

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05614

研究課題名（和文）比較トランスクリプトーム解析に基づいたエンマコオロギの卵休眠機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the egg diapause mechanism of the Teleogryllus emma based on comparative transcriptome analysis

研究代表者

竹田 真木生（Takeda, Makio）

神戸大学・農学研究科・名誉教授

研究者番号：20171647

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：多くの昆虫に見られる休眠は、成育に不適な季節をやり過ごし、効率的な生殖のために発育ステージを揃える生活史戦略として重要である。本研究課題では、熱帯に起源を有し、エンマコオロギやマダラスズなど、休眠を収斂的に獲得したコオロギ科に着目し、コオロギの休眠時における網羅的な遺伝子発現解析を実施することでコオロギの胚性休眠機構を明らかにすることを目的としている。本研究成果により、休眠性のコオロギの全ゲノム塩基配列や、それに基づくトランスクリプトーム解析から明らかになった休眠時のダイナミックな遺伝子発現機構が明らかになり、休眠の普遍的なメカニズムの解明に向けた基盤構築を達成することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、コオロギ科の休眠機構に着目し、全ゲノム塩基配列情報に基づくトランスクリプトーム解析により、休眠時の遺伝子発現機構を明らかにした。これは、昆虫の休眠という現象を分子レベルで理解する上で重要な基盤となる。また、本研究の先に見据えている休眠の人為的誘導法は、不完全変態昆虫のモデルシステムであるフタホシコオロギや、モデル生物であるキイロショウジョウバエの遺伝資源の保存方法の確立につながり、生物の安定的な系統保存や輸送を可能にする。これにより、学術界への大きなインパクトをもたらすだけでなく、休眠制御による特定の疾患の治療法開発にも貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：Diapause, observed in many insects, is an important life history strategy that allows them to survive unfavorable seasons for development and synchronize their developmental stages for efficient reproduction. This research project focuses on the cricket family (Gryllidae), which has a tropical origin and includes species such as the Emma field cricket and the band-legged ground cricket that have convergently acquired diapause. The objective is to elucidate the embryonic diapause mechanism in crickets by conducting comprehensive gene expression analyses during diapause. The results of this research have revealed the complete genome sequence of diapausing crickets and the dynamic gene expression mechanisms during diapause based on transcriptome analysis. This has led to the establishment of a foundation for elucidating the universal mechanism of diapause.

研究分野：昆虫科学

キーワード：休眠 コオロギ 季節的適応進化 トランスクリプトーム解析

1. 研究開始当初の背景

昆虫の中には、成育に適さない季節を乗り越え、効率的な生殖のために発育段階を揃える生活史戦略として休眠性を有するものが多く存在する。卵休眠は古典的な研究テーマであり、蚕では比較的進展しているものの、その他の昆虫では生理的な機構の解明が遅れている。日本全域に生息するエンマコオロギ (*Teleogryllus emma*) は、年一化の生活環を持ち、内因性の卵休眠を示す。一方、その近縁種である台湾エンマコオロギ (*Teleogryllus occipitalis*) は、主に九州や南西諸島に分布し、年二化で非休眠性である。また、マダラスズ (*Dianemobius nigrofasciatus*) は母性効果による卵休眠の運命決定を特徴とする。これらの昆虫は、休眠性と非休眠性の対照的な特性を示すことから、休眠機構の解明に適したモデル生物であると考えられる。他にも、エゾエンマコオロギ (*Teleogryllus yezoemma*) や *Gryllus firmus* などの様々なモデルが考えられるが、材料入手の問題から本格的な研究が滞っている。

近年、次世代シーケンシング技術の発展により、非モデル生物の全ゲノム解読が可能となってきた。また、比較トランスクリプトーム解析により、遺伝子発現の網羅的な比較が可能となった。これらの技術を利用することで、コオロギ科昆虫の休眠機構に関わる遺伝子を同定し、その分子メカニズムを解明できる可能性がある。ゲノム科学の知見および技術を用いた解明が望まれている。

以上の背景から、本研究では、エンマコオロギ、台湾エンマコオロギ、マダラスズを対象とし、全ゲノム解読および比較トランスクリプトーム解析を行うことで、コオロギ科昆虫の卵休眠機構の解明を目指すこととした。

