

## ストレス条件下における遺伝子発現機構に関する基礎研究 ～非モデル生物からの挑戦

### 【代表者】

上村了美 大阪市立大学 理学研究科 研究員

### 【共同研究者名】

古賀庸憲 和歌山大学 教育学部 教授

### 【研究概要（新鋭書より抜粋）】

ストレスが遺伝子発現機構に影響を及ぼすことはマウスやショウジョウバエなどのモデル生物で明らかにされつつあるが、他方、非モデル生物では、ストレスと遺伝子発現の関係が解明された事例はほとんどない。非モデル生物を研究対象にすることによって、モデル生物にはない独自の、また多様な遺伝子発現機構を発見できる可能性があり、この発見が既存の概念に新たな展開をもたらすことが期待される。

ヤドカリ類は生き残るために独自の進化をとげた非モデル生物である。ヤドカリ類の最大の特徴は身体を保護する殻（他が生産したもの）を背負っていることであるが、この殻は対捕食者戦略として万全ではないことが近年の研究から指摘されている。さらに捕食者ストレスは繁殖行動、殻の選択および自切などの行動に対する短期的な影響と、成長や生残への長期的な影響があるとされている。遺伝子発現はこのような行動や生理活動よりも迅速に応答していると考えられるが、捕食者ストレスがヤドカリ類の遺伝子発現機構にどのような影響を及ぼすのか全く明らかにされていない。非モデル生物の遺伝子発現機構の解明は、近年の次世代シーケンサーならびにバイオインフォマティック手法の発展により、限られた時間でも行うことが可能となっている。しかしながら現在のバイオインフォマティック手法には問題点もあり、慎重に検討する必要がある。

本研究は、非モデル生物であるヤドカリ類の捕食者ストレス環境下における遺伝子発現機構を解明することを目的とし、研究の過程において、非モデル生物の遺伝子発現機構を解明する手法の改善・検討を行い、多様な遺伝子発現機構の発見とそれにより既存の研究に新たな展開をもたらすことを目指すものである。

## 【研究成果（報告書より抜粋）】

本研究は、非モデル生物であるヤドカリ類の捕食者ストレス環境下における行動特性と遺伝子発現機構を解明することを目的とし、研究の過程において、非モデル生物の遺伝子発現機構を解明する手法の改善・検討を行い、多様な遺伝子発現機構の発見とそれにより既存の研究に新たな展開をもたらすことを目指すものである。本研究では1) 捕食者ストレス環境下における飼育および2) DNA/RNA シーケンスによるリファレンス配列の作成と発現量解析を行った。飼育実験では、テナガツノヤドカリとその捕食者である大型甲殻類（イシガニ）を実験に用いた。捕食者のいない水槽（コントロール）と捕食者のいる水槽で別々の個体を一定期間飼育し、その間の行動をビデオカメラで記録し、ストレス状況下の行動を解析・評価した。その結果、捕食者のいる水槽で飼育した個体の方が、水槽内の移動が少ないという統計上有意な傾向が得られた（ANOVA と Welch's t-test 共に）。すなわち、動きを少なくして捕食者に見つからないようにしていると解釈される。また、水槽壁面に設置したネットに長時間登っている個体が、捕食者のいる水槽で飼育した個体の一部に見られた。これらの個体は、捕食者から積極的な逃避を試みた可能性がある。したがって、テナガツノヤドカリは捕食者が近くにいることを認識して、行動を変化させていることが示された。

発現量解析では、まず、近縁種（ヨーロッパホンヤドカリ）、対象種のテナガツノヤドカリの RNA-seq データおよびテナガツノヤドカリの DNA-seq データについて、リファレンス配列を作成し、配列の長さや正確性の比較を行った。その結果、テナガツノヤドカリ RNA-seq データから作製した配列が比較的長く、正確性も高かった。これをリファレンスとして発現変動を解析したところ、コントロールと捕食者のいる条件下では、159 個の contig 配列について発現変動が検出された。発現変動を示した contig 配列には、コントロールよりも、捕食者のいる条件下において発現量が増加しているものが多く見られた。発現変動を示した contig 配列の中で機能が明らかになったのは約 1 割であったが、collagen や cuticle など生体に必須のタンパク形成に関連するものや節足動物に特有の遺伝子の一部が含まれていた。collagen や cuticle は脱皮と関連があると考えられる。コントロールと捕食者のいる条件下では脱皮をした個体数に差はなかったが、脱皮に関連する遺伝子発現には捕食者の存在が影響したことを示唆している。

以上の結果から、捕食ストレス環境下にあるヤドカリ類の行動特性と遺伝子発現のいくつかの特徴が明らかとなった。本研究からテナガツノヤドカリが対捕食者戦略として動きを少なくしていることが示されたが、捕食者の認識を説明するような嗅覚や行動を支持する可能性のある代謝に関する遺伝子を検出できなかった。本研究のデータから機能が明らかになった contig 配列の数が既報の論文と比較して少ないことがその一因であると考えられ、今後は本研究のデータに適したバイオインフォマティクス的手法をさらに検討する必要がある。