

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2015

課題番号：15K14524

研究課題名(和文) 種間比較ゲノミクスを用いた食餌依存的な発生調節機構の解明

研究課題名(英文) Deciphering distinct dietary responses to nutrient balances governing growth among *Drosophila* species by comparative multi-omics approaches

研究代表者

上村 匡 (UEMURA, TADASHI)

京都大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：80213396

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：成体までの成長に要する時間や寿命などに対して、食餌中の栄養素は各々単独で影響を与えるのではなく互いのバランスが重要である。我々は栄養素のバランスへの適応機構の基盤を解明する目的で、栄養バランスの変化に柔軟に対応できるシステムを備えている種と、備えていない近縁の種を見出し、両者の生体応答の違いをトランスオミックス解析によって比較した。前者は、エサ中のタンパク質と炭水化物の比の変化に応じて、炭水化物代謝経路に属する遺伝子の発現調節を行い、代謝の恒常性を維持できる可能性が指示された。

研究成果の概要(英文)：In nature, developing animals cope with changeable nutritional conditions. To unravel the underlying mechanisms, we are deciphering variable dietary preferences and adaptations among *Drosophila* species by using multi-omics approaches. The species employed in our study are two generalist species and three specialists that feed on specific fruits or flowers. We tested responses of individual species to three isocaloric diets with increasing protein-to-carbohydrate ratios (C diet, M diet, and P diet, respectively). The larvae of the generalists developed normally on all of the diets, whereas specialist larvae failed to develop on the C diet, although they ingested it. Our RNA-seq and metabolomics strongly suggested the possibility that the generalists possess a desilencing mechanism of heterochromatin to achieve metabolic homeostasis and adaptation to carbohydrate-rich diets, whereas the specialists do not.

研究分野：分子発生遺伝

キーワード：遺伝子発現調節 栄養バランス 成長 代謝

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む多細胞生物は絶えず変化する環境要因にさらされており、その主な要因の一つは栄養である。我々が日常摂取している栄養素は、各々単独で個体の成長や健康に影響を与えるのではなく、互いのバランスが重要であると報告されている。

2. 研究の目的

本研究では、絶えず変化する栄養バランスに対して、個体はどのように応答し発生などの生命活動を維持しているかを、ゲノムレベルで解明することを目指す。具体的には、ゲノム情報が整備されたショウジョウバエ近縁種群を活用し、栄養バランス変化に柔軟に対応できるシステムを備えている種と、そうではない近縁の種との間の遺伝子発現や代謝レベルでの生体応答の違いを比較し、適応能力の分子基盤を解明する。

3. 研究の方法

広食性の *D. melanogaster* と狭食性の近縁種の幼虫を複数の食餌下で飼育し、RNA-seq 解析により遺伝子発現を比較する。まずは幼虫全身を試料として、RNA-seq 解析による遺伝子発現比較を行う。さらに、*D. melanogaster* では食餌間で変化的ことが期待される消化酵素などの発現変化を精度よく捉える目的で、腸での遺伝子発現比較も行う。これらの比較解析から、栄養バランスの違いに応答して発現量が変化する遺伝子群(応答遺伝子群)を同定する(図1)。

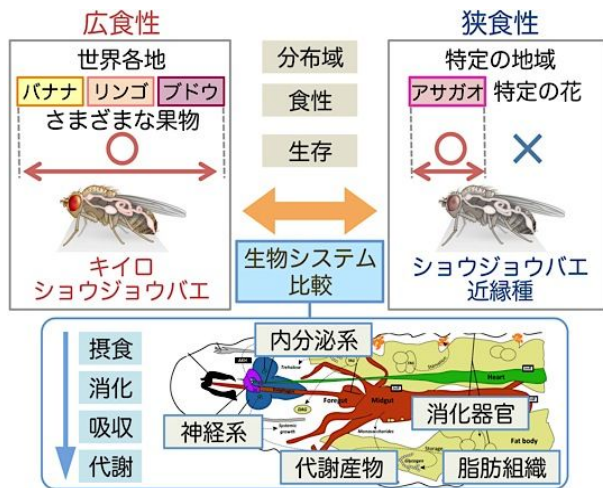


図1 栄養バランスに応答する生体システムの比較解析

広食性の *D. melanogaster* は、狭食性の近縁種に比べて、栄養条件に対して極めて柔軟に対応する能力をもち、分布域も広い。このような能力のちがいを生むメカニズムを、種間を比較することで解明することを目指す。Lemaitre and Miguel-Aliaga, *Annu. Rev. Genet.*, 2013 と Padmanabha and Baker, *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2014 の図を改変。

