

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01511

研究課題名(和文)ゲノム構造変化にともなう乾燥無代謝休眠特異的な遺伝子制御ネットワークの全容解明

研究課題名(英文) Gene regulatory networks underlying 3-D conformational change in genome associated with anhydrobiosis

研究代表者

黄川田 隆洋 (Kikawada, Takahiro)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・主席研究員

研究者番号：60414900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ネムリユスリカの乾燥・再水和の過程で生じる“ゲノムの高次構造変化”が、“どのような機能をもつ遺伝子”を“どの順番で作動”させているのかを知ることで、“乾燥耐性をもたらす遺伝子制御ネットワーク”の全容を解明することにあった。成果として、Hi-C解析を利用する事で染色体レベルのネムリユスリカゲノムデータの取得に成功し、乾燥耐性に特異的な遺伝子制御ネットワークの同定ができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、乾燥耐性特異的な遺伝子発現調節ネットワークが解明された。これにより、干からびても死なない生物であるネムリユスリカの乾燥耐性メカニズムの一端を知る事ができた。本研究成果を基盤にネムリユスリカの乾燥耐性機構の研究が進んでいけば、ネムリユスリカのような極限的な乾燥耐性を持たない“普通”の生物の細胞を、蘇生可能な状態で常温乾燥保存出来るようになることが期待される。本研究は、あくまで基盤的な研究であるが、今後の応用展開の礎になると考えている。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to elucidate the full extent of the gene regulatory network that confers desiccation tolerance in the anhydrobiotic midge, *Polypedilum vanderplanki*. For this purpose, we investigated the effects of changes in the three-dimensional structure of the genome during desiccation and rehydration on the regulatory mechanisms of gene expression. As a result, by using Hi-C analysis, we succeeded in obtaining chromosome-level genome data of the anhydrobiotic midge, and identified the gene regulatory network specific to desiccation tolerance.

研究分野：昆虫分子生物学・生化学

キーワード：乾燥耐性 ゲノム構造 遺伝子発現調節 遺伝子ネットワーク

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

生物にとって、水は代謝を動かす溶媒として必須である。細胞から水分が失われていくと代謝は停止し、最終的には死に至る。しかし、一部の生物は、完全に乾燥して代謝が停止しても死に至ることなく、再給水すると代謝が復活する。この現象は乾燥無代謝休眠(Anhydrobiosis)と呼ばれ、昆虫ではアフリカ半乾燥地帯に生息するネムリユスリカの幼虫のみに認められる。いったん乾燥無代謝休眠状態になったネムリユスリカは、半永久的に代謝を停止させることが可能である。しかも、水和させるだけで、約1時間で乾燥無代謝休眠から覚醒し、発育を再開する(図1)。この乾燥過程で、通常の代謝に関与する多くの遺伝子発現は抑制されるのに対し、トレハロース合成酵素やLEAタンパク質、DNA修復酵素、チオレドキシンのなどの特定の遺伝子発現が亢進する^{1,2}が、その制御機構の詳細は不明なままである。

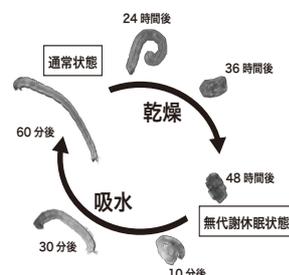


図1 ネムリユスリカの乾燥無代謝休眠

最近の研究で、ゲノムの立体的な構造(高次構造)の変化が遺伝子発現に重要に関与していることが分かってきた。ショウジョウバエのストレス応答に伴う遺伝子発現変動は、ゲノムの高次構造の変化によってもたらされる³。ネムリユスリカは、乾燥過程で細胞収縮し核の形状が大きく変化する⁴ことから、ゲノムの高次構造変化に起因するエピジェネティックな機構が、ダイナミックな乾燥特異的遺伝子発現調節に関与している可能性が考えられる。

ネムリユスリカの乾燥無代謝休眠は、培養細胞でも再現できる。Pv11と命名した胚由来の培養細胞は、最長6ヶ月間もの常温乾燥に耐える能力をもっていた⁵(図2)。Pv11細胞は、遺伝子導入系やノックダウンの実験系も開発済みである⁶上、個体丸ごとを用いる実験と比較して組織特異的な遺伝子発現を考慮する必要が無いため解析結果をシンプルに評価でき、実験の再現性が保証されるメリットがある。したがって、乾燥無代謝休眠という生命現象を研究するツールとして、Pv11細胞は利用可能といえる。

