

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：22701

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19237

研究課題名(和文) サカナ(胎生発生真骨魚類)にゲノムインプリンティングは存在するか？

研究課題名(英文) Does genomic imprinting conserve in *Xenotoca eiseni*?

研究代表者

木下 哲(Tetsu, Kinoshita)

横浜市立大学・木原生物学研究所・教授

研究者番号：60342630

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：ゲノムインプリンティングは、母胎内に子を宿す哺乳動物と被子植物においてその詳細が研究されているが、胎生発生する他の生物では殆ど知見がない。そこで本研究では、「栄養リボン」を通じて母体から栄養獲得するグーデア科胎生魚を対象とした。偽胎盤組織である「栄養リボン」からのRNA-seqによって、顕著に発現するCubam receptorの遺伝子を同定した。同受容体遺伝子の同定は、栄養リボンが消化管由来で似たような機能を果たしていることを示唆するものである。今後、引き続きインプリント遺伝子の検証をすることによって、ゲノムインプリンティングの多様性進化にも多大なる知見を与えようと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでにインプリント遺伝子の研究は、哺乳動物や被子植物が主な対象となっており他の胎生発生物における知見に乏しかった。今回グーデア科胎生魚ハイランドカーブを用いて、母親のお腹の中で栄養リボンを用いて養分吸収を行っている可能性を見いだしている。インプリント遺伝子は胎生発生する生物種に保存され、子どもへの栄養供給を巡ってインプリント遺伝子が進化してきたと考えられている。本研究の知見から今後ハイランドカーブからインプリント遺伝子を同定する重要性が高まった。

研究成果の概要(英文)：Genomic imprinting has been studied in detail in mammals and angiosperms that carry their offspring in the mother, but little is known about it in other organisms. In this study, we focused on *Xenotoca eiseni*, which acquires maternal nutrients through the trophotaenia tissue. By RNA-seq of the trophotaenia, we identified a gene for the Cubam receptor prominently expressed in the tissue. The identification of the receptor gene suggests that the trophotaenia performs a similar function to the intestine. Further validation of the imprinted gene will provide significant insight into the evolution of diversity in genomic imprinting.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：ゲノムインプリンティング 胎生魚

1. 研究開始当初の背景

胎生発生する生物を対象とした興味深い学説として、1990 年前後に David Haig らが提案した『コンフリクト仮説』がある。母体内での胎子の成長に関して、オス親の利益が自分の子供を大きくすることであるのに対し、メス親の利益は、栄養資源を節約し自分の子供を小さくすることであると説明される。本仮説では、この利害の対立から、オス親とメス親から受け継いだ対立遺伝子が、その子供で異なる発現を示すことが想定されている(図1)。これらの遺伝子は『インプリント遺伝子』と定義され、オス・メスの利害のせめぎ合いは『コンフリクト仮説』として説明される。代表的なインプリント遺伝子の場合、母親由来のゲノムより特異的に発現する母性インプリント遺伝子は、胎盤や胚乳を通じて胚への栄養供給を抑制するとされる。一方で、父親由来のゲノム特異的に発現する父性インプリント遺伝子は逆に胎盤や胚乳を通じて胚への栄養供給を増大する役割を担うとされる。哺乳動物では、コンフリクト仮説を支持するインプリント遺伝子が 1990 年台初頭に発見され、被子植物では 1990 台後半にシロイヌナズナの MEDEA 遺伝子が明らかにされており、さらには 21 世紀に入りゲノムワイドにインプリント遺伝子の同定が行われるなど、その全容解明が進んでいる。これまでにコンフリクト仮説は、胎盤を持つ哺乳動物と胚乳を持つ被子植物で検証され、分子機構も共通して DNA メチル化などのエピジェネティック制御機構が介在するなどの共通性が明らかにされているが、それ以外の胎生生物でのインプリント遺伝子の同定や分子機構の検証は進んでいない。

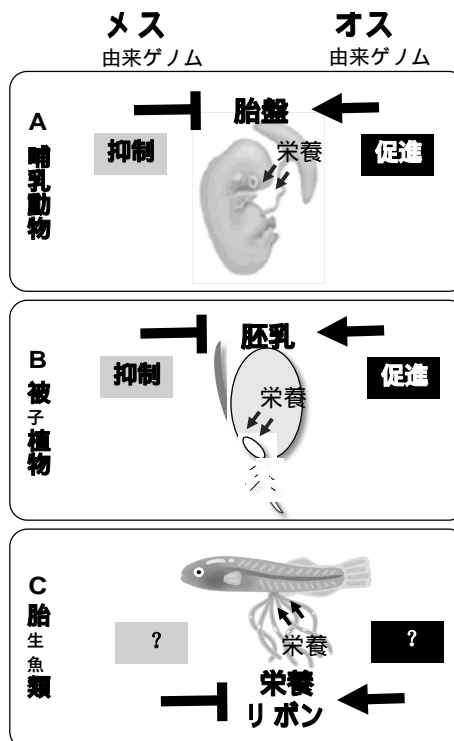


図1. 胚への栄養供給を運ぶオス・メスゲノムの役割(収斂)とゲノムインプリンティング
 (A) 哺乳動物では、オス由来、メス由来のそれぞれのゲノムの機能は異なっており、メス由来のゲノムは胎盤の発生に対して抑制的に機能し、一方のオス由来のゲノムは胎盤の発生を促進する。
 (B) 被子植物においても、オス・メスゲノムの機能は胚乳において哺乳動物との共通性が見られる。
 (C) 本研究では、胎生発生する魚類ハイランドカーブにおけるインプリント遺伝子を網羅的に明らかにする。

