

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19355

研究課題名（和文）モデル線虫近縁種による大きな進化的変化機構の解明と進化実験モデル生物の確立

研究課題名（英文）Establishment of model organisms for understanding major evolutionary changes using *C. inopinata*

研究代表者

河田 雅圭（KAWATA, MASAKADO）

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：90204734

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、転位因子が大きな進化的な変化をもたらしたという仮説を検証するために、*C. elegans* の近縁種で体サイズが大きく変化した *C. inopinata* に着目した。ゲノム中に転位因子由来の配列と判定された配列は、*C. elegans* で12%、*C. inopinata* で25%であった。解析の結果、*C. inopinata* に転位因子がある遺伝子群は、*C. inopinata* においても *C. elegans* においても発現量が有意に低い傾向にあり、*C. inopinata* の転位因子は二種の共通祖先で既に発現量が低い遺伝子近傍に挿入している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、基礎的な遺伝情報が既知で遺伝子操作が可能なモデル生物は、進化的に大きな変化をした近縁種がないために、進化機構の解明が困難であった。そこで、転移因子が大きな進化的変化を引き起こしたかを解明するために、モデル生物である *C. elegans* の近縁種である *C. inopinata* を用いて、転移因子の挿入と遺伝子発現量の関係を明らかにし、今後、*C. inopinata* を進化モデル生物として用いることができることを示した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on *C. inopinata*, a closely related species of *C. elegans* with a large change in body size, to test the hypothesis that transposable elements (TE) led to major evolutionary changes. 12% of the sequences in the genome were determined to be derived from TE in *C. elegans* and 25% in *C. inopinata*. The analysis showed that the group of genes with TE in *C. inopinata* tended to have significantly lower expression levels in both *C. inopinata* and *C. elegans*, indicating that the TE in *C. inopinata* may be inserted in the vicinity of genes already low in expression in the common ancestor of the two species.

研究分野：進化生物学

キーワード：転移因子 *C. elegans* *C. inopinata*

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

新たな環境へ生物が進化する時、環境への適応進化だけでなく生活史、形態、繁殖様式など複数の形質の進化が伴う場合がある。そのとき、様々な性質が祖先種とは大きく異なるような変化が生じており、このような大きな進化的変化(Major evolutionary changes=MEC)がいかに可能になったかについては、実証されていない進化学上の重要課題である。線虫 *Caenorhabditis elegans* は、生物学の重要な実験モデル生物として用いられている。これまで、*Caenorhabditis* 属には、*C. elegans* と特に近い姉妹種は知られていなかった。近年、石垣島で、*C. elegans* の姉妹種である *C. inopinata* が発見された(図1,2)。この線虫は、オオバイヌビアの花序の中で発見され、体長が *C. elegans* の1.5から2.5倍もあり、他の様々な特徴がこの種だけで異なっている(図1,2)。*C. inopinata* は花序内という全く異なる環境への進出にともない複数の大きな進化的変化(MEC)が生じたことみなされる。*C. inopinata* は *C. elegans* と極めて系統的に近いことから、*C. elegans* での知見や技術を利用することで、実験的に検証不可能だった大きな進化的変化(MEC)の進化機構を解明することが可能になる。



図1. *C. elegans* と *C. inopinata*

2. 研究の目的

本研究では、転位因子が大きな進化的変化(MEC)をもたらしたという仮説を検証するために、*C. inopinata* で大きく変化した形質として体サイズにまず着目し、「*C. inopinata* の体サイズ進化に転位因子が持った役割の解明」を目的とした。そのために、(1)二種の線虫の各遺伝子近傍の転位因子の挿入状況を調べる。(2)転位因子の有無で遺伝子発現の分布に差があるかを調べる。(3)種間の遺伝子発現変動に転位因子がどの程度寄与しているのかを調べる。

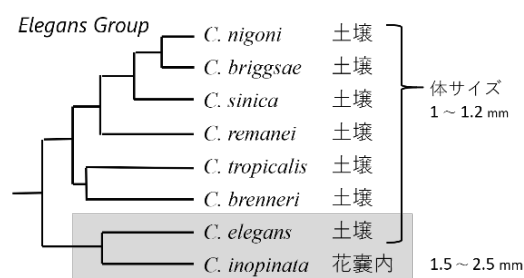


図2. *Caenorhabditis* 属 *Elegans Group* の系統樹及び生活環境・体サイズ

3. 研究の方法

(1)初めに、転位因子の挿入位置を *C. inopinata* と *C. elegans* のそれぞれで調べた。Repeat Modelerを用いて数が多い転位因子の配列を新規に取得し、その位置を Repeat Masker で調べた。続いて Transposon PSI によって、既知の転位因子に対する相同性検索を行うことで Repeat Modeler が検出不能な数が少ない転位因子の位置を特定した。次に、NCBI などのデータベースからゲノムのアノテーション情報を取得した。入手した各遺伝子の位置に対して、内部と近傍 2000bp の領域で転位因子の挿入を調べた。その後、種間で互いにベストヒットした遺伝子をオーソログとし、それらについて転位因子の挿入状況をまとめた。

