

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26292178

研究課題名(和文)Caenorhabditis 属線虫を用いた新たなサテライトモデル系の構築

研究課題名(英文)Establishment of new satellite model system using Caenorhabditis sp.

研究代表者

神崎 菜摘(Kanzaki, Natsumi)

国立研究開発法人 森林総合研究所・きのこ・森林微生物研究領域・主任研究員

研究者番号：70435585

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：モデル生物、Caenorhabditis elegans 近縁種であり、イチジクコバチ便乗性、イチジク果実内生息性という生態的に特殊な形質を持つ、Caenorhabditis sp. 34 (未記載種)に関して、分類学的位置づけ、生態的特性、胚発生過程を明らかにし、ドラフトゲノム情報、発生学的形質に関する情報を得た。本種は、C. elegans に最も近縁であるにもかかわらず、形態、生体、生理的特性が大きく異なっていること、しかし、変異体解析などは C. elegans と一部同様のものが有効であることから、進化生物学的見地から、新たなサテライトモデル系として広く利用可能であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Taxonomical, ecological, genomic and developmental features of an undescribed species, Caenorhabditis sp. 34 were examined to establish a new satellite model system. Regardless of its phylogenetic closeness to a model organism C. elegans, the basic biological features of undescribed species were clearly different from C. elegans, suggesting that the undescribed species can be an interesting satellite model system, especially for evolutionary biology.

研究分野：線虫学

キーワード：ゲノム 胚発生 進化 モデル生物 イチジクコバチ Caenorhabditis elegans 生態 分類

### 1. 研究開始当初の背景

自由生活性線虫の一種 *Caenorhabditis elegans* はその培養や観察の容易さなどから、基礎生物学のみならず、医学、薬学方面でも利用されているモデル生物である。しかし、本種の生活史は比較的単純であり、他生物種との相互関係などの特性を持たないため、本種には無い生態的特性を持つ近縁種群がこの知見を補うために用いられている。このような近縁種群をサテライトモデルと呼び、近年ではこれらを用いての解析が盛んに行われ、生殖様式の決定機構や寿命制御機構などについて興味深い成果が発表されている。本課題申請者はこれまで、線虫類を対象として、分類学、生態学的研究を行ってきており、この過程で、日本国内産のイチジク属植物の果実内に未記載の *Caenorhabditis* sp. が生息していることを発見した。これまで、生きた植物体内に生息する *Caenorhabditis* 属線虫の報告はないことから、申請者の発見は植物と深いインタラクションを持つ初の *Caenorhabditis* 属線虫となる。本線虫は特異的にイチジクを利用していることから本線虫は植物という特殊環境への適応過程にあると考えられ、植物寄生研究のモデルとなりうる。すなわち、これまでに報告されているモデル系では全く明らかにされていなかった生理、生態的特性を持つ種群である。

### 2. 研究の目的

*Caenorhabditis* sp. の分類学的記載、系統的位置づけと生態的特性を解明し、モデルとして用いるための基礎的情報の提供を行う。続いて、線虫株の系統純化を行い、これを用いて、全ゲノム配列解析、発現遺伝子解析を行い、線虫株、およびこれらの遺伝子関連情報をモデル系として利用可能な形で公開する。さらに、モデル系としての利用可能性を実証するため、これまで *Caenorhabditis* 属でも十分な研究がなされていなかった分野、宿主昆虫、植物とのインタラクションに注目して比較ゲノム、比較発現遺伝子解析を行い特徴的な遺伝子について明らかにする。

### 3. 研究の方法

最初に材料とする *Caenorhabditis* sp. の野外試料の採集を行い、これに基づいて記載命名、生物学的性状(生息環境、摂食様式、媒介昆虫利用様式など)に関する調査を行い、材料としての基礎的情報を取得する。同時に、実験室内で単雌培養を複数世代繰り返すことにより、系統純化を行い、実験室株を構築する。これを用いて、ゲノム、発現遺伝子解析を行い、モデル系としての基礎を構築する。この結果を基に、比較ゲノム解析、昆虫、植物との相互関係における発現遺伝子解析を行い、モデル系としての有用性を実証する。また、主要材料である *Caenorhabditis* sp. の調査、室内実験と並行し、イチジク属植物

