

PRESS RELEASE

令和 5 年 1 月 3 1 日

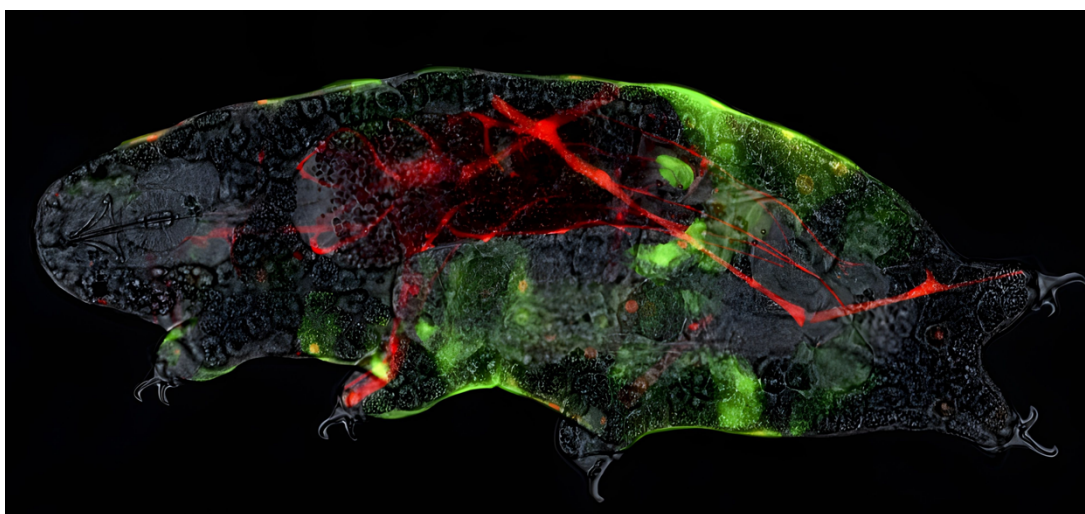
自然科学研究機構 生命創成探究センター

慶應義塾大学 先端生命科学研究所

自然科学研究機構 基礎生物学研究所

クマムシゲノム由来の DNA 配列を用いて、 光るクマムシの作出に成功

—水のない生命の仕組みの解明を目指して—



写真：クマムシの遺伝子発現システム TardiVecにより、表皮に緑色蛍光タンパク質 GFP を、筋肉に赤色蛍光タンパク RFP を発現するクマムシ(田中 冴 撮影)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構 生命創成探究センター（以下、ExCELLS）の田中 冴 特任助教（慶應義塾大学 先端生命科学研究所 所員）と慶應義塾大学 先端生命科学研究所 荒川和晴 教授のグループは、ExCELLS／基礎生物學研究所の青木一洋 教授と共同で、極限環境耐性生物であるクマムシに緑色蛍光タンパク質(GFP) ^{*1}などの外来遺伝子を発現させることに世界で初めて成功しました。

研究グループは、クマムシのゲノム由来の配列を用いた遺伝子発現ベクター^{*2}「TardiVec」を新たに開発し、それらが遺伝子ごとに組織特異的な発現を示すこと、および、複数のクマムシ種において機能することを発見しました。クマムシの細胞内におけるタンパク質の挙動が観察できるようになることで、クマムシのもつ乾眠^{*3}という能力を可能にしているメカニズムの解明につながることを期待されます。

本研究成果は、国際科学雑誌「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (米国科学アカデミー紀要)」(2023 年 1 月 31 日付、オンライン版 2023 年 1 月 24 日付公開, 解禁日時の設定なし) に掲載されました。

本研究のポイント

1. GFP などを一過的に発現するクマムシを世界で初めて作出した。
2. クマムシゲノム由来の配列を含む遺伝子発現ベクターを開発し、それらをクマムシ個体に導入することで、クマムシ特異的な遺伝子の発現箇所や GFP 融合タンパク質の挙動を明らかにした。
3. クマムシのもつ乾眠能力の分子メカニズムを明らかにすることで、生体や食品の完全な乾燥保存方法の開発に繋がることを期待される。