(2)転位因子と遺伝子発現量の関係を調べるため、二種間で体サイズ成長率に大きな差が出る L4 幼虫期と Young Adult 期の遺伝子発現量を同研究室の先行研究[Inada et al. in prep.]より取得した。次に、オーソログを、①二種共に転位因子が挿入している遺伝子群、② *C. elegans* のみに挿入している遺伝子群、③ *C. inopinata* のみに挿入している遺伝子群、④二種共に挿入がない遺伝子群の四群に分けた。この四群に分けたオーソログ間の発現量の分布差を、*C. inopinata* 側の L4 幼虫期と Young Adult 期、そして *C. elegans* 側の L4 幼虫期と Young Adult 期のそれぞれにおいて独立に比較した。検定は、多重検定として Kruskal-Wallis test を行った後、二群間の検定を Mann-Whitney's U test で行った。

(3) *C. inopinata* に転位因子がある遺伝子群に対する、二種間の発現変動遺伝子(DEG)のエンリッチメントを調べた。「全てのオーソログに対する DEG の割合」と「*C. inopinata* に転位因子があるオーソログに対する DEG の割合」の差をフィッシャーの正確確率検定を用いて調べた。転位因子は 5 つの種類(DNA, LTR, LINE, SINE, RC)をそれぞれ使い、発現変動遺伝子は二つの時期(L4 期, Young Adult 期)のそれぞれを用いて、10 通りで解析した。

4. 研究成果

(1) 転位因子の挿入状況

C. elegans において、およそ 100Mbp のゲノムの内、12Mbp(12%)ほどが転位因子由来の配列と判定された。*C. inopinata* において、およそ 123Mbp のゲノムの内、31Mbp(25%)ほどが転位因子由来の配列と判定された(表1)

二種間で互いにベストヒットした遺伝子は 12504 個であった。このオーソログに関して、近傍領域を含めた転位因子の挿入状況を調べたところ、表2で示す結果となった。大半の遺伝子(9541 個)で二種共に何かしらの転位因子が挿入しており、共に全く挿入していない遺伝子は 264

表1. 転位因子(TE)の種類ごとの量

	DNA	LTR	LINE	SINE	RC	All TEs
<i>C. elegans</i>	9.72	1.47	0.80	0.16	2.01	12.17(12.14%)
<i>C. inopinata</i>	22.6	4.76	3.13	0.008	1.49	30.55(24.84%)

個のみであった。

(2) 転位因子の有無と発現量の分布の関係

C. inopinata の遺伝子発現量の分布は、L4 幼虫期と Young Adult 期のどちらにおいても、*C. inopinata* 側の転位因子の有無で有意に異なった ($P < 0.05$) (図 3)。しかし、*C. inopinata* 側に転位因子がある遺伝子群は *C. elegans* 側においても発現量が有意に異なった (図 4)。一方、*C. elegans* の転位因子の有無による発現量の分布は、*C. elegans* の L4 期の一部でのみ有意差があった (図 4・上)。

(3) 転位因子と種間の発現変動遺伝子の関係

いずれの解析パターンにおいても、転位因子が挿入している遺伝子群に種間の発現変動遺伝子は多く含まれていなかった ($P > 0.05$)。

表 2. 転位因子(TE)が挿入している遺伝子数

	<i>C. ele.</i> TE	<i>C. ino.</i> TE		
<i>C. ele.</i> TE	○	○	×	×
<i>C. ino.</i> TE	○	×	○	×
DNA	8644	1645	1768	447
LTR	630	1348	2642	7884
LINE	313	531	3821	7839
SINE	1	515	18	11970
RC	627	1983	2039	7855
Any TEs	9541	1167	1532	264

解析 (2) の結果より、*C. inopinata* に転位因子がある遺伝子群は、*C. inopinata* においても *C. elegans* においても発現量が有意に低い傾向にあると考えられる。そのため、*C. inopinata* の転位因子は二種の共通祖先で既に発現量が低い遺伝子近傍に挿入している可能性がある。

一方、*C. elegans* の転位因子の有無では、*C. elegans* の L4 幼虫期の一部で遺伝子発現量に有意差があり、*C. inopinata* 側の発現量は有意差がなかった。*C. elegans* において、時期特異的な調節領域として働いている転位因子の割合が多い可能性があると考えられる。転位因子が *C. inopinata* で増加したことを考えると、*C. inopinata* ではより中立的な転位因子の割合が多く、*C. elegans* では適応的な転位因子の割合が多いかもしれない。今後は、転位因子と発現量の両方に影響を持つ可能性がある因子 (遺伝子密度・染色体の位置・遺伝子長) の影響を除いたより詳しい解析を行いながら、転位因子の種類に応じた遺伝子発現量との関係も解析していく計画である。