そこで本研究は、Pv11細胞において、乾燥・再水和の過程で生じる”ゲノムの高次構造変化”が、”どのような機能をもつ遺伝子”を”どの順番で作動”させているのかを知ること、”乾燥耐性をもたらす遺伝子制御ネットワーク”の全容を解明する。すなわち、乾燥・再水和過程のPv11細胞のゲノムの高次構造の変化を次世代シーケンス技術により解析し、CAGE解析やtotal RNA-seqにより乾燥・再水和時特異的な遺伝子発現パターンを同定し、CRISPRによる遺伝子機能解析を行う。得られたデータを統合しベイジアンモデルなどを用いて数理科学的に解析することで、確率的に妥当なゲノム構造変化にともなう乾燥無代謝休眠特異的な遺伝子制御ネットワークを解明することを目的とする。

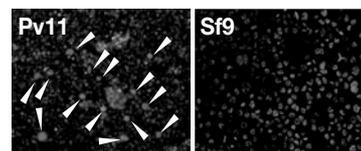


図2 乾燥耐性能力を発揮するネムリユスリカ細胞

乾燥24時間後に吸水させた細胞の状態を示す。Pv11, ネムリユスリカ胚由来細胞; Sf9, ヨトウガ由来細胞 生細胞(矢尻)

2. 研究の目的

本研究の目的は、ネムリユスリカの乾燥・再水和の過程で生じる”ゲノムの高次構造変化”が、”どのような機能をもつ遺伝子”を”どの順番で作動”させているのかを知ること、”乾燥耐性をもたらす遺伝子制御ネットワーク”の全容を解明することにある。具体的には、乾燥・再水和過程のネムリユスリカ培養細胞のゲノムの高次構造の変化をHi-CやATAC-seqと呼ばれる次世代シーケンス技術を用いて解析し、CAGE解析やtotal RNA-seqにより乾燥・再水和時特異的な遺伝子発現パターンを同定し、CRISPRによる遺伝子機能解析を行う。得られたデータを統合しベイジアンモデルなどを用いて数理科学的に解析することで、ゲノム構造変化にともなう乾燥無代謝休眠特異的な遺伝子制御ネットワークの全容を解明する。

3. 研究の方法

(1) Pv11 細胞の in situ Hi-C 解析

Pv11 細胞のゲノム構造を知るために、in situ Hi-C 解析を行った。In situ Hi-C サンプルは、一般的なプロトコル⁷に従って処理したが、これを Pv11 細胞での使用に適合させた。主な違いは、反応物の容量、遠心分離の速度、インキュベーションのタイミングの調整に関するものである。細胞を固定するために、 2×10^7 個の Pv11 細胞を 1ml の IPL-41 培地に懸濁し、室温 (RT) で適度に回転させながら最終濃度 1% のホルムアルデヒドを加えて 10 分間固定した。反応は 2.5M グリシン (最終濃度 0.2M になるように添加) で回転させながら RT で 5 分間かけてクエンチした。固定した細胞を冷たい 1X PBS で 2 回洗浄した後、RT で 30 分間溶解した。溶解した細胞ペレットに 0.5% SDS を加えてクロマチンを可溶化し、回転させずに 62°C で 10 分間インキュベートした。クロマチンの消化は、1 サンプルあたり 100U の MboI (New England Biolabs) を 250 μ l の NEB2 バッファーに加え、37°C で一晩、常に攪拌しながらインキュベートして行った。消化された DNA のオーバーハングは、ビオチン-14-dATP を加えて標識した。得られたビオチン標識 DNA 断片は、穏やかに回転させながら RT で一晩インキュベートしてライゲーションした。1% SDS とプロテイナーゼ K で一晩インキュベートすることで架橋を元に戻し、DNA は酢酸ナトリウム/エタノール沈殿によって分離した。その後、Covaris LE220 を用いてサンプルをせん断した (フィルレベル-10、デューティサイクル-15、PIP-500、サイクル/バースト-200、時間-58 秒)。AMPure XP ビーズ (Beckman Coulter, Brea, CA) を用いて、サンプルから 300-500bp の DNA 画分を分離した。Dynabeads MyOne Streptavidin T1 beads (Thermo Fisher Scientific) を用いて、ビオチン化されたフラグメントをプルダウンした。ビオチン化されていない末端に残ったビオチンを除去し、A-tail に T4 PNK を加えた。イルミナシークエンスライブラリは、製品プロトコルに従って、NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs) の試薬を用いて調製した。ライブラリーの増幅に必要なサイクル数 (7 サイクル) を微調整するため、モック PCR を行った。シークエンスの前に、Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) を用いてライブラリのサイズ分布を評価した。こうして作成した in situ Hi-C ライブラリは、HiSeq 2500 システム (Illumina) で 2×100 bp ペアエンドランを用いて配列決定した。

