

令和 2 年 7 月 3 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04722

研究課題名(和文) *C. elegans*最近縁種のゲノム、形態発生、生態解析に基づく比較進化研究研究課題名(英文) Comparative evolutionary study on *C. elegans* and the sister species

研究代表者

菊地 泰生 (Kikuchi, Taisei)

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号：20353659

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：石垣島で発見した線虫(sp.34)は*C. elegans*の最近縁種であるにもかかわらず、*C. elegans*の約2倍の体サイズをもち、*C. elegans*とは全く異なる生殖様式や生態をもつ。これはsp.34がEvoDev、比較生態、比較ゲノム研究などに最適な材料であることを意味し、多くの研究者が長年求めてきた材料である。本研究では、sp.34線虫の新種記載を行い*C. inopinata*と名付けた。また、高品質なリファレンスゲノムを構築して*C. elegans*との比較を行い、本線虫におけるゲノム進化を明らかにした。遺伝学研究ツールを開発し、比較進化学研究プラットフォームを構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

線虫*C. elegans*はその培養や観察の容易さなどから、生物学、医学、薬学研究等で幅広く利用されているモデル生物であり、生物学において重大な数々の発見がなされてきた。この*C. elegans*のモデル生物としての「最大の弱点」は姉妹種が見つかっておらず、比較進化学的視点からの解析が難しいことであった。我々は沖縄県石垣島のイチジク(オオバインビワ)から*C. elegans*の姉妹種を発見し、*C. inopinata*と名付けた。本線虫において我々が構築した高品質なゲノムと遺伝学解析ツールにより、本線虫と*C. elegans*はこれまでにない最高の比較生物学解析プラットフォームとなりうる。

研究成果の概要(英文)：A sister species of the model organism *Caenorhabditis elegans* has long been sought for use in comparative analyses that would enable deep evolutionary. We discovered the first sibling species of *C. elegans*, *C. inopinata*, which was isolated from fig *Syconia* in Okinawa. We investigate the morphology, developmental processes and behaviour of *C. inopinata*, which differ significantly from those of *C. elegans*. We assembled the 123-Mb *C. inopinata* genome into six nuclear chromosomes and revealed unique characteristics, such as highly expanded transposable elements and massive gene losses in chemoreceptor gene families. We have developed genetic and molecular techniques for *C. inopinata*; thus *C. inopinata* provides an exciting new platform for comparative evolutionary studies.

研究分野：ゲノム生物学

キーワード：シーエレガンス モデル生物 姉妹種 ゲノム進化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

線虫 *C. elegans* はその培養や観察の容易さなどから、生物学、医学、薬学研究等で幅広く利用されているモデル生物である。*C. elegans* を用いた研究論文は既に 20000 報以上あり、これまでに RNAi、small RNA、細胞極性、アポトーシスなど、生物学において重大な数々の発見がなされてきた。*C. elegans* は世界で初めて全ゲノムが解読された後生動物でもあり、「コンプリートゲノム」をもつ数少ない真核生物である。そのため、ゲノム科学分野でも頻りに利用されてきた。

C. elegans の「唯一の弱点」は比較進化的視点からの解析が難しいことであった。*C. elegans* における様々

な現象の真の理解には、進化的な視点からの理解が必要であると指摘されてきた (Felix, 2010)。 *C. elegans* の近縁種として *C. briggsae* のゲノムが解読され、比較研究のプラットフォームとして利用されているが (Stein et al., 2003)、この 2 種の分岐は 3000 万 ~ 1 億年前と推定されており、比較進化解析に最適な材料とは言い難い。これを受けて、2007 年の *C. elegans* meeting で *C. elegans* の姉妹種を大々的に手配するアナウンスがなされた (<http://blog.wormbase.org/?s=sister+prize>)。以降、多くの研究者が近縁種の発見に取り組んだが、これまで「姉妹種」と呼べる種は発見されていなかった (上図)。

神埼らは沖縄県石垣島のイチジク (オオパイヌビワ) から線虫を発見し、*Caenorhabditis* の仲間であることを明らかにした (暫定名 *Caenorhabditis* sp.34)。さらに rRNA による系統解析により sp.34 は *C. elegans* の最近縁種であることが明らかになった (上図)。

