# 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 元 年 6 月 1 8 日現在

機関番号: 13201

研究種目: 挑戦的萌芽研究 研究期間: 2015~2018

課題番号: 15K14583

研究課題名(和文)生殖細胞を介さず次世代へと伝わる菌細胞ゲノムの遺伝学・進化学的解析

研究課題名(英文)Evolutionary genetics of bacteriocyte genome that is not inherited via germ cells

### 研究代表者

土田 努(Tsuchida, Tsutomu)

富山大学・大学院理工学研究部(理学)・准教授

研究者番号:60513398

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文):多細胞生物の体は、単一の生殖細胞に由来する細胞の集合体であると、常識的に考えられている。しかし、我々はタバココナジラミBemisia tabaciを対象とした解析を行い、その必須の共生細菌を収納する細胞である"菌細胞"は、独自の遺伝機構を持ち、他の体組織の細胞とはゲノム組成まで異なっていることを明らかにした。一方、近縁種では、菌細胞ゲノムの遺伝様式は体細胞同様に両性遺伝で説明することが可能であり、母系遺伝の証拠は検出されなかった。タバココナジラミの菌細胞および体細胞のミトコンドリアゲノムは同一であり、タバココナジラミ菌細胞ゲノムの母系遺伝様式は比較的最近に獲得されたものであ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 多細胞生物の体は、単一の生殖細胞に由来する細胞の集合体であると、常識的に考えられている。しかし、我々の研究は、タバココナジラミBemisia tabaciにおいて、必須の共生細菌を収納する細胞である"菌細胞が、独自の遺伝機構を持ち、他の体組織の細胞とはゲノム組成まで異なっていることを明らかにした。これは、従来の多細胞生物の概念を大きく変えうるものである。種数、個体数ともに最大のゲループである昆虫類には、菌細胞を持つものが多く存在し、このような遺伝様式はこれまで着目されてこなかっただけで、多くの生物に共通する機構である可能性もある。

研究成果の概要(英文): Multicellular organisms generally consist of cells derived from a single germ cell. However, we revealed that the bacteriocyte harboring essential symbionts in the sweet potato whitefly Bemisia tabaci shows a unique inheritance, and its genome contents were considerably different from other somatic cells. On the other hand, closely related species does not show the same inheritance mode of the bacteriocyte genome. Mitochondrial genomes of the bacteriocytes and somatic cells in B. tabaci is identical, suggesting relatively recent evolution of the unique inheritance system in B.tabaci bacteriocytes.

研究分野: 共生生物学

キーワード: 内部共生 昆虫共生 菌細胞 ゲノム解析

# 1.研究開始当初の背景

タバココナジラミは、他の吸汁性昆虫同様、栄養素を補償している共生細菌を、"菌細胞"と呼ばれる特殊な細胞の細胞質内にすまわせている。この細菌は宿主の生存に必須であり、母親体内で発生を進める次世代の卵へと連綿と伝えられていく。この伝達に際しては、共生細菌が収納された菌細胞が丸ごと、卵に取り込まれることが、組織学的に観察されている。菌細胞は巨大な核を持つ細胞であるが、この伝達様式では、菌細胞のゲノムは 生殖細胞に由来する他の細胞(以下、体細胞)のゲノムとは、別々に次世代へと伝えられることになる。この仮説を検証するために、我々は少数個体および少数遺伝マーカーを用いた予備実験を行い、タバココナジラミの交配実験を行って、生じた仔が成虫になった際の菌細胞のマイクロサテライト領域を解析した。その結果、体細胞ゲノムは両親から伝達されるのに対し、菌細胞ゲノムは やはり母親からのみ伝達されていることが確認された。さらに、タバココナジラミのマイクロサテライトパターンは、菌細胞と体細胞では明確に異なっていることも示された。このことは、菌細胞が、独自の遺伝機構を持ち、他の体組織の細胞とはゲノム組成まで異なっていることを示唆していた。