Hi-C リードを Juicer⁸ ソフトウェアで処理し、Juicebox⁹ で初期アセンブリを可視化するためのコンタクトマトリックスを得て、アセンブリフラグメント間の接触頻度を反映した重複排除およびフィルタリングされたリードペアのリストを生成した。このリスト (merged_nodups.txt) と assembly.fasta ファイルを、misjoin 補正ステップなしで 3D-DNA パイプラインに適用した。視覚的に検出されたミスアセンブリーを含むスカフォールドの領域は、Juicebox Assembly Tools¹⁰ を用いて手動で修正した。結果として得られたスカフォールドのセットは、リードマッピングと処理の第 2 ラウンドに適用されました。3D-DNA を用いた後続のステップでは、ミスジョイン補正を 2 回繰り返した自動スカフォールドをデータに適用した。Juicebox Assembly ツールを用いて、最終的なスカフォールド補正、未配置スカフォールドの順序付け、染色体サイズのスカフォールド分割を行った。

(2) 乾燥耐性に特異的な遺伝子制御ネットワークの同定

Pv11 細胞におけるトレハロース処理、乾燥および再水和過程に関与する遺伝子群を同定するために、トレハロース処理前及び処理後 48 時間、その後乾燥 3 時間及び 10 日間、そして再水和後 3 時間及び 24 時間後の Pv11 細胞を用いて total RNA を採取し CAGE-seq 法により全遺伝子の発現量を定量した。続いてトレハロース処理時、乾燥時及び再水和時に発現変動を示す遺伝子 (DEG : Differentially Expressed Gene) を edgeR¹¹ により検出した (FDR<0.05)。そして各過程においてどのような生理現象が関与するかを明らかにするために、検出した DEG に対する Gene Ontology (GO) 解析を行い各過程の DEG に統計的に有意に存在する GO を検出した (FDR<0.05)。

これらの乾燥耐性への関与が有望な遺伝子群に対する遺伝子制御ネットワークを同定するために、より細かい時系列の遺伝子発現パターンを明らかにすることを目的として、トレハロース処理前及び処理後 12、24、36、48 時間、その後乾燥 10 日間、そして再水和後、3、12、24、72 時間後の Pv11 細胞を用いて total RNA を採取し、RNA-seq により全遺伝子の時系列発現量を定量した。得られた遺伝子発現量データを元に、これらの処理に応答した遺伝子を DESeq2¹²

により DEG として検出した (FDR<0.05)。検出した DEG において転写因子としての機能を有する DEG に対しては時系列発現量を入力として BTNET¹³ を用いてこれらの制御関係を推定した。さらに、転写因子としての機能を持たない DEG に関しては協調発現を示す遺伝子群を WGCNA¹⁴ により遺伝子モジュールとして検出した。そして、転写因子から遺伝子モジュールへの制御関係を求めるために、モジュール内遺伝子のゲノム上の上流 DNA 領域における転写因子の結合モチーフが統計的に有意に存在するかを CLOVER¹⁵ により検出した (FDR<0.05)。この際に、ネムリユスリカの各転写因子の結合モチーフに関する情報はいまだないため、ショウジョウバエの転写因子の結合モチーフを JASPAR2018¹⁶、FlyFactorSurvey¹⁷、CISBP¹⁸ データベースより取得し、ショウジョウバエの転写因子と配列相同性を持つ転写因子に対してこれら結合モチーフの情報を転用して解析に用いた。そして統計的に有意な結合モチーフの存在が確認された転写因子と遺伝子モジュールの間において発現変動に関する Granger 因果が存在するかを検証し、Granger 因果が検出された時に転写因子から遺伝子モジュールへの制御有りとして検出した (FDR<0.05)。これらにより得られた転写因子間の制御関係と遺伝子モジュールへの制御関係を包括した遺伝子制御ネットワークを modENCODE¹⁹ にて公開されている乾燥耐性を持たないショウジョウバエの遺伝子制御ネットワークと比較することで、Pv11 細胞の乾燥耐性に特異的な遺伝子制御ネットワークの同定を行った。