の果実、及びイチジクコバチを中心に昆虫、環境中からの線虫分離を行い、他の *Caenorhabditis* 属線虫や生理生態的に特殊な形質を持つ線虫種の採集、実験系統の確立を試み、可能な限り多くのモデル系候補種を取得する。昆虫、環境中からの線虫分離、培養系の確立は、一般的手法に従って行う。ここでは、各種の系統的位置づけと、生殖様式、摂食様式(食餌源の多様化)、寄生性の獲得などの生理生態的特性に着目し、進化、生理生態などのモデル系、研究材料となり得る種をピックアップする。

### 4. 研究成果

本研究の主要材料であるイチジクコバチ便乗性線虫、*Caenorhabditis* sp. 34 に関して、分類学的位置づけ、生態的特性、胚発生過程を明らかにし、ドラフトゲノム情報を取得した。本年度はこれらの情報の整理、追加解析を行い、論文としての原稿作成を目指した。この結果、本種は、これまでに知られている中では、モデル生物である *Caenorhabditis elegans* に系統的には最も近縁な種であるにも関わらず、昆虫(イチジクコバチ)便乗性で、オオバイヌビワの新鮮な果実内部でのみ増殖を行うという、線虫類全般の中でも非常に珍しい生態的特性を持つことが示された。また、発生過程においては、腸壁構成細胞において、核の倍化回数が近縁他種に比べて多くなるという発生、形態形成制御においても一般的には知られていない特殊化がみられた。また、ゲノム解析では、これまでに得られた情報に加え、追加してのゲノム塩基配列決定、発現遺伝子解析を行った結果、ゲノム情報のアセンブリが終了し、染色体数、遺伝子の配列、構成遺伝子セットにおいては近縁他種と大きな違いは無く、個々の遺伝子産物、発現制御においての特殊化が非常に大きくなっているということが想定された。また、本種に近縁の別種 sp. 35 に関して分類学(形態学)的解析、系統学的解析が終了し、本種が sp. 34 と同様の特殊化を行う姉妹種であること、形態的にも sp. 34 と若干の違いがあることが確認された。また、昆虫嗜好性モデルとして用いた *C. japonica* についても、ゲノム情報のアップデートが完了している。これらの結果から、ここで解析対象とした線虫種が新たなサテライトモデル系として広く利用可能であると考えられた。加えて、本研究の調査過程で、口腔形態の多型を示し、形態形成に関するモデル系とされる *Pristionchus* 属、生殖様式の特殊化がみられる未記載属など、新たな研究材料となり得る線虫種が多数得られており、これらに関する詳細な解析により、重要な成果が期待される。さらに、*Caenorhabditis* sp. の生息域として調査対象としたイチジク属植物の果実内部から、複数の未記載種、特にマツノザイセンチュウと同属でありながら完全に植物寄生に適応した *Bursaphelenchus*

*sycophilus* など、検出され、これらは、その生態的特性も含め、新種記載を行った。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計27件)

Wöhr M, Greeff JM, Kanzaki N, Ye W, Giblin-Davis RM (2014) Molecular and morphological observations of *Parasitodiplogaster sycophilon* Poinar 1979 (Nematoda: Diplogastrina) associated with *Ficus burkei* in Africa. *Nematology* 16: 453-462. (査読有)

Kanzaki N, Tanaka R, Giblin-Davis RM, Davies K (2014) New plant-parasitic nematode from the mostly mycophagous genus *Bursaphelenchus* discovered inside figs in Japan. *PLoS ONE* 9: e99241. doi10.1371/journal.pone.0099241 (査読有)

Kanzaki N, Giblin-Davis RM, Ye W, Herre EA, Center BJ (2014) *Parasitodiplogaster* species associated with *Pharmacosycea* figs in Panama. *Nematology* 16: 607-619. (査読有)