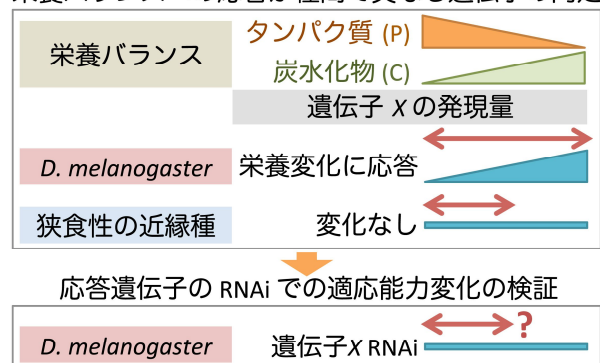
次に、それらの応答遺伝子群が近縁種間でどれほど異なるかを調べる。具体的には、*D. melanogaster* において栄養バランスの変化に応答する遺伝子群に注目し、近縁種でのオルソログ遺伝子の発現量の変化がどの程度かを調べ、適応能力の差を生む遺伝子の候補をあげる。この結果と、各餌条件での代謝産物の分析結果の照合から、適応能力の差を調節する遺伝子の候補を絞り込む。その候補遺伝子の機能解析を *D. melanogaster* で行い、栄養バランス変化に対応する上での役割を検討する。

加えて食餌中の成分解析を行い、どの栄養素が鍵となるかを絞り込む。この検証では、最近開発されたショウジョウバエ飼育のための完全合成培地 (Piper et al., *Nature Methods*, 2014) を使ったアッセイを行う。これらの結果を統合し、食餌に含まれるどの栄養成分の変化が、生体内のどの組織に作用し、また個体の側はどう応答することで、栄養バランス変化への適応能力が生まれるのかを解明する。

4. 研究成果

キイロショウジョウバエを含む広食性2種と、狭食性3種の食餌依存的な応答を、複数のオミックス解析によって比較した。カロリーは同じながら、タンパク質と炭水化物の比が異なる3種類の餌を調製した。これらの種の幼虫を飼育したところ、広食性種は全てのエサで正常に発生できるのに対して、狭食性種は炭水化物の比率が最も高い餌では、食べてはいるものの蛹まで発生できなかった。幼虫全身での RNA-seq 解析により、広食性種のみで、炭水化物含有量が高い餌を摂取すると発現上昇する「広食性応答遺伝子」を同定した(図2)。広食性応答遺伝子は、解糖

栄養バランスへの応答が種間で異なる遺伝子の同定



応答遺伝子の機能と応答制御機構の解析 (図4)

図2 適応能力の差を生む遺伝子候補の探索 *D. melanogaster* では餌条件間で発現変化するが、狭食性の近縁種では変化しない遺伝子に着目する。代謝産物の分析結果と照合し、候補遺伝子を絞り込む。*D. melanogaster* において候補遺伝子のノックダウンを行い、低タンパク質の餌で発生率が低下する遺伝子を探索し、詳細解析へと進める。

系などの炭水化物代謝経路に属する遺伝子が有意に濃縮していた。さらに、広食性応答遺伝子の半数以上は、ヘテロクロマチンに分類される領域に位置していた。そこで、広食性種は炭水化物の比率が高いエサに適應して代謝の恒常性を維持するために、食餌依存的にクロマチン構造を変化させる機構を持つものに対して、狭食性種は持たないのではないかと仮説を立てて検証している。実際、幼虫全身の破碎液を用いたメタボローム解析を行ったところ、狭食性の種でのみ炭水化物の比率が高いエサで増加する、複数の代謝産物を同定した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Shin-ichiro Terada, Daisuke Matsubara, Koun Onodera, Masanori Matsuzaki, *Tadashi Uemura, and *Tadao Usui (*: Corresponding authors). Neuronal Processing of Noxious Thermal Stimuli Mediated by Dendritic Ca²⁺ Influx in *Drosophila* Somatosensory Neurons. *eLife*, 5:e12959 (2016). DOI: 10.7554/eLife.12959