4. 研究成果

(1) Pv11 細胞の in situ Hi-C 解析を用いた染色体レベルのネムリユスリカゲノムデータベースの構築

ネムリユスリカのゲノムは、4 組の染色体で構成されている。これまでにネムリユスリカゲノムの概要配列 (ドラフトゲノム) を解読していた² が、得られたスカフォールド数が約 9,000 個と、染色体構造を知るのに十分とは言い難い状況だった。ドラフトゲノム公開以降、PacBio やイルミナのゲノム塩基配列解析データを蓄積していた。そこに、今回 Hi-C 解析のデータを加えたアセンブルを行った。結果として得られた 118.9 Mb のアセンブリは、最大の 4 つのスカフォールドにゲノムアセンブリの 98.8% が含まれており、4 本の染色体に対応していると考えられる (表 1)。現在、新たなネムリユスリカゲノムデータベースを構築し、公開を目指して整備を進めている。また、Pv11 細胞から得られた染色体レベルのネムリユスリカゲノムデータとして、論文発表を計画している。

	Pv 0.9 (Gusev, 2014)	Pv 5.0 (This study)
Main genome scaffold total	9,104	388
Main genome contig total	25,913	2,067
Main genome scaffold sequence total (Mb)	116.771	118.969
Main genome contig sequence total (Mb)	111.894	118.352
% Gap	4.177	0.518
Main genome scaffold N/L50	101/264.32 Kbp	2/35.209 Mbp
Main genome contig N/L50	2,191/12.463 Kbp	161/219.078 Kbp
Main genome scaffold N/L90	1,986/4.421 Kbp	4/14.02 Mbp
Main genome contig N/L90	10,658/2.139 Kbp	596/49.999 Kbp
Max scaffold length	2.184 Mbp	36.877 Mbp
Max contig length	358 Kbp	1.494 Mbp
Number of scaffolds > 50 KB	358	7
% main genome in scaffolds > 50 KB	77.6	98.98
% GC	28.30%	28.10%
% N	4.20%	0.50%
BUSCO4 completeness (Diptera)	92.9%[91.9%,1.0%],2.7%,4.4%	95.7%[94.7%,1.0%],0.6%,3.7%
BUSCO4 completeness (Insecta)	96.4%[95.4%,1.0%],1.5%,2.1%	98.3%[90.9%,7.4%],0.5%,1.2%

(2) 乾燥耐性に特異的な遺伝子制御ネットワークの同定

トレハロース処理前及び処理後 48 時間、その後乾燥 3 時間及び 10 日間、そして再水和後 3 時間及び 24 時間後の Pv11 細胞に対する CAGE-seq データ解析により、全遺伝子の発現パターンはトレハロース処理、乾燥を経て通常とは異なる状態になり、再水和により元の状態に戻ることが明らかになった (図 3)。続いてトレハロース処理時、乾燥時及び再水和時の DEG に対する Gene Ontology 解析により、まずトレハロース処理時における DEG においては、その多くの遺伝子が生体にとって有害となる活性酸素によって生み出される過剰な酸化物質を分解する抗酸化因子 (例えば、チオレドキシニンなど) が占めていることが明らかになった。すなわち、トレハロース処理は、生体機能の障害となる物質を除去する遺伝子を発現させることで、乾燥耐性機能を発揮させる準備段階であることが示唆された。続いて乾燥時の DEG に注目すると、トレハロース処理時と同様に生体にとって有害となる物質を除去する遺伝子の高発現が見られたことに加えて、タンパク質の翻訳に関わるリボソームタンパク質が有意に発現を減少させていることが明らかとなった。このことから乾燥に応じて必要のなくなる遺伝子の発現を抑えることで省エネルギー化を達成している可能性が示唆さ

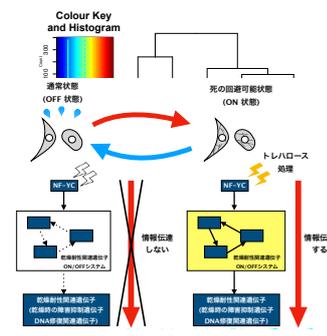


図 3 トレハロース処理 (T)、乾燥 (D) 及び再水和 (R) 過程における発現変動遺伝子の時系列発現パターン

れた。そして再水和時の DEG に注目すると、DNA を修復するために働く遺伝子が発現上昇していた。再水和過程は、乾燥に伴って蓄積した DNA へのダメージを治すことで、細胞の機能を通常の状態に戻す役割を持っている可能性が示唆された(図 4)。

