

2018年12月19日

報道関係者各位

慶應義塾大学
理化学研究所
山陽小野田市立山口東京理科大学
農業・食品産業技術総合研究機構（農研機構）

乾燥しても死なない細胞はなぜ死なずに生き返ることができるのか？

－ Pv11 細胞の乾燥耐性および再水和復活メカニズムの示唆 －

慶應義塾大学工学部生命情報学科の山田貴大助教と舟橋啓准教授、カザン大学の Ruslan Deviatiiarov 博士、Alexander Nesmelov 博士、理化学研究所の Oleg Gusev ユニットリーダー、山陽小野田市立山口東京理科大学の広井賀子教授、および農研機構の末次克行主任研究員、Richard Cornette 上級研究員、黄川田隆洋上級研究員らのグループは、乾燥させても死なず、水を与えることで再び細胞分裂が再開する Pv11 細胞の乾燥耐性という不思議な現象に着目し、トランスクリプトーム解析を通して、このメカニズムに関与する遺伝子の推定を行いました。この結果、乾燥に対する耐性を誘導するためには、生体にとって障害となる活性酸素の影響を除去する遺伝子や、水を与えられることで乾燥時にダメージが蓄積した DNA を修復する遺伝子が高発現することを明らかにしました。これらの成果から、推定した遺伝子群を、乾燥耐性を持たない別の生物に遺伝子導入することで、乾燥しても死なない新たな生物の創生が期待されます。

本研究成果は学術雑誌 *Scientific Reports* への掲載に先立ち、同誌 Web サイトにてオンライン速報版が 2018 年 12 月 18 日（火）（英国時間）に公開されました。

1. 本研究のポイント

- ・常温で乾燥しても増殖能力を維持したまま保存が可能なネムリユスリカの胚由来培養細胞である Pv11 細胞のトランスクリプトーム解析を行い、このメカニズムに寄与しうる遺伝子を推定した。
- ・Pv11 細胞が乾燥耐性を誘導するために必要なトレハロース（※1）処理によって、乾燥時に発生する生体にとって有害となる活性酸素の影響を除去するチオレドキシニンなどの抗