Kanzaki N, Giblin-Davis RM, Carrillo D, Duncan R, Gonzalez R. (2014) *Bursaphelenchus penai* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae), a phoretic associate of ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytinae) from avocado in Florida. *Nematology* 16: 683-693. (査読有)

Kanzaki N, Akiba M (2014) Isolation of *Bursaphelenchus muctonatus kolymensis* from *Monochamus nitens* from Japan. *Nematology* 16: 743-745. (査読有)

Kanzaki N, Ragsdale EJ, Giblin-Davis RM (2014) Revision of the paraphyletic genus *Koerneria* Meyl, 1960 and resurrection of two other genera of Diplogastridae (Nematoda). *Zookeys* 442: 17-30. (査読有)

Kanzaki N, Akiba M, Kanetani S, Tetsuka K, Ikegame H (2014) *Bursaphelenchus osumiana* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae) isolated from dead *Pinus armandii* var. *amamiana* in Osumi Islands in Japan. *Nematology* 16: 903-916. (査読有)

Kanzaki N, Li H-F, Lan Y-C, Giblin-Davis R.M (2014) Description of two *Pseudaphelenchus* species (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae) associated with Asian termites and proposal of new subfamily Tylaphelenchinae n. subfam. *Nematology* 16: 963-978. (査読有)

Kanzaki N, Woodruff GC, Tanaka R (2014) *Teratodiplogaster variegatae* n. sp.

isolated from the syconia of *Ficus variegata* Blume on Ishigaki Island, Okinawa, Japan. *Nematology* 16: 1153-1166. (査読有)

Susoy V, Ragsdale EJ, Kanzaki N, Sommer RJ (2015) Rapid diversification associated with a macroevolutionary pulse of developmental plasticity. *eLife* 4, e05463 (査読有) DOI: <http://dx.doi.org/10.7554/eLife.05463>

Wöhr M, Greeff JM, Kanzaki N, Giblin-Davis RM (2015) *Parasitodiplogaster salicifoliae* n. sp. (Nematoda: Diplogastrina) from *Ficus ingens* and *F. salicifolia* in South Africa. *Nematology* 17: 301-311. (査読有)

Kanzaki N, Giblin-Davis RM (2015) *Rhabditoides humicolus* n. sp. associated with arthropods from rotting palm tissue in Florida. *Nematology* 17: 487-498. (査読有)

Kanzaki N (2015) Comments on the stylet of *Sheraphelenchus sucus* Kanzaki & Tanaka, 2013. *Nematology* 17: 499-500. (査読有)

Kanzaki N, Okabe K, Kobori Y (2015) *Bursaphelenchus sakishimanus* n. sp. (Tylenchomorpha: Aphelenchoididae) isolated from a stag beetle, *Dorcus titanus sakishimanus* Nomura (Lucanidae), on Ishigaki Island in Japan. *Nematology* 17: 531-542. (査読有)

Kanzaki N, Woodruff GC, Akiba M, Maehara N (2015) *Diplogasteroides asiaticus* n. sp. is associated with *Monochamus alternatus* in Japan. *Journal of Nematology* 47: 105-115. (査読有)

Davies KA, Bartholomaeus F, Kanzaki N, Ye W, Giblin-Davis RM (2015) A review of the taxonomy, phylogeny, distribution and co-evolution of *Schistonchus* (Nematoda: Aphelenchoididae) and proposal of *Ficophagus* n. gen. and *Martininema* n. gen. *Nematology* 17: 761-829. (査読有)

Kanzaki N, Giblin-Davis RM, Ragsdale EJ (2015) *Allodiplogaster josephi* n. sp. and *A. seanin* n. sp. (Nematoda: Diplogastridae), associates of soil-dwelling bees in the eastern USA. *Nematology* 17: 831-863. (査読有)

Susoy V, Herrmann M, Kanzaki N, Kruger M, Nguyen CN, Rödelsperger C, Röseler W, Weiler C, Giblin-Davis RM, Ragsdale EJ, Sommer RJ (2016) Large-scale diversification without genetic isolation in nematode symbionts of figs. *Science Advances* 2: e1501031. (査読有)