続いてトレハロース処理及び再水和において細かいタイムスパンで取得した時系列 RNA-seq データを用いて遺伝子制御ネットワークを推定した。推定した遺伝子制御ネットワークに対してショウジョウバエの遺伝子制御ネットワークとの比較解析を行うことで、乾燥耐性関連遺伝子群全体の発現誘導を行うことができる最上流の転写因子として NF-YC が存在した。NF-YC は、NF-Y という転写因子のサブユニットの一つであり、これまでにシロイヌナズナやイネなどの植物に、NF-YC を初めとした NF-Y を構成する転写因子を遺伝子導入することで、通常では耐えられない完全な水の遮断による干ばつストレスに対して萎れなくなることが示されている^{20,21}。すなわち、動物由来の Pv11 細胞の乾燥耐性においても、NF-YC が重要な役割を担うことを示唆した。続いて NF-YC から乾燥耐性関連遺伝子群への情報伝達の仕組み全体に注目すると、複数のフィードフォワードループと、それらの間にポジティブフィードバック制御が存在することが明らかになった。フィードフォワードループ制御は、遺伝子発現において一過的な入力をカットして持続的な入力のみ出力に伝える、いわばノイズカットフィルターの役割を持つことが示されている²²。さらにポジティブフィードバック制御は入力の強弱に応じて安定した出力の ON/OFF の切り替えを調節する役割を持つことが示されている²³。以上の結果より、Pv11 細胞の乾燥耐性機構は、NF-YC を起点とした安定した乾燥耐性関連遺伝子の発現調節を精密に行うことで、死ななない状態と通常状態の切り替えによって成り立っていることを示唆した(図 5)。