解析 (3) の結果より、*C. inopinata* において転位因子が遺伝子発現量を変化させることはまれか、遺伝子の発現変動を起こす転位因子は有害が多く集団から除かれてしまった可能性があると考えられる。少なくとも、転位因子が「多くの遺伝子」の発現変動を起こして体サイズ進化をもたらしたとは考えにくい。今回の解析では転位子上の発現調節領域の有無は考慮していなかったため、今後の解析では調節領域を保持している転位因子に対する種間の発現変動遺伝子のエンリ

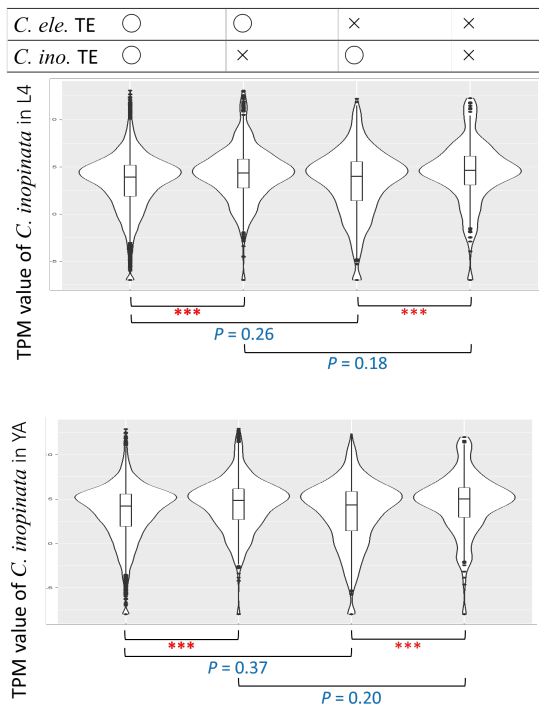


図 3. *C. inopinata* の遺伝子発現量と転位因子の有無上；L4 幼虫期における *C. inopinata* の発現量下；Young Adult 期における *C. inopinata* の発現量遺伝子数は表 2 の Any TEs が挿入している遺伝子に対応

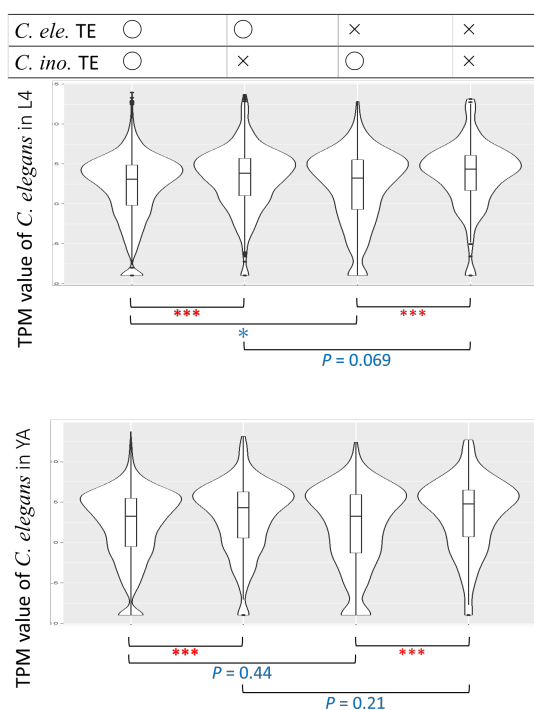


図 4. *C. elegans* の遺伝子発現量と転位因子の有無上；L4 幼虫期における *C. elegans* の発現量下；Young Adult 期における *C. elegans* の発現量遺伝子数は表 2 の Any TEs が挿入している遺伝子に対応

ッチメントを確認する。解析結果が同じ場合は、転位因子が「小数の重要な遺伝子」の発現量を変化させて体サイズに大きな変化をもたらしたという仮説を立て、体サイズに重要な遺伝子 (*lon*, *sma*, *dpy* など) 近傍の転位因子の挿入を詳細に調べていく。

<引用文献>

- ① Kanzaki, N., Tsai, I. J., Tanaka, R., Hunt, V. L., Liu, D., Tsuyama, K., et al., 2018, Biology and genome of a newly discovered sibling species of *Caenorhabditis elegans*, *Nature Communications*, 9,1–12.
- ② Brawand, D., Wagner, C. E., Li, Y. I., Malinsky, M., Keller, I., Fan, S., et al., 2014, The genomic substrate for adaptive radiation in African cichlid fish, *Nature*, 513, 375–381.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河原数馬・稲田垂穂・牧野能士・杉本亜砂子・河田雅圭
2. 発表標題 C. inopinataの進化におけるトランスポゾン挿入の影響
3. 学会等名 生態学会第66回大会
4. 発表年 2019年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----