

令和 6 年 9 月 5 日現在

機関番号：32670

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20639

研究課題名（和文）環境に適応するための発生プログラム最適化の機構

研究課題名（英文）Mechanisms of optimization of developmental programs for adaptation to the environment

研究代表者

大野 速雄（OHNO, Hayao）

日本女子大学・理学部・講師

研究者番号：00747272

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：線虫*C. elegans*の母親が有害腸内微生物を経験すると、子の内胚葉細胞が過剰分裂して胚発生が左右非対称に変化し（選択的胚発生）、この変化により生殖能力が維持される。本研究は、この現象について、遺伝学的解析を中心とした分子メカニズムの解析を行った。研究期間内に、(1) 有害微生物の非存在下でも胚発生様式が変化するような変異体の単離、(2) 選択的胚発生をより効果的に検出できる実験系の開発、(3) 発生中の胚において分子局在や細胞内構造を高感度に観察できる蛍光顕微鏡システムの構築、(4) リソソーム関連遺伝子の関与の発見といった成果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸内微生物の研究はここ十年ほどの間に爆発的な進展を見せているが、「動物が胚発生変化を起こすことで腸内微生物に適応する」という本研究で扱う現象は、他の生物種を含めても類似の報告がなく、さらに基盤となる仕組みを詳細に明らかにしていくことで優れたインパクトを持つ研究となると考えている。本研究での成果をもとにして、この現象のメカニズムを分子レベル・細胞レベルでさらに解明することを目指して研究を進めていく。

研究成果の概要（英文）：When the mother of the nematode *C. elegans* experiences harmful gut microbes, its embryos undergo additional endodermal cell divisions. The divisions coincide with developmental changes including left-right asymmetric cell alignment and doubled association between endodermal cells and primordial germ cells, leading to improved fecundity. The research was conducted to analyze the molecular mechanisms of this phenomenon. During the research period, we have achieved the following: (1) isolation of mutants in which their embryogenesis is altered even in the absence of harmful microbes, (2) development of an experimental methodology that can detect alternative embryogenesis more effectively, (3) construction of a fluorescence microscope system that can observe molecular localization and cellular structures in the developing embryo with high sensitivity, and (4) discovery of the involvement of a lysosome-related gene in this phenomenon.

研究分野：分子生物学

キーワード：胚発生 エピジェネティクス 表現型可塑性 線虫 動物-微生物相互作用

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物にとって、環境変化に適切に対応することは種の存続のため極めて重要である。特にたった一つの受精卵が個体を美しく形作る胚発生の過程は、環境変化などの摂動に対し驚異的な頑健さ(ロバストネス)を示すことが知られ、その機構が古くから解析されてきた。例えば線虫 *C. elegans* (以下、単に線虫と呼ぶ) は、頑健な発生を起こす動物として知られる。線虫は、胚発生中に正確に 670 回の細胞分裂を起こし、完全に個体差がない発生を行うと信じられてきた(文献)。一方で、環境に適応するために生物が胚発生を積極的に変化させるような可塑性については、そのような現象の発見自体が難しいこともあって、解明が進んでいない。

最近になって研究代表者らは、発生中の線虫胚の全ての細胞核の動態を長期 3D イメージングで追跡する技術(文献)を用いて、様々な環境ストレス下での発生様式の網羅的な解析を行った。その結果、「線虫の母親がグラム陽性 D 群レンサ球菌(ヒト腸球菌)などの有害腸内微生物を経験した場合、その子の胚では内胚葉細胞が過剰に細胞分裂して、細胞の配置が左右非対称に発生する」という選択的な胚発生様式の変化が存在することを発見した(文献)。

さらに様々な解析により、親から子へと伝播するマイクロ RNA などの低分子 RNA がこの変化を制御することを見出した(文献)。しかし、この現象は最近になって発見したばかりで、具体的なメカニズムはほとんど完全に未知である。特に、有害腸内微生物は、どのように宿主に作用し感知されるのか、親が経験した環境情報は、どのように子の細胞へと移動して適切に発現するのか、胚において、どのように左右非対称な胚発生変化が引き起こされるのか、といった問題について、答えはほとんど明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、上記のエピジェネティックな胚発生様式の切り替え現象(選択的胚発生)について、遺伝学的解析を中心として分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

具体的には特に、(A) 腸内微生物が母体に作用する機構、(B) 腸内微生物の情報を母から子に伝達する機構、(C) 胚において左右非対称な発生を起こす機構、の3点について、機能する分子を同定するきっかけとなる、変異体の単離を目指した。

3. 研究の方法

- (1) 線虫胚の発生様式の観察は、線虫の内胚葉細胞核に局在する転写因子 ELT-2 の C 末端が GFP 標識された融合タンパク質を発現させるトランスジーン (*stIs10453*) を持つ株を用いて、Axio Observer 7 (Zeiss 社) ORCA-Fusion BT (Hamamatsu Photonics 社) Apotome 3 (Zeiss 社) 顕微鏡用ワークステーション Z6 (HP 社) などからなる倒立型蛍光顕微鏡システムで行った。
- (2) 順遺伝学的スクリーニングにおける変異導入は、化学変異原であるメタンスルホン酸エチル(EMS)を用いて行った(文献)。EMS 処理後の F1 世代における致死率を測定する条件検討を行い、EMS 濃度を 47 mM として変異導入を行った。

4. 研究成果

- (1) 化学変異原を用いた順遺伝学的スクリーニングにより、有害微生物の非存在下でも胚発生様式が変化するような変異体を単離することに成功し、安定した表現型を示すことを確認した。これらの変異体について、責任遺伝子同定の準備を進めている。責任遺伝子は、変異導入前の株と繰り返し戻し交配をした後に全ゲノムシーケンスを行って、EMS が導入する G/C A/T 置換が集中するゲノム領域とそこに存在する遺伝子変異を検出する方法(文献)で同定する。
- (2) 選択的胚発生をより効果的に検出するための網羅的な実験系の条件検討を行い、微生物に暴露する温度などの条件が選択的胚発生の検出に重要である可能性が見出された。
- (3) 発生中の胚において分子局在や細胞内構造を高感度に観察できる蛍光顕微鏡システムを構築した。
- (4) 様々な変異体を用いた逆遺伝学的解析により、あるリソソーム関連遺伝子の変異体では胚発生変化が亢進することを発見した。時期・細胞特異的レスキュー実験により、この遺伝子が機能する時期・場所を明らかにしていく。また、他のリソソーム関連遺伝子の変異体(3種類)の発生表現型を調べるための株を作製した。腸細胞のリソソームの動態を可視化する株についても、作製の準備を進めている。

立ち上げたばかりの研究室でスムーズに研究・教育環境を整備することができており、これからも本研究での成果をもとにして、この現象のメカニズムを分子レベル・細胞レベルで解明する

ことを目指して研究を進めていく。

<引用文献>

- J. E. Sulston et al.: *Dev. Biol.* **100**, 64-119, 1983.
Z. Du et al.: *Cell* **156**, 359-372, 2014.
H. Ohno and Z. Bao: *Science Adv.* **8**, eabl7663, 2022.
S. Brenner: *Genetics* **77**, 71-94, 1974.
S. Zuryn: *Genetics* **186**, 427-430, 2010.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

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

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			
米国	スローンケタリング記念癌センター			