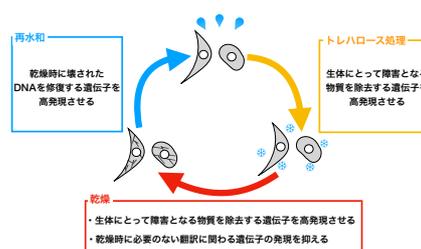


図 4 Pv11 細胞におけるトレハロース処理、乾燥及び再水和過程に関与する生理学的現象

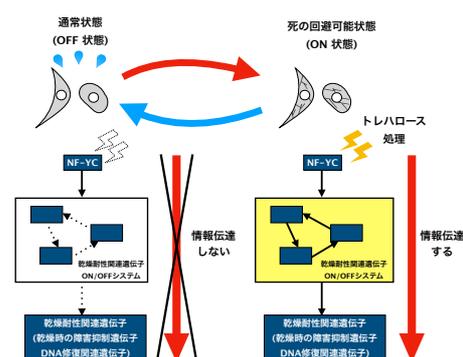


図 5 NF-YC を最上流とした Pv11 細胞の乾燥耐性 ON/OFF 遺伝子制御システム概念図

引用文献

- 1 Cornette, R. *et al. J Biol Chem* **285**, 35889-35899, doi:10.1074/jbc.M110.150623 (2010).
- 2 Gusev, O. *et al. Nat Commun* **5**, 4784, doi:10.1038/ncomms5784 (2014).
- 3 Li, L. *et al. Mol Cell* **58**, 216-231, doi:10.1016/j.molcel.2015.02.023 (2015).
- 4 Gusev, O. *et al. PLoS One* **5**, e14008, doi:10.1371/journal.pone.0014008 (2010).
- 5 Watanabe, K. *et al. Cryobiology* **73**, 93-98, doi:10.1016/j.cryobiol.2016.05.006 (2016).
- 6 Sogame, Y. *et al. Extremophiles* **21**, 65-72, doi:10.1007/s00792-016-0880-4 (2017).
- 7 Rao, S. S. *et al. Cell* **159**, 1665-1680, doi:10.1016/j.cell.2014.11.021 (2014).
- 8 Durand, N. C. *et al. Cell Syst* **3**, 95-98, doi:10.1016/j.cels.2016.07.002 (2016).
- 9 Durand, N. C. *et al. Juicebox Cell Syst* **3**, 99-101, doi:10.1016/j.cels.2015.07.012 (2016).
- 10 Dudchenko, O. *et al. bioRxiv* **254797**, doi:10.1101/254797 (2018).
- 11 Robinson, M. D. *et al. Bioinformatics* **26**, 139-140, doi:10.1093/bioinformatics/btp616 (2010).
- 12 Love, M. I. *et al. Genome Biol* **15**, 550, doi:10.1186/s13059-014-0550-8 (2014).
- 13 Park, S. *et al. BMC Syst Biol* **12**, 20, doi:10.1186/s12918-018-0547-0 (2018).
- 14 Langfelder, P. & Horvath, S. *BMC Bioinformatics* **9**, 559, doi:10.1186/1471-2105-9-559 (2008).
- 15 Frith, M. C. *et al. Nucleic Acids Res* **32**, 1372-1381, doi:10.1093/nar/gkh299 (2004).
- 16 Khan, A. *et al. Nucleic Acids Res* **46**, D260-D266, doi:10.1093/nar/gkx1126 (2018).
- 17 Zhu, L. J. *et al. Nucleic Acids Res* **39**, D111-117, doi:10.1093/nar/gkq858 (2011).
- 18 Weirauch, M. T. *et al. Cell* **158**, 1431-1443, doi:10.1016/j.cell.2014.08.009 (2014).
- 19 modENCODE Consortium *Science* **330**, 1787-1797, doi:10.1126/science.1198374 (2010).
- 20 Nelson, D. E. *et al. PNAS* **104**, 16450-16455, doi:10.1073/pnas.0707193104 (2007).
- 21 Chen, M. *et al. Plant Biotechnol J* **13**, 482-491, doi:10.1111/pbi.12270 (2015).
- 22 Alon, U. *Nat Rev Genet* **8**, 450-461, doi:10.1038/nrg2102 (2007).
- 23 Maeda, Y. T. & Sano, M. *J Mol Biol* **359**, 1107-1124, doi:10.1016/j.jmb.2006.03.064 (2006).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 7件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Miyata Yugo, Tokumoto Shoko, Sogame Yoichiro, Deviatiiarov Ruslan, Okada Jun, Cornette Richard, Gusev Oleg, Shagimardanova Elena, Sakurai Minoru, Kikawada Takahiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of a novel strong promoter from the anhydrobiotic midge, <i>Polypedilum vanderplanki</i> , with conserved function in various insect cell lines	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-43441-x	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 Yamada Takahiro G., Hiki Yusuke, Hiroi Noriko F., Shagimardanova Elena, Gusev Oleg, Cornette Richard, Kikawada Takahiro, Funahashi Akira	4. 巻 15
2. 論文標題 Identification of a master transcription factor and a regulatory mechanism for desiccation tolerance in the anhydrobiotic cell line Pv11	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0230218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0230218	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 山田 貴大, 舟橋 啓, 黄川田 隆洋	4. 巻 77