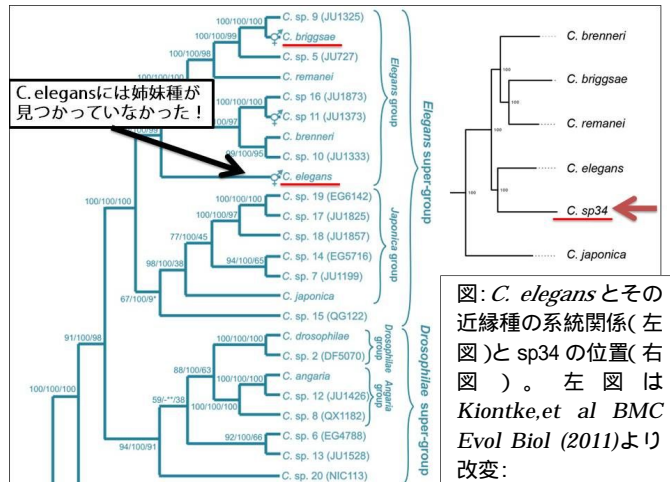


図. *C. elegans* と sp.34 の成虫サイズ

2. 研究の目的

本研究では sp.34 のゲノム解読、発生形態観察、生態観察を通して、*C. elegans* と体系的な比較を行うことで、2 種の進化的な理解を深める。さらに、ゲノムデータ整備、ツール開発や株の収集などによる研究環境整備を行うことで、これまでにない比較進化学研究プラットフォームを構築する。

3. 研究の方法

本研究は以下の方法で行った。

- 1) sp. 34 線虫の詳細な形態観察を行い、新種記載する。
- 2) sp. 34 線虫のゲノム解読を行い、リファレンスゲノムを構築する。
- 3) sp. 34 線虫の遺伝学的解析ツールを開発する。
- 4) sp. 34 線虫の生態観察、細胞生物学的観察を行い特徴的なライフサイクル、生物学的特徴を明らかにする。

- 5) 以上を総合して、*C. elegans* とのシステマティックな比較を行い、*C. elegans*, sp.34 を比較進化学的視点から理解する。

4. 研究成果

- 1) 新種記載のため、形態観察を顕微鏡下で行い、記載に必要な雌雄別の形態数値と画像、イラストの作成を行った。さらに必要な部位については走査電子顕微鏡での撮影を行った。ライフサイクルを確定させるためにラボ内での成長速度、至適温度、オスメス比、耐久型幼虫の出現傾向を観察した。興味深いことに、sp.34 は *C. elegans* の最近縁種であるにもかかわらず、体長が約 2 倍と大きく、(これはこれまで知られている *Caenorhabditis* 属線虫の中で最大である) 生殖様式が異なり、生態が特異的(*C. elegans* は腐食土壌中で見つかるのに対し、sp.34 はイチジク内で一生を過ごし、イチジクコバチによって運ばれる)であることを明らかにした。これらを総合して新種記載を行い、*Caenorhabditis inopinata* と名付けた。
- 2) 培地とバクテリア餌を検討し、最適な培養法を確立した。リファレンスゲノム構築のため DNA を抽出し、2 タイプの次世代シーケンサー (PacBio と Illumina) で DNA リードを獲得した。獲得した DNA リードのアセンブルを行い、配列のエラーコレクションを行って ver.1 版のゲノムアセンブリーを構築した。オプティカルマップを使用し、ver.1 版アセンブルを改良し、染色体と同等にまでアセンブルをまとめリファレンスゲノムとした。遺伝子予測に利用する RNAseq をメス、オス、幼虫から抽出した RNA を用いて取得した。作成したリファレンスゲノムに対し遺伝子予測を行い約 19000 遺伝子モデルを作成し、*C. elegans* と比較を行い、遺伝子ファミリーの進化解析を行い、*C. inopinata* において GPCR が顕著に減少していることを明らかにした。また、ゲノム内のリピート領域を比較したところ *C. inopinata* では *C. elegans* と比較して顕著にトランスポゾンエレメントを保持していることが明らかとなり、これが *C. inopinata* の進化原動力となっていることを示した。
- 3) 遺伝学研究ツールの開発に向けて RNAi のソーキングやフィーディング法の試行を行い、発現部位の異なる遺伝子に対する有効性を検討し、RNAi がツールとして本線虫に有効であることを確認した。トランスジェニックの作成をマイクロインジェクションを用いて行い、*C. elegans* と同程度の効率でトランスジェニックが作成できることを確認した。さらに、*C. elegans* で利用されている抗 *C. elegans* タンパク質抗体を用いて *C. inopinata* の抗体染色を行い、*C. elegans* の多くの抗体セットが *C. inopinata* で利用可能なことをしめした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kanzaki N, Tsai I, Tanaka R, Hunt V., Liu D, Tsuyama K, Maeda Y, Namai S, Kumagai R, Tracey A, Holroyd N, Doyle, Woodruff G, Murase K, Kitazume H, Chai C, Akagi A, Panda O, Ke H, Schroeder F, Wang J, Berriman M, Sternberg P, Sugimoto A, Kikuchi T	4. 巻 9
2. 論文標題 Biology and genome of a newly discovered sibling species of <i>Caenorhabditis elegans</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3216
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-018-05712-5	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

〔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	神崎 菜摘 (Kanzaki Natsumi) (70435585)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・その他部局等・主任 研究員 等 (82105)	
研究分担者	杉本 亜砂子 (Sugimoto Asako) (80281715)	東北大学・生命科学研究科・教授 (11301)	