服部佑佳子、上村匡。神経細胞の個性を生み出す転写調節ネットワーク。 **生体の科学** 増大号 65 巻 5 号、特集「生命動態システム科学」(2014)。DOI: 10.11477/mf.2425200045

〔学会発表〕(計15件)

渡辺佳織。ショウジョウバエ近縁種を用いた栄養バランス変化への生体応答の比較解析。ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会、基礎生物学研究所(愛知県岡崎市)、2015年8月18-19日。

高橋優喜。キイロショウジョウバエの発生に必須な「栄養素としての出芽酵母」の遺伝子スクリーニング。ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会、基礎生物学研究所(愛知県岡崎市)、2015年8月18-19日。

服部佑佳子。栄養バランス変化に適應する生体システムの解明に向けて。ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会、基礎生物学研究所(愛知県岡崎市)、2015年8月19日。

Tadashi Uemura. Investigating the molecular basis of distinct adaptations to nutrient balances between generalist and specialist species. 24th European *Drosophila* Research Conference, Heidelberg (Germany) Sep. 10th, 2015.

Yukako Hattori. Investigating the molecular basis of distinct adaptations to

nutrient balances between generalist and specialist species. 24th European *Drosophila* Research Conference, Heidelberg(Germany), Sep. 10th, 2015.

服部 佑佳子。栄養バランスと発生：Generalist と Specialist の比較オミックス解析。ショウジョウバエ多様性研究会、国立遺伝学研究所(静岡県三島市)、2015年9月28日。

渡辺 佳織。ショウジョウバエ近縁種を用いた栄養バランス変化への生体応答の比較解析。第38回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市)、12月3日、2015。

服部 佑佳子。栄養バランス変化に適應する生体システムの解明に向けて。第38回日本分子生物学会年会、ワークショップ「Nutri developmental biology: 栄養に応じた発生調節の分子メカニズムの理解に向けて」、神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市)、2015年12月3日。

Yukako Hattori, Deciphering dietary responses to nutrient balances by comparative multi-omics approaches. 京都大学「発生・細胞生物学・システム生物学コース」、京都大学(京都府京都市)、Dec. 18th, 2015.

服部佑佳子。栄養バランス変化に適應する生体システムの解明に向けて。第3回生態進化発生コロキウム。東京大学(東京都)、2015年12月28日。

上村 匡。栄養バランスの変化に適應して発生する生体システムとは。東京大学分子細胞生物学研究所セミナー、東京大学(東京都)、2016年1月25日。

Kaori Watanabe. Deciphering distinct dietary responses to nutrient balances governing growth among *Drosophila* species by comparative multi-omics approaches. the 14th International Student Seminar, Kyoto, Mar. 10th, 2016.

Yuuki Takahashi. An unbiased interspecies genetic screen for nutritional factor(s) in yeast affecting *Drosophila* larval development. the 14th International Student Seminar, Kyoto, Mar. 10th, 2016.

Tadashi Uemura. The molecular basis of distinct dietary responses to nutrient balances for animal growth between *Drosophila* generalist and specialist species. CDB symposium"Size in

Development: Growth, Shape and Allometry",
Kobe, Mar. 28-30th, 2016.

Yuuki Takahashi. An unbiased interspecies
genetic screen for nutritional factor(s)
in yeast affecting Drosophila larval
development. CDB symposium "Size in
Development: Growth, Shape and Allometry",
Kobe, Mar. 28-30th, 2016.

〔図書〕(計1件)

Dongbo Shi, Masaki Arata, Tadao Usui,
Toshihiko Fujimori and Tadashi Uemura.
Seven-pass transmembrane cadherin CELSRs,
and Fat4 and Dchs1 cadherins: from planar
cell polarity to three-dimensional organ
architecture. In press. In "**The Cadherin
Superfamily**" (Shintaro Suzuki and Shinji
Hirano eds.), Springer Publishing
Company.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

京都大学 大学院生命科学研究科 多細胞
体構築学講座 細胞認識学分野 上村研究
室ホームページ

<http://www.cellpattern.lif.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上村 匡 (UEMURA, Tadashi)

京都大学・大学院生命科学研究科・教授
研究者番号：80213396

(2) 研究分担者

和多田 正義 (WATADA, Masayoshi)

愛媛大学・理工学研究科(理学系)・教授
研究者番号：00210881

(3) 連携研究者

服部 佑佳子 (HATTORI, Yukako)

京都大学・大学院生命科学研究科・助教
研究者番号：50646768