2. 研究の目的

ハイランドカーブ (*Xenotoca eiseni*) は、胎生を獲得したグーデア科の真骨魚類である。胎子は哺乳類の胎盤の代わりに「栄養リボン」と呼ばれる栄養吸収組織を持ち、この栄養リボンを介して母体内で栄養供給を受けながら出産まで成長する (Iida A. et al., PNAS 2019)。母体内での栄養吸収を目的として内胚葉由来の構造物を新規に獲得したという点では、哺乳類の胎盤・臍帯との相似性と胎生機構の収斂を想起させる。したがって栄養リボンにおいて機能する鍵遺伝子に、オス・メスの利益に従ったインプリンティングが見つかる可能性が高い。しかしながら、グーデア科の胎生機構は進化的に独立して獲得されているため、哺乳動物とはインプリント遺伝子も異なる可能性がある。そこで本研究では、栄養リボンのインプリント遺伝子を同定することで、魚類にもコンフリクト仮説が当てはまるかどうか進化的な検証を加える。

3. 研究の方法

栄養リボンは機能的には哺乳類の胎盤と類似しているものの、進化的な起源が異なるため、同じ脊椎動物ではあるが動物のインプリント遺伝子とは多様性があると考えられる。したがって栄養リボンで発現する遺伝子を網羅的に解析した。ハイランドカーブはゲノム配列が未同定であるため、mRNA を de novo にアッセンブルする方法を取った。ビデオカメラを装着した管理水槽中でハイランドカーブの雌雄を飼育し、3 週令、4 週令の稚魚より栄養リボンをサンプリングし RNA を単離して 150bp のペアエンドライブラリーを作成し NGS シーケンサーにより読み取り、Trinity ソフトウェアを用いて mRNA の de novo assembly を行い、比較的近縁なグッピーやメダカのゲノムを参考に遺伝子同定を進めた。

4 . 研究成果

グーデア科胎生魚の胎盤組織である「栄養リボン」からのトランスクリプトーム解析によって顕著に発現する Cubam receptor の遺伝子等を同定した。同受容体は、エンドサイトーシスと関連した進化的に保存された受容体であり、栄養リボンが消化管由来で似たような機能を果たしていることを示唆するものである (Iida et al., J Exp Biol, 2021)。また、栄養リボンでトランスポーターによるグルコース吸収が起こっていることも検証した (Iida et al., Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2023)。これらから、グーデア科胎生魚においても母子間での物質輸送が妊娠および胚発生に重要であることを示唆された。さらに、グーデア科とは別の胎生魚モデルとして、近縁種であるカダヤシ科グッピー (Poecilia reticulata) の実験基盤の開発に着手し、当該種に特徴的な卵胞内受精の仕組みを調査および報告した (Yoshida et al., Dev Growth Differ, 2024)。ここまでの成果から、魚類の胎生種においても母と仔の間でのリソースの授受が起こっていることが実験的に明らかになった。また複数種の胎生魚類に関して、分子生物学による解析を実施する基盤を構築することができた。今後、引き続きインプリント遺伝子の検証をすることによって、魚類を加えた生物種間比較解析により、ゲノムインプリンティングの多様性進化にも多大なる知見を与えると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Iida Atsuo, Sano Kaori, Inokuchi Mayu, Nomura Jumpei, Suzuki Takayuki, Kuriki Mao, Sogabe Maina, Susaki Daichi, Tonosaki Kaoru, Kinoshita Tetsu, Hondo Eiichi	4. 巻 224
2. 論文標題 Cubam receptor-mediated endocytosis in hindgut-derived pseudoplacenta of a viviparous teleost <i>Xenotoca eiseni</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Biology	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） 10.1242/jeb.242613	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 -

1. 著者名 Iida A, Tsuda N, Yoshida J, Nomura J, Ratanayotha A, Kawai T, Hondo E.	4. 巻 1867
2. 論文標題 Glucose absorption activity and gene expression of sugar transporters in the trophotaenia of the viviparous teleost <i>Xenotoca eiseni</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochim Biophys Acta Gen Subj.	6. 最初と最後の頁 130464-130464
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbagen.2023.130464	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 Yoshida Junki, Tajika Yuki, Uchida Kazuko, Kuwahara Makoto, Sano Kaori, Suzuki Takayuki, Hondo Eiichi, Iida Atsuo	4. 巻 66
2. 論文標題 Membrane molecule bouncer regulates sperm binding activity in immature oocytes in the viviparous teleost species <i>Poecilia reticulata</i> (guppy)	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 194 ~ 204
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/dgd.12914	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

サカナは消化管から胎盤を作った？ ~グーデア科胎生魚で母子間物質運搬の仕組みを探る~
<https://www.yokohama-cu.ac.jp/news/2021/20210630kinoshita.html>

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	飯田 敦夫 (Atsuo Iida) (90437278)	名古屋大学・生命農学研究科・助教 (13901)	

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