2. 論文標題 ネムリユスリカの培養細胞の乾燥耐性に迫る	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 B&I バイオサイエンスとインダストリー	6. 最初と最後の頁 310-311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Yamada Takahiro G., Suetsugu Yoshitaka, Deviatiiarov Ruslan, Gusev Oleg, Cornette Richard, Nesmelov Alexander, Hiroi Noriko, Kikawada Takahiro, Funahashi Akira	4. 巻 8
2. 論文標題 Transcriptome analysis of the anhydrobiotic cell line Pv11 infers the mechanism of desiccation tolerance and recovery	5. 発行年 2018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/s41598-018-36124-6	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 Nesmelov Alexander, Cornette Richard, Gusev Oleg, Kikawada Takahiro	4. 巻 1081
2. 論文標題 The Antioxidant System in the Anhydrobiotic Midge as an Essential, Adaptive Mechanism for Desiccation Survival	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Advances in experimental medicine and biology	6. 最初と最後の頁 259 ~ 270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-13-1244-1_14	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 Mazin Pavel V., Shagimardanova Elena, Kozlova Olga, Cherkasov Alexander, Sutormin Roman, Stepanova Vita V., Stupnikov Alexey, Logacheva Maria, Penin Aleksey, Sogame Yoichiro, Cornette Richard, Tokumoto Shoko, Miyata Yugo, Kikawada Takahiro, Gelfand Mikhail S., Gusev Oleg	4. 巻 115
2. 論文標題 Cooption of heat shock regulatory system for anhydrobiosis in the sleeping chironomid <i>Polypedilum vanderplanki</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 E2477 ~ E2486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1719493115	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 Kikuta Shingo, Watanabe Shunsuke J., Sato Ryoichi, Gusev Oleg, Nesmelov Alexander, Sogame Yoichiro, Cornette Richard, Kikawada Takahiro	4. 巻 7
2. 論文標題 Towards water-free biobanks: long-term dry-preservation at room temperature of desiccation-sensitive enzyme luciferase in air-dried insect cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-06945-y	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 Uchida Tsutomu, Furukawa Maho, Kikawada Takahiro, Yamazaki Kenji, Gohara Kazutoshi	4. 巻 77
2. 論文標題 Intracellular trehalose via transporter TRET1 as a method to cryoprotect CHO-K1 cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cryobiology	6. 最初と最後の頁 50 ~ 57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cryobiol.2017.05.008	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 CORNETTE RICHARD、YAMAMOTO NAO、YAMAMOTO MASARU、KOBAYASHI TADASHI、PETROVA NINEL A.、GUSEV OLEG、SHIMURA SACHIKO、KIKAWADA TAKAHIRO、PEMBA DYLO、OKUDA TAKASHI	4. 巻 42
2. 論文標題 A new anhydrobiotic midge from Malawi, <i>Polypedilum pembai</i> sp.n. (Diptera: Chironomidae), closely related to the desiccation tolerant midge, <i>Polypedilum vanderplanki</i> Hinton	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Systematic Entomology	6. 最初と最後の頁 814 ~ 825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/syen.12248	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27件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 12件)

