚的なものまで多岐にわたるが、本研究では特に、宿主の「匂い」と「振動」を線虫がどのように受容し、その受容によりどのように有利になるかを明らかにする。

具体的には、昆虫便乗線虫 *Caenorhabditis japonica* と *C. elegans* を用いて、宿主の匂い物質受容機構および、受容可能な振動域の解明、およびそれらが線虫の便乗行動にどの程度影響するか明らかにする。

## 3. 研究の方法

(匂い情報) 匂いの認識は、GPCR (Gタンパク質共役受容体) と呼ばれるレセプターを介して行われる。ある特定の匂い物質は、ある特定の GPCR を介して認識される。線虫においては、餌の細菌の匂い物質を受容する GPCR は一部で同定されているものの、宿主の匂いを受容する GPCR については全く明らかとなっていない。本研究では、宿主探索に使われる GPCR を同定する。

(振動情報) 線虫において、振動は、線虫の体表にある振動受容体を介して感知されることが明らかとなっている。しかし、線虫がどのような種類(周波数や大きさ)の振動に反応を示すかは明らかになっていない。そこで、本研究では、振動の種類を細かく再現できる実験装置で宿主探索する線虫がどれぐらいの波長と大きさの振動に反応するか明らかにする。さらに宿主昆虫が発生させる振動を測定し、再現し、宿主探索を行う線虫と行わない線虫の反応を比較することによって、振動と宿主探索の関連を明確に示す。

(進化への影響) 化学物質受容および振動受容機構が進化へどう影響するかを、線虫の分散能力と増殖から考察する。

## 4. 研究成果

### ・宿主の匂い受容機構解明

宿主探索行動を示す昆虫便乗線虫 *C. japonica* のリファレンスゲノムの向上と RNAseq 法による「宿主の匂い受容体」の絞り込みを行った。現在公開されている *C. japonica* のリファレンスゲノムの質は、RNAseq 等の解析に十分ではないため、他の研究者とも協力して *C. japonica* のリファレンスゲノムの向上を図った。*C. japonica* の新たなリファレンスゲノム作成のために、野外から新たに線虫を得て研究室で単系統を作出した後、DNA を抽出し、PacBio シーケンスと Nanopore シーケンスで全ゲノムをシーケンスし、ゲノムアセンブリを行った。その結果、コンティグ数が 18817 個から 662 個になるなど、リファレンスゲノムの大幅な改善に成功した。

宿主探索行動を示す線虫 *C. japonica* の宿主の匂いを受容する受容体を同定するため、近縁種の線虫 *C. elegans* との匂い受容体 GPCR の比較を行った。*C. japonica* のゲノム上で GPCR の個数を確認したところ、約 800 個の存在が示唆された。これらの GPCR を塩基配列を元に比較したところ、72 グループの GPCR が *C. japonica* のゲノム中に多く存在することが明らかとなった。これまでの知見から、その生物に特に必要な機能を生ずる遺伝子群は、ゲノム上で数が多く

なる傾向がみられるため、これらの数が多くなっている GPCR 群の中に宿主の匂いを受容する GPCR が存在する可能性が高い。

つぎに、野外において *C. japonica* の宿主探索が餌から餌への移動に寄与しているか調べた。野外において、*C. japonica* の餌となる細菌が豊富な「腐敗した果実」には、近縁種の線虫も多く存在する。また、その果実を餌とする昆虫(カメムシ)が存在し、果実から果実へ移動する。これらの線虫とカメムシは同所的に存在するため、線虫はカメムシに付着して、果実から果実へ移動する。土壌表面の果実は土壌中に住む線虫にとって、アクセスしやすいが、木の上の果実は線虫単独でたどり着くのは困難である。土壌表面の果実、木の上の果実、およびカメムシそれぞれの線虫叢を調べたところ、土壌表面の果実には、様々な線虫種が見られ、*C. japonica* の割合は高くなかったものの、カメムシと木の上の果実では検出された線虫種の大部分を *C. japonica* が占めた。つまり、*C. japonica* は、カメムシの匂い受容等により積極的にカメムシに付着するため、他の線虫種より効率的にカメムシに運ばれていることが示唆された。

#### ・宿主由来振動の受容機構解明

*C. elegans* の野生型および体表のタッチセンサーに欠損のある変異体を、様々な振動に晒し、*C. elegans* がどのような振動に対して反応を示すか、また体のどの部位のタッチセンサーが振動の感知に関与しているか調べた。

*C. elegans* の野生型および体表のタッチセンサーに欠損のある変異体を用いて、様々な振動に晒したところ、野生型は 300-1500Hz 域の振動に対して、反応を見せ、特に 800-1000Hz の振動に対して敏感に反応した。反応の種類(反応時の動き)は、素早く前進するか、後退するかであった。一方、体表のタッチセンサーに欠損のある変異体では、全身のセンサーが欠損しているものでは完全に振動への反応を示さず、頭部のセンサーのみが欠損している変異体では、振動に対して反応はするものの野生型に比べて反応が鈍くなった。これらのことから、*C. elegans* は少なくとも 300-1500Hz の振動を、全身の体表のタッチセンサーを介して受容していることが明らかとなった。

