

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：34204

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24770002

研究課題名(和文) 眼形態多様性を生み出す遺伝子発現ネットワークの分子進化

研究課題名(英文) Evolution of gene regulatory network for eye diversification

研究代表者

小倉 淳(Ogura, Atsushi)

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・准教授

研究者番号：60465929

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円、(間接経費) 1,080,000円

研究成果の概要(和文)：動物の眼は脳神経系の末端組織として非常に重要でありながら、形態多様性を保持している。この眼の形態形成ネットワークに関する研究を、無脊椎動物の中で最も発達した脳神経系と眼を持ち、眼の形態形成を研究する上でよいモデルである頭足類を用いて行い、ヒメイカとオウムガイの眼に発現する遺伝子発現ネットワークをRNA-seqにより解析した。まず、レンズがないピンホール眼をもつオウムガイではSix3/6パスウェイが欠落しており、その結果レンズを失ったことがわかった。また、頭足類では眼のマスターコントロール遺伝子であるPax6に脊椎動物と同様な選択的スプライシングが起こっていることを発見した。

研究成果の概要(英文)：Eye is one of the most important organ but they are morphologically divorced among animals. To understand evolutionary process of camera eye in squid and pinhole eye in Nautilus, we have performed comparative transcriptome analysis of developing eyes of squid and Nautilus using next generation sequencer. First, six3/6 that are required for lens formation in vertebrates was not expressed in Nautilus. Many downstream target genes of six3/6 were also not expressed in Nautilus, suggesting that deregulation of the six3/6 pathway led to the pinhole eye evolution in Nautilus. We also found five types of Pax-6 splicing variants but no duplication of the Pax-6 gene in squid. Previous studies have reported that vertebrate eyes are controlled by four Pax-6 splicing variants, whereas eyes are controlled by duplicated Pax-6 genes. Cephalopods acquired Pax-6 splicing variants independent of those in vertebrates and that these variants were similarly utilized in the development of the squid eye.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード：眼 進化 トランスクリプトーム

1. 研究開始当初の背景

動物の形態形成には共通する基本的な遺伝子制御ネットワークが用いられるが、共通性は保ちながら形態多様性は確保されており、多様性を生み出す遺伝子ネットワークの変化についてはほとんどわかっていない。

2. 研究の目的

視覚情報の入力器官として、脳神経系の末端組織として非常に重要でありながら、単眼・複眼・カメラ眼など多様な形態を保持する眼に着目し、眼の形態形成ネットワークの上流転写因子群として知られる Eye Field Transcription Factors およびその下流遺伝子群を手がかりとして様々な形態の眼を持つ軟体動物に置ける多様性決定因子を調べることが目的とした研究を行った。

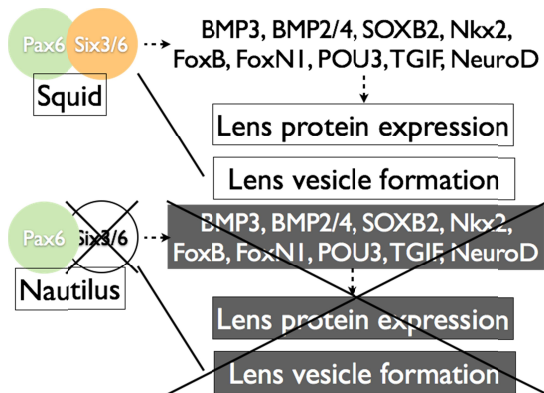
3. 研究の方法

脊椎動物と相同なカメラ眼を持つ軟体動物・頭足類のヒメイカと、同じ軟体動物・頭足類でありながらレンズが存在しないピンホール眼を持つオウムガイにおいて、眼の発生過程に置ける遺伝子発現ネットワーク比較を次世代シーケンサーを用いた比較トランスクリプトームにより解析を行った。

また、ヒメイカの眼の発生過程における遺伝子発現プロファイルを次世代シーケンサーを用いた RNA-seq 解析により行った。

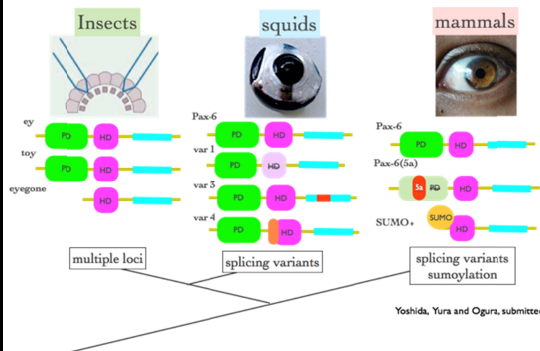
4. 研究成果

オウムガイとヒメイカの遺伝子発現プロファイル比較の結果、オウムガイにおいては、レンズ形成に必須な *Lhx2* 遺伝子およびその下流遺伝子は発現していたものの、*Six3* 遺伝子および *Pax6/Six3* 複合体が発現制御する一連の遺伝子発現ネットワークが失われていることを発見した。この発見の意義として、様々な生物に後半に保存されている最上流の転写因子であっても動物によってはそれを失うことで眼の形態を大きく変え得ることが挙げられる。