1. 発表者名 Hiki, Yusuke, Yamada G. Takahiro, Kozlova, Olga, Cornette Richard, Gusev Oleg., Kikawada Takahiro, Funahashi Akira.
2. 発表標題 Inference of transcriptional regulatory network driven by desiccation and rehydration in <i>Polypedilum vanderplanki</i>
3. 学会等名 Moscow Conference on Computational Molecular Biology 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田 貴大, 比企 佑介, 広井 賀子, Elena Shagimardanova, Oleg Gusev, Richard Cornette, 黄川田 隆洋, 舟橋 啓
2. 発表標題 正確な情報伝達を利用したON/OFF遺伝子制御がPv11細胞の乾燥しても死なない仕組みのカギを握る
3. 学会等名 定量生物学の会 北海道キャラバン 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 徳本翔子、宮田佑吾、Ruslan Deviatiiarov、Richard Cornette、Oleg Gusev、黄川田隆洋
2. 発表標題 Hsfの選択的スプライシングによるネムリユスリカ特異的な乾燥耐性制御機構の解明
3. 学会等名 第64回低温生物工学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 徳本 翔子, 宮田 佑吾, Richard Cornette, 黄川田 隆洋
2. 発表標題 Hsfの選択的スプライシングによるネムリユスリカ特異的な乾燥耐性制御機構の解明
3. 学会等名 第42回(2019年)日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Kikawada
2. 発表標題 Anhydrobiosis in the sleeping chironomid: clues to develop dry preservation of animal cells
3. 学会等名 DRYNET Conference: Physiological aspects of reversible drying in eukaryotes (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黄川田隆洋
2. 発表標題 Gene technologies to uncover mechanisms of tolerance to complete desiccation
3. 学会等名 Life of Genome 2018, Kazan (Russia) (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黄川田隆洋
2. 発表標題 Life in no water: the extreme desiccation tolerance, anhydrobiosis in Polypedilum vanderplanki
3. 学会等名 CRY02018, Madrid (Spain) (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黄川田隆洋, Oleg Gusev, Richard Cornette
2. 発表標題 The anhydrobiotic midge <i>Polypedilum vanderplanki</i> as a model for astrobiology
3. 学会等名 Space Biology Symposium, Boston (USA) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木健吾、黄川田隆洋
2. 発表標題 ネムリユスリカの乾燥耐性におけるノンコーディングRNAの役割の解明
3. 学会等名 第63回低温生物工学会大会, 埼玉大学
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木健吾、黄川田隆洋
2. 発表標題 ネムリユスリカの乾燥耐性に関連するノンコーディングRNAの探索
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 徳本翔子, 宮田佑吾, Ruslan Deviatiiarov, 黄川田隆洋
2. 発表標題 Hsfの選択的スプライシングによるネムリユスリカ特異的な乾燥耐性制御機構の解明
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮田 佑吾、徳本翔子、櫻井実、黄川田隆洋
2. 発表標題 ネムリユスリカにおける新規プロモーターの同定とその応用
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田貴大
2. 発表標題 Inferring a Polypedilum vanderplanki transcriptional regulatory network for rehydration process from time-series RNA-seq data
3. 学会等名 Life of Genome 2018, Kazan (Russia) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahiro Yamada
2. 発表標題 Inferring Polypedilum vanderplanki transcriptional regulatory network for anhydrobiosis from time-series RNA-seq data
3. 学会等名 LIFE OF GENOMES 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田 貴大, 末次 克行, Ruslan Deviatiiarov, Oleg Gusev, Richard Cornette, Alexander Nesmelov, 広井 賀子, 黄川田 隆洋, 舟橋 啓
2. 発表標題 時系列 RNA-seq データに基づくネムリユスリカ乾燥耐性機構の転写制御ネットワークの同定
3. 学会等名 第1回慶應ライフサイエンスシンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮田佑吾、徳本翔子、櫻井実、黄川田 隆洋
2. 発表標題 CRISPR/Cas9システムを用いたネムリユスリカ培養細胞のゲノム編集
3. 学会等名 第2回ゲノム編集学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takahiro Kikawada
2. 発表標題 Life in no water: the extreme desiccation tolerance, anhydrobiosis in the sleeping chironomid, Polypedilum vanderplanki
3. 学会等名 IIHW 2017 (The 3rd International Insect Hormone Workshop 2017) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ruslan Deviatiiarov, Guzel Gazizova, Elena Shagimardanova, Richard Cornette, Takahiro Kikawada, Oleg Gusev
2. 発表標題 Transcriptomics approach for anhydrobiosis-related pathways identification in the sleeping chironomid
3. 学会等名 IIHW 2017 (The 3rd International Insect Hormone Workshop 2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takahiro Kikawada
2. 発表標題 Impact of anhydrobiotic midge research in the area of cells preservation
3. 学会等名 LIFE OF GENOMES 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takahiro Kikawada
2. 発表標題 Life in no water: the extreme desiccation tolerance, anhydrobiosis in the African midge and its cultured cell line
3. 学会等名 Summit on Organ Banking through Converging Technologies (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yugo Miyata, Takahiro Kikawada
2. 発表標題 Genome Editing in a Cell Line of the Sleeping Chironomid by Using the CRISPR/Cas9 System
3. 学会等名 LIFE OF GENOMES 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 黄川田隆洋
2. 発表標題 水の無い環境で死なないための生命戦略：ネムリユスリカの極限乾燥耐性
3. 学会等名 日本動物学会第88回富山大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 黄川田隆洋
2. 発表標題 タンパク質の長期乾燥保存への挑戦：ネムリユスリカの細胞を用いて
3. 学会等名 Cryopreservation conference 2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮田佑吾、徳本翔子、櫻井実、黄川田 隆洋
2. 発表標題 CRISPR/Cas9システムを用いたネムリユスリカ培養細胞のゲノム編集
3. 学会等名 The 4th WBC (Wakate Bio-resource center Conference)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 黄川田 隆洋、菊田真吾、渡辺俊介、佐藤令一、Oleg Gusev、Alexander Nesmelov、十亀陽一郎、コルネット リシャー
2. 発表標題 Toward water-free biobanks: long-term dry-preservation of desiccation sensitive enzyme in the anhydrobiotic insect cells
3. 学会等名 2017年度 生命科学系学会合同年次大会 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮田佑吾、徳本翔子、櫻井実、黄川田 隆洋
2. 発表標題 CRISPR/Cas9システムを用いたネムリユスリカ培養細胞のゲノム編集とその応用
3. 学会等名 2017年度 生命科学系学会合同年次大会 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木健吾、黄川田 隆洋
2. 発表標題 ネムリユスリカの乾燥耐性におけるnon-coding RNAの役割
3. 学会等名 2017年度 生命科学系学会合同年次大会 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 舟橋 啓	4. 発行年 2019年
2. 出版社 慶應義塾大学出版会	5. 総ページ数 240
3. 書名 組織としての生命	

〔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	舟橋 啓 (Funahashi Akira) (70324548)	慶應義塾大学・理工学部(矢上)・准教授 (32612)	

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