次に宿主生物(小型節足動物)が発生させる振動域について明らかにした。宿主となる小型節足動物が発生させる振動についてレーザードップラ計測器で計測し、解析した。その結果、小型節足動物は移動時に、300Hz から 3000Hz までの幅広い波長の振動を発生させていた。*C. elegans* は全身の体表のタッチセンサーを介して、300-1500Hz 域の振動に対して反応を見せ、特に 800-1000Hz の振動に対して敏感に反応する。この 800-1000Hz の振動域は、小型節足動物が発する振動域の一部である。つまり、*C. elegans* は少なくとも、小型節足動物が発する振動を感知できることが明らかとなった。

さらに、この *C. elegans* の 300-1500Hz の振動域への反応は、宿主探索だけでなく、大型生物からの踏み付けの回避に役立つことが実験的に示された。上記の「節足動物が発生させる振動域の観測」と同様の方法で、ヒト(大型の動物)が地面を踏みつける際に発生する振動域を調べた。そこ結果、ヒトの踏み付けでは、800-1000Hz の振動も発生することが明らかとなった。そこで、砂の中に *C. elegans* を入れ、上部から急激に重りを落とした際(大型動物の踏み付けを再現)に振動を加えたものと加えないものとで生存率を比較し、振動受容が踏み付けからの回避に寄与するか調べた。1000Hz の振動を与えながら重りを落とすと、振動を与えなかった場合に比べて、*C. elegans* の生存率は高かった。つまり、1000Hz の振動を与えることにより、*C. elegans* の運動性が高まり、重りを落とした瞬間に、砂の中でもより圧の低い場所に逃げることができたためであると考えられる。

#### 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

線虫において、宿主の匂い受容が移動に役立つことが実際に示された例はほとんどない。宿主の匂い受容体候補も絞られていない。本研究では、これらの一端を解明したことで、線虫の宿主探索機構の新たな知見となる。また、*C. japonica* の高品質なりファレンスゲノム情報は各種受容体の同定だけでなく、ゲノム情報を利用した他の研究にも広く役に立つ。

線虫における振動受容とその利用は、これまで観察レベルでしか示されてこなかった。本研究は線虫が受容する具体的な振動域を明らかにした。また、線虫の振動受容が大型動物の踏み付けからの回避に役に立つことが示唆されたのもこれまででない知見である。

#### 今後の展望

本研究では、宿主の匂いを受容する受容体の候補を絞ることができたが同定には至らなかった。そこで、今後は、さらに研究を進め、宿主の匂いを受容する受容体を同定する。また、今回得られた線虫の振動受容に関する知見は、*C. elegans* 1 種のみのものである、今後 *C. elegans* 以外の種の線虫(例えば寄生虫)での振動受容を明らかにする。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 2件）

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 -
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 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 Tanaka Suguru E., Dayi Mehmet, Maeda Yasunobu, Tsai Isheng J., Tanaka Ryusei, Bligh Mark, Takeuchi-Kaneko Yuko, Fukuda Kenji, Kanzaki Natsumi, Kikuchi Taisei	4. 巻 9
2. 論文標題 Stage-specific transcriptome of <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> reveals temporal regulation of effector genes and roles of the dauer-like stages in the lifecycle	5. 発行年 2019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/s41598-019-42570-7	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 Mondal Shakhinur Islam, Akter Arzuba, Koga Ryuichi, Hosokawa Takahiro, Dayi Mehmet, Murase Kazunori, Tanaka Ryusei, Shigenobu Shuji, Fukatsu Takema, Kikuchi Taisei	4. 巻 11
2. 論文標題 Reduced Genome of the Gut Symbiotic Bacterium “ <i>Candidatus Benitsuchiphilus tojoi</i> ” Provides Insight Into Its Possible Roles in Ecology and Adaptation of the Host Insect	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	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） 10.3389/fmicb.2020.00840	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Iryu Tomomi, Tanaka Ryusei, Yoshiga Toyoshi	4. 巻 50
2. 論文標題 Mermithid nematodes isolated from the shield bug &lt;i>Parastrachia japonensi&lt;/i>&lt;i>s &lt;/i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nematological Research (Japanese Journal of Nematology)	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3725/jjn.50.1	査読の有無 有
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 -
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 有
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 該当する

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Ryusei Tanaka, Tanzila Afrin and Taisei Kikuchi
2. 発表標題 Relationship of <i>Caenorhabditis inopinata</i> with the wasp and bacteria in the fig ecosystem
3. 学会等名 The Seventh International Congress of Nematology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryusei Tanaka, Akemi Yoshida, Asako Sugimoto and Taisei Kikuchi
2. 発表標題 Reproductive incompatibility among populations of <i>Caenorhabditis inopinata</i>
3. 学会等名 23rd International <i>C. elegans</i> Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 生物音響学会	4. 発行年 2019年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 464
3. 書名 生き物と音の事典	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------