Kanzaki N, Aikawa T, Maehara N, Thu PQ (2016) *Bursaphelenchus kesiyae* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae), isolated from dead wood of *Pinus kesiyae* Royle ex

Gordon (Pinaceae) from Vietnam with proposal of new subgroups in the *B. fungivorus* group. *Nematology* 18: 133-146. (査読有)

Kanzaki N, Okabe K, Kajimura H (2016) *Rhabditoides aegus* n. sp., an associate of stag beetles and sap flow in Japan. *Nematology* 18: 195-208. (査読有)

⑲ Kanzaki N, Ide T (2016) *Diplogasteroides luxuriosae* n. sp. associated with *Acalolepta luxuriosa* (Cerambycidae) from Japan. *Nematology* 18: 221-233. (査読有)

⑳ Kanzaki N, Giblin-Davis RM, Ye W, Herre EA, Center BJ (2016) Recharacterization of three *Parasitodiplogaster* species based on morphological and molecular profiles. *Nematology* 18: 417-437. (査読有)

㉑ Kanzaki N (2016) Stomatal dimorphism of *Neodiplogaster acaloleptae* (Diplogastromorpha: Diplogastridae). *PLoS ONE* 11: e0155715. (査読有)

㉒ Kanzaki N, Sakamoto H, Maehara N (2016) *Diplogasteroides nix* n. sp. (Nematoda: Diplogastridae), a cryptic species related to *D. andrassyi*, isolated from *Monochamus urussovii* (Coleoptera: Cerambycidae) from Hokkaido, Japan, with remarks on the body surface structures. *Nematology* 18: 753-773. (査読有)

㉓ Kanzaki N, Giblin-Davis RM, Gonzalez R, Trujillo Y, Hajek AE (2016) Tylenchid entomoparasites isolated from *Spondylis buprestoides* (L.) and *Asemum striatum* (L) (Coleoptera: Cerambycidae). *Nematology* 18: 775-780. (査読有)

㉔ Sriwati R, Takeuchi-Kaneko Y, Jauharlina J, Kanzaki N (2017) Aphelenchoidid nematodes associated with two dominant *Ficus* species in Aceh, Indonesia. *Nematology* 19: 323-331. (査読有)

㉕ Davies KA, Ye W, Center BJ, Kanzaki N, Bartholomaeus F, Herre EA, Esquivel A, Giblin-Davis RM (2017) Two new species and three morphospecies of *Ficophagus* Davies & Bartholomaeus, 2015 (Nematoda: Aphelenchoididae) from *Ficus* subgenus *Pharmacosyceae* (Moraceae) in Central America. *Nematology* 19: 351-374. (査読有)

〔学会発表〕(計 0 件)

該当無し

〔図書〕(計 5 件)

Kanzaki N (2016) Current status of entomophilic nematode survey in Japan. In: Species diversity of animals in Japan. Motokawa, M. & Kajihara, H. (eds). Japan, Springer Japan, 285-317.

Kanzaki N, Giblin-Davis RM (2015)

Diplogastrid systematics and phylogeny. In: *Pristionchus pacificus* - a nematode model for comparative and evolutionary biology. *Nematology Monographs and Perspectives* vol. 11. Sommer, R.J., Hunt, D.J. & Perry, R.N. (eds). The Netherlands, Brill, pp. 43-76.

〔産業財産権〕

該当無し

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

該当無し

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

神崎 菜摘 (KANZAKI, Natsumi)

国立研究開発法人森林総合研究所・きのこ・森林微生物研究領域・主任研究員  
研究者番号: 70435585

### (2) 研究分担者

菊地 泰生 (KIKUCHI, Taisei)

宮崎大学・医学部・准教授  
研究者番号: 20353659

### (3) 連携研究者 (H26 年度)

長谷川 浩一 (HASEGAWA, Koichi)

中部大学・応用生物学部・講師  
研究者番号: 10609837

### (4) 研究協力者 (H27, 28 年度)

田中 龍聖 (TANAKA, Ryusei)

宮崎大学・医学部・助教  
研究者番号: 70723550