研究背景

水は生命にとって必須です。その一方で、クマムシは周辺環境が乾燥すると「乾眠」と呼ばれる無水状態になります。この状態のクマムシはさまざまな極限的なストレスにも耐えることができ、宇宙空間への曝露後も生存することが可能です。18 世紀にこの現象が発見されて以降、どのようにして無水状態になり、また、復帰できるのかに興味がもたれてきました。このような乾眠を可能にする分子メカニズムを明らかにするため、これまでにクマムシのゲノム解読やクマムシ固有タンパク質の解析がおこなわれてきました。しかしながら、クマムシ個体や細胞に対して GFP などの外来遺伝子を導入する方法がこれまで存在しなかったため、これまでの解析は非常に限定的なものに留まっていました。

研究内容

本研究では、クマムシに外来遺伝子を導入するために、クマムシのゲノムから各種の遺伝子の発現に必要な領域を抽出して、クマムシ特異的な遺伝子発現ベクターを新たに開発し、「TardiVec (Tardigrade vector クマムシのベクター)」と名付けました (図 1)。マイクロインジェクション^{*4}などを用いてこれらをクマムシに直接導入したところ、クマムシ細胞内で発現ベクターが機能し、GFP などの外来遺伝子が発現することが分かりました。TardiVec は由来となる各遺伝子の発現組織も維持しており、この特性を利用して、クマムシ固有遺伝子が、クマムシの全身で等しく発現しているのではなく、組織特異的な発現パターンをもっていることを初めて示しました (図 2)。

クマムシへのマイクロインジェクションと光るクマムシの動画

<https://youtu.be/WyLI98I7Es>



研究の成果と意義

乾眠状態のクマムシは給水により 15 分ほどで活動を開始します。このような驚くべき能力をもつクマムシは、食品などの生体保存のよい手本であると考えられます。本研究で開発した TardiVec は、クマムシ細胞内に GFP などの外来遺伝子を発現させることにより、タンパク質の挙動をリアルタイムで観察することを可能にしました。また、細胞内環境をモニタリングできるタンパク質を発現することも可能であり、これまで世界の誰も見たことのない、クマムシの脱水・給水におけるダイナミックな変化を追いかけることも可能になりました。

今後の展望

今後はこの TardiVec を用いて、クマムシの細胞内や身体全体で実際にどのような変化が乾眠の過程で起きているのかを観察することで、脱水に伴って生命活動を一時停止させるメカニズムを明らかにしていきたいと考えています。このようなメカニズムの解明が食品・生体などの完全な乾燥保存方法の確立に貢献し、また、生命体と水がどのような関係にあるのかをわれわれに教えてくれるだろうと期待して

います。

論文情報

雑誌名: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

論文名: *In vivo* expression vector derived from anhydrobiotic tardigrade genome enables live imaging in Eutardigrada

著者: Sae Tanaka*, Kazuhiro Aoki, Kazuharu Arakawa* (*責任著者)

DOI: 10.1073/pnas.2216739120

掲載 URL: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2216739120>

特記事項

本研究は、学術変革領域研究(A)「非ドメイン型バイオポリマーの生物学」21H05279; 荒川和晴・田中 冨、挑戦的研究(萌芽) 22K19302・若手研究 20K15781; 田中 冨、ExCELLS 課題研究 19-208・19-501; 荒川和晴、ExCELLS 先端共創プラットフォーム(物質-生命の境界探査) 22EXC601; 荒川和晴、山形県、鶴岡市等の支援を受けて実施されました。

(用語説明)

*1 緑色蛍光タンパク質(GFP)

青色光を照射することにより、緑色の蛍光を発するタンパク質。今回の実験では、遺伝子発現ベクターがクマムシ細胞内で機能するか否かを判断する目的で使用している。また、クマムシ固有のタンパク質は通常では検出できないため、末端に GFP を融合した状態でクマムシ細胞内に発現させることで、それらの細胞内局在などを蛍光顕微鏡下で観察することが可能になる。