2. 研究の目的

本研究では、コオロギ科昆虫の卵休眠機構を解明することを目的とする。具体的には、以下の3点を明らかにすることを目指す。

1. エンマコオロギ、台湾エンマコオロギ、マダラスズの全ゲノム塩基配列を決定し、ゲノムリソースを構築する。
2. 休眠性のエンマコオロギと非休眠性の台湾エンマコオロギの比較トランスクリプトーム解析を行い、休眠に関連する遺伝子を同定する。
3. マダラスズの休眠卵と非休眠卵の比較トランスクリプトーム解析を行い、母性効果による卵休眠の運命決定に関わる遺伝子を特定する。

これらの解析を通じて、コオロギ科昆虫の卵休眠の分子機構に関する新たな知見を得ることを目指す。また、得られた知見を基に、昆虫の休眠制御技術の開発につなげることを長期的な目標とする。

3. 研究の方法

本研究では、以下の方法で研究を進める。

1. エンマコオロギ、台湾エンマコオロギ、マダラスズのゲノム解読
 - Pacific Bioscience 社および Oxford Nanopore Technologies (ONT) のロングリードシーケンシング
 - Illumina のショートリードシーケンシング
 - Dovetail Genomics の Omni-C データを用いた染色体スケールでのスキャフォールドリング
2. 遺伝子アノテーション
 - 構築したドラフトゲノムを基に、遺伝子アノテーションを行う
3. 比較トランスクリプトーム解析
 - エンマコオロギと台湾エンマコオロギの卵、マダラスズの休眠卵と非休眠卵から RNA を抽出
 - Illumina シーケンサーを用いて RNA-seq を実施
 - 得られたデータを用いて、発現差異解析、GO エンリッチメント解析、KEGG 解析を行う
4. エピゲノム解析
 - マダラスズの休眠卵と非休眠卵から DNA を抽出
 - ATAC (Assay for Transposase-Accessible Chromatin) -seq を行い、クロマチンアクセスビリティ解析を実施

以上の方法により、コオロギ科昆虫の卵休眠に関連する遺伝子の同定と分子機構の解明を目指す。

4. 研究成果

本研究では、コオロギ科昆虫の卵休眠機構の解明を目的とし、エンマコオロギ、台湾エンマコオロギ、マダラスズを対象に全ゲノム解読および比較トランスクリプトーム解析を行った。

エンマコオロギ属 2 種については、Pacific Bioscience 社および Oxford Nanopore Technologies (ONT)のロングリードシーケンズデータ、Illumina のショートリードシーケンズデータ、Dovetail Genomics の Omni-C データを用いて、高品質なドラフトゲノムを構築した。マダラスズについては、ONT のロングリードシーケンズデータ、Illumina のショートリードシーケンズデータ、Dovetail Genomics の Omni-C データを用いた HiRise 解析により、染色体レベルのドラフトゲノムを構築した。これらのドラフトゲノムを基に、遺伝子アノテーションを行った(図1)。

マダラスズの休眠卵と非休眠卵の比較トランスクリプトーム解析の結果、休眠卵と非休眠卵の間で時間依存的なトランスクリプトームの動態が明らかになった(図2)。特に、休眠卵では、非休眠卵では見られない特異的なエネルギー代謝機構の存在が示唆された。また、脳と卵巣の間で内分泌因子を介した情報のやり取りが示唆された。これらの結果から、マダラスズの卵休眠の運命決定に関わる因子の存在が明らかになった。

一方、エンマコオロギの実験がストック途絶により一時的に滞ったが、マダラスズのゲノム・トランスクリプトーム解析が予想以上に進展した。今後は、エンマコオロギとタイワンエンマコオロギの比較トランスクリプトーム解析を行い、コオロギ科全体の卵休眠の分子機構に関する洞察を得ることを目指す。

本研究により、コオロギ科昆虫の卵休眠に関連する遺伝子の同定と分子機構の一端が明らかになった。得られた知見は、昆虫の休眠制御技術の開発につながる可能性がある。また、本研究で構築したゲノムリソースは、コオロギ科昆虫の比較ゲノム研究の基盤となり、昆虫の進化や適応機構の解明にも貢献すると期待される。