#### 2.研究の目的

多細胞生物の体は、単一の生殖細胞に由来する細胞の集合体であると、常識的に考えられている。しかし、我々は先行研究により、タバココナジラミ Bemisia tabaci を対象とした解析を行い、その必須の共生細菌を収納する細胞である"菌細胞"は、独自の遺伝機構を持ち、他の体組織の細胞とはゲノム組成まで異なっていることを明らかにした。本研究課題では、コナジラミ菌細胞の次世代への遺伝様式の詳細な検証や、コナジラミ科昆虫における菌細胞ゲノムの進化、コナジラミ菌細胞ゲノムで独自進化した遺伝子の検出と機能解明を目的とする。本課題の遂行により、従来の多細胞生物の概念が大きく覆る可能性がある。

### 3.研究の方法

マイクロサテライト解析や FISH 解析を行って、菌細胞の遺伝様式を解析した。また、コナジラミ科の別種における菌細胞と体細胞のゲノム組成を比較解析し、コナジラミの系統関係とあわせて、ゲノム進化の過程を明らかにする。さらに、菌細胞ゲノムに、体細胞ゲノムには存在しない独自の遺伝子が存在している可能性を検証した。特異的 PCRを用いた候補遺伝子の解析や、HiSeq2000を用いたゲノム解析を行って、菌細胞で独自進化した遺伝子の検出を試みた。

#### 4.研究成果

タバココナジラミの3つの独立したラインを対象に、最大5世代までにわたって、4種類のマイクロサテライトマーカーを用いた遺伝学的解析を行った。その結果、菌細胞の遺伝型は体細胞とは確かに異なっており、父親由来のゲノムが混じることなく、母親の菌細胞と同一の遺伝型がそのまま伝えられることが明らかになった。蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションによる発生段階ごとの解析からは、体細胞から新たに菌細胞が生じる様子は観察されなかった。これらのことから、菌細胞には独自の遺伝機構が存在していることが示された

一方、タバココナジラミとは 8,000 万年以上前に分岐したと考えられているオンシツコナジラミでは、菌細胞ゲノムの遺伝様式は体細胞同様に寮生遺伝で説明することが可能で

あり、母系遺伝の証拠は検出されなかった。本結果から、菌細胞ゲノムの母系遺伝様式は、 オンシツコナジラミとタバココナジラミが共通祖先から分岐したのちに、タバココナジラ ミ側の系統で比較的最近に獲得されたものであることが示唆された。

タバココナジラミの菌細胞ゲノム、および頭部から抽出した体細胞ゲノムを対象に、複数の候補遺伝子を対象に菌細胞特異的な配列をクローニング法によって検出することを試みた。その結果、リボソーマルタンパク質遺伝子の 5'非翻訳領域に、菌細胞特異的な配列が検出された。そこでおおよそ 1,000 個体の メス個体を材料に摘出した菌細胞および体細胞から、ゲノム DNA を抽出し、Illumina HiSeq 用のシーケンスライブラリを作成した。大部分のゲノム配列については解析中であるが、菌細胞と体細胞のそれぞれから調整したミトコンドリアの全ゲノム配列については完全長が得られた。両者を比較した結果、両者の配列間に相違は全く検出されなかった。この結果は、菌細胞と体細胞ゲノムの分化はそれほど進んでいないことを示唆する。これは、オンシツコナジラミの菌細胞ゲノム伝達様式との比較から得られた「タバココナジラミ菌細胞ゲノムの母系遺伝様式は比較的最近に獲得されたものである」という示唆に合致するものであった。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 0 件)

## [学会発表](計 2 件)

倉田歩・阿部真明・藤原亜希子・<u>土`田努</u>、生殖細胞を介さずに次世代へと伝わる菌細胞ゲ ノム、日本進化学会 第 18 回大会、2016 年

倉田歩・藤原亜希子・<u>土`田努</u>、タバココナジラミにおける菌細胞のユニークな次世代伝達機構、シンポジウム「共生微生物利用の今と未来」、2015 年

[図書](計 0 件)

### 〔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:

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:
国内外の別:
〔その他〕
ホームページ等
6.研究組織
(1)研究分担者
研究分担者氏名:
ローマ字氏名:
所属研究機関名:
部局名:
職名:
研究者番号(8 桁):
(2)研究協力者
研究協力者氏名:
ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。