*2 遺伝子発現ベクター

導入した細胞の核内で外来遺伝子を発現し、それに由来するタンパク質を新たに合成させるために使用される環状の DNA のこと。

*3 乾眠

クマムシをはじめとするいくつかの生物がもつ特性で、周辺環境の乾燥に伴って、含水量約 3%まで脱水し、代謝機能を一時停止させることができる。このような状態であれば、真空や高線量放射線にも耐えることができるため、宇宙空間への曝露実験もおこなわれた。

*4 マイクロインジェクション

ガラス針を使用し、DNA 溶液などを個体や細胞に注入する方法。顕微注入とも呼ばれる。

<お問い合わせ先>

(本資料の内容に関するお問い合わせ)

自然科学研究機構 生命創成探究センター 特任助教

慶應義塾大学 先端生命科学研究所 所員

田中 冴

E-mail: sae-tanaka@ims.ac.jp

慶應義塾大学 先端生命科学研究所 教授

自然科学研究機構 生命創成探究センター 客員教授

荒川 和晴

TEL: 0235-29-0571

E-mail: gaou@sfc.keio.ac.jp

(広報に関するお問い合わせ)

自然科学研究機構 生命創成探究センター 研究戦略室

TEL : 0564-59-5885 FAX : 0564-59-5202

E-mail : press@excells.orion.ac.jp

慶應義塾大学 先端生命科学研究所 渉外担当

TEL : 0235-29-0802

E-mail : pr2@iab.keio.ac.jp

自然科学研究機構 基礎生物学研究所 広報室

TEL: 0564-55-7628 FAX : 0564-55-7597

E-mail : press@nibb.ac.jp

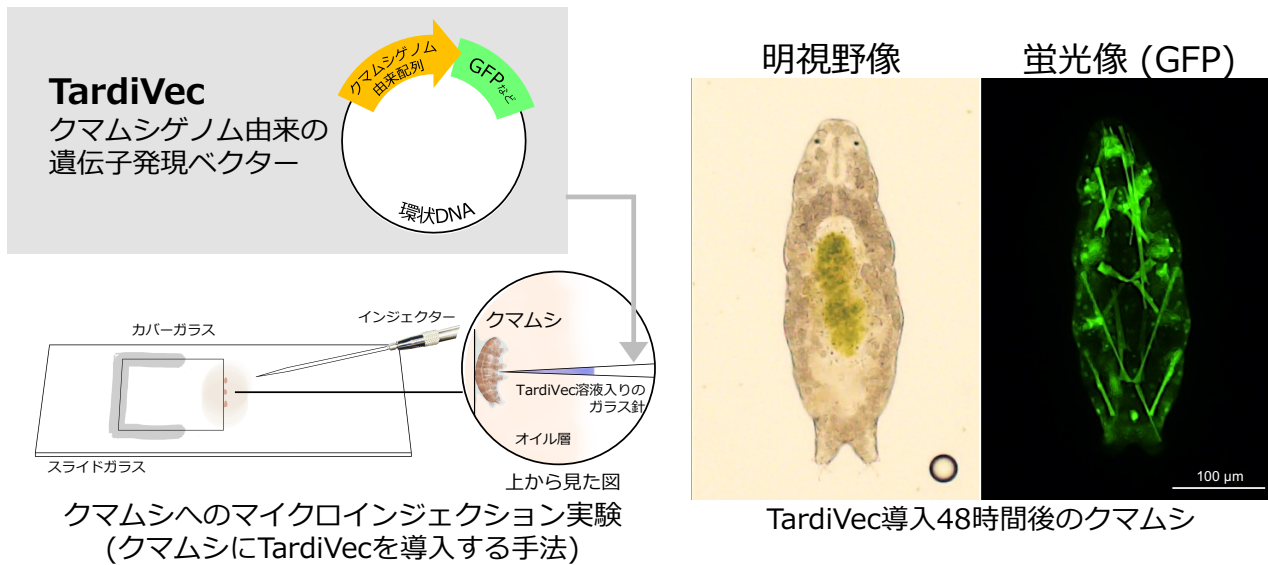


図 1. クマムシベクターTardiVec により GFP を発現するクマムシ.