ヒメイカの眼の発生過程に置ける RNA-seq の解析により、眼のマスターコントロール遺伝子 *Pax6* が頭足類では選択的スプライシングを受けていることがわかった。in situ

hybridization や QPCR による発現確認の結果、この選択的スプライシングが、組織あるいは時期特異的に発現していることが確認された。また、他の軟体動物では選択的スプライシングが確認されなかったことから、頭足類においてカメラ眼の発生に関して選択的スプライシングを行っていることがわかった。頭足類と同じ前口動物に属するショウジョウバエなどでは選択的スプライシングは行っておらず、カメラ眼を保持する脊椎動物では選択的スプライシングを行っていることから、カメラ眼を持つ生物に置いて、独立に *Pax6* の選択的スプライシングが獲得されたことがわかった。



またこれらの研究に付随する形で、軟体動物の眼に置ける発現遺伝子のデータベース化、脊椎動物を始め他の生物に置ける相同遺伝子の取得、マイクロアレイに関して、異種間で発現プロファイル比較可能なプローブデザイン手法の開発を行い論文発表を行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

Yoshida M., Yamada L., Ochi H., Iwata Y., Tamura-Nakano M., Sawada H., Sauer W.H.H., Ogura A., *Hirohashi N. "Integrative omics analysis reveals differentially distributed proteins in dimorphic euspermatozoa of the squid, *Loligo bleekeri*." 2014, BBRC, accepted

Yoshida M., Yura K., *Ogura A. "Cephalopod eye evolution was modulated by the acquisition of Pax-6 splicing variants", 2014, Scientific Reports, 4:4256

Hall NE., Hanzak J., Allcock AL., Cooke IR., Ogura A., *Strugnell JM. "The complete mitochondrial genome of the pygmy squid, *Idiosepius* (Cephalopoda: Decapodiformes): the first representative from the family *Idiosepiidae*" 2014, Mitochondrial

DNA, 1940-1736
Sousounis K, *Ogura A., *Tsonis PA. " Transcriptome analysis of Nautilus and pygmy squid developing eye provides insights in lens and eye evolution " 2013, PLoS ONE, 8(10):e78054
*Ogura A., Yoshida M., Moritaki T., Okuda Y., Sese J., Shimizu KK., Sousounis K., *Tsonis PA. " Loss of the six3/6 controlling pathways might have resulted in pinhole-eye evolution in Nautilus " 2013, Scientific Reports 3:1432
Asato R., *Yoshida S., Ogura A., Nakama T., Ishikawa K., Nakao S., Sassa Y., Enaida H., Oshima Y., Ikeo K., Gojobori T., Kono T., Ishibashi T. " Comparison of Gene Expression Profile of Epiretinal Membranes Obtained from Eyes with Proliferative Vitreoretinopathy to That of Secondary Epiretinal Membranes " 2013, PLoS ONE 8(1): e54191
Fukuzaki M., Yoshida M., Ogura A., *Sese J. " Systematic Measurement of Mismatch Effect for Designing Inter-Species Microarray " 2012, BIBM 2012, 478-481
Albertin CB, Bonnaud L, Brown CT, Crookes-Goodson WJ, da Fonseca RR, Cristo CD, Dilkes BP, Edsinger-Gonzales E, Freeman RJ, Hanlon RT, Koenig KM, Lindgren AR, Martindale MQ, Minx P, Moroz LL, Nödl MT, Nyholm SV, Ogura A., Pungor JR, Rosenthal JJC, Schwarz EM, Shigeno S, Strugnell JM, Wollesen T, Zhang G, *Ragsdale CW. " Cephalopod Genomics: A Plan of Strategies and Organization " 2012, Stand. Genomic Sci. 7, 175-188

〔学会発表〕(計 7件)

小倉淳 " 比較ゲノム・トランスクリプトーム研究から迫る眼多様化メカニズム " 遺伝研究集会-ゲノム編集時代の分子進化, 国立遺伝学研究所, 2014年6月28日
小倉淳 " 次世代 シーケンス解析に基づく生物の多様性と進化メカニズムの研究 " 北海道大学, 2014年3月31日
Ogura A. " Evolutionary Genomics of Cephalopods ", PAG XXII, Sad Diego (USA), 17 January 2014
Ogura A. " Novel role of PERK-regulated non-coding RNAs in the unfolded protein response revealed by comprehensive gene expression analysis ", Kobe (Japan), The 24th CDB meeting, 13 June 2013

Ogura A. " Comparative Transcriptomics for Eye Diversification of Cephalopod: Evolution of Camera eye and Pinhole eye ", Society for Molecular Biology and Evolution 2012, Ireland (Dublin), 12 June 2012
吉田真明, 小倉淳 " オウムガイおよびイカ胚の比較 RNAseq に見る頭足類カメラ眼の進化メカニズム " NGS 現場の会, 神戸, 2012年5月24日
Ogura A. " Genomes of Cephalopods ", NESCent meeting " Path to Cephalopod Genomics ", Durham (USA), 22 May 2012

〔図書〕(計 2件)

*Ogura A. " Metatranscriptome " Genome Analysis: Current Procedures and Applications, 2014, Horizon press, ISBN: 978-1-908230-29-4,
小倉淳 " 頭足類の比較ゲノムプラットフォームの展望 " 比較生理生化学会誌, 2013, 30(1) 3-10

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
小倉淳 (Atsushi Ogura)
長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・
准教授
研究者番号: 60465929
(2) 研究分担者
()
研究者番号:
(3) 連携研究者

研究者番号： ()