D. nigrofasciatus

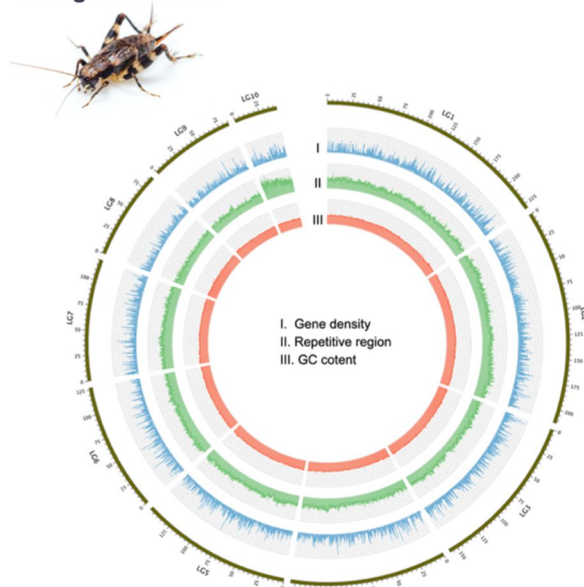


図1. マダラスズの染色体スケールのゲノム配列

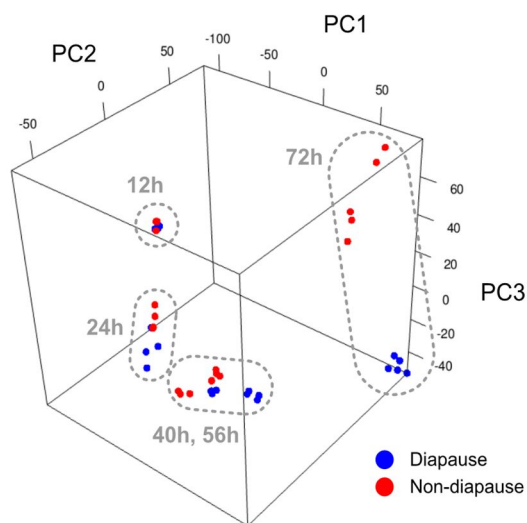


図2. マダラスズ休眠卵のトランスクリプトーム動態

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ryuto Sanno, Kosuke Kataoka, Shota Hayakawa, Keigo Ide, Chuong N Nguyen, Thao P Nguyen, Binh T N Le, Oanh T P Kim, Katsuhiko Mineta, Haruko Takeyama, Makio Takeda, Toshiyuki Sato, Takeshi Suzuki, Kei Yura, Toru Asahi	4. 巻 13
2. 論文標題 Comparative Analysis of Mitochondrial Genomes in Gryllidea (Insecta: Orthoptera): Implications for Adaptive Evolution in Ant-Loving Crickets	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genome Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 evab222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/gbe/evab222	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 Kosuke Kataoka, Yuki Togawa, Ryuto Sanno, Toru Asahi, Kei Yura	4. 巻 14
2. 論文標題 Dissecting Cricket Genomes for Advancement of Entomology and Entomophagy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 75-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-021-00924-4	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三野流斗, 片岡孝介, 内藤健, 由良敬, 朝日透
2. 発表標題 コオロギ科食用種 <i>Teleogryllus occipitalis</i> および <i>Tarbinskiellus portentosus</i> の染色体レベル全ゲノム塩基配列解読
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 村田光陽, 片岡孝介, 三野流斗, 里村和浩, 小倉淳, 朝日透, 由良敬, 鈴木丈詞
2. 発表標題 マダガスズおよびシバズズのミトコンドリアDNA全長配列の解読とコオロギ上科における分子系統解析
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 片岡孝介
2. 発表標題 コロナの社会実装に向けた学際的研究
3. 学会等名 第66回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 野地澄晴（共編著者：片岡孝介、由良敬 他）	4. 発行年 2022年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 250
3. 書名 最先端コロナ学 ~世界初! 新しい生物学がここにある~	

〔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	片岡 孝介 (Kataoka Kosuke) (60822260)	早稲田大学・総合研究機構・主任研究員 (32689)	
研究分担者	鈴木 丈詞 (Suzuki Takeshi) (60708311)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授 (12605)	
研究分担者	澁谷 仁寿 (Shibuya Hirotoshi) (10828346)	国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・開発研究員 (82401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	由良 敬 (Yura Kei) (50252226)	お茶の水女子大学・基幹研究院・教授 (12611)	

	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
研究協力者	後藤 慎介 (Goto Shinsuke)		
研究協力者	清水 悠太 (Shimizu Yuta)		

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