クマムシゲノム由来の配列を含む DNA ベクター「TardiVec」を、マイクロインジェクションによりクマムシに直接導入しました(左)。導入後 48 時間経過したクマムシでは、TardiVec に組み込んだ外来遺伝子である GFP 由来の蛍光が観察されました(右)。線状に見えるものは、GFP 蛍光を発するクマムシの筋肉組織です。

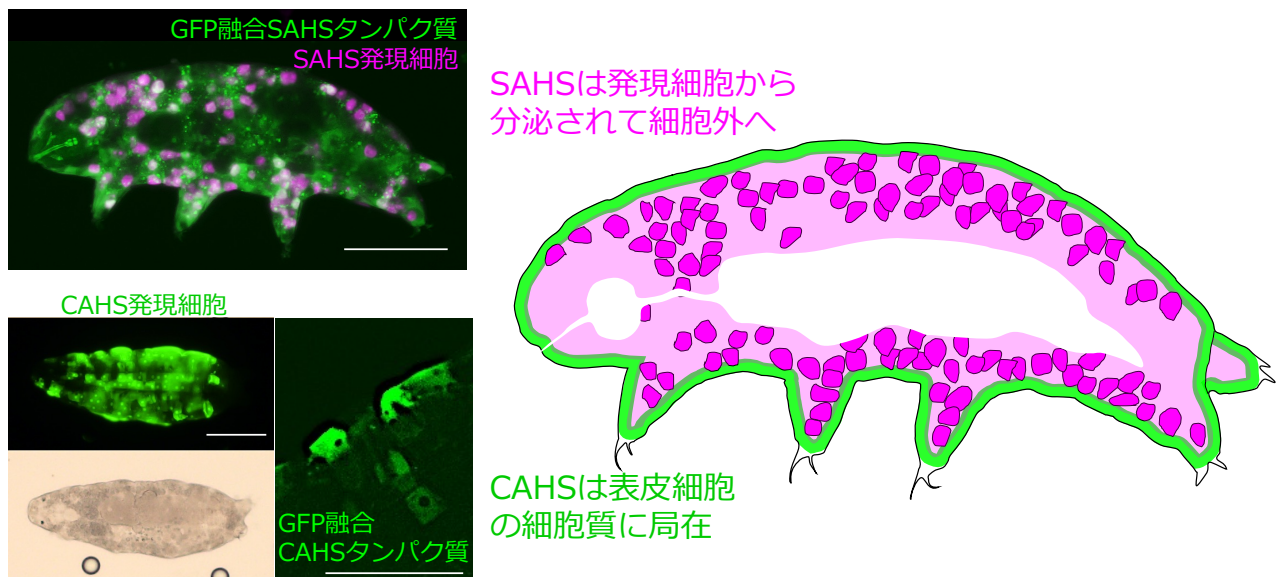


図 2. クマムシ特異的遺伝子 SAHS・CAHS の発現領域と局在.

クマムシ特異的な遺伝子である SAHS・CAHS は、乾眠に関わると考えられている遺伝子です。クマム

シの体の中でこれらがどのように発現しているのか、これまで不明でしたが、TardiVec により SAHS 遺伝子はクマムシ体腔に浮遊する貯蔵細胞に主に発現し、その後 SAHS タンパク質は細胞外へ分泌されて全身に広がること、CAHS 遺伝子は体表の細胞に主に発現し、CAHS タンパク質は発現した細胞の細胞質に局在することがわかりました。

左図は実際の蛍光写真。左上に SAHS、左下に CAHS の発現細胞と GFP 融合型のタンパク質の局在を示しました。右図は結果に基づくモデル図。ピンクで SAHS 発現細胞と SAHS タンパク質が全身に広がっている様子を、緑で CAHS 発現細胞が体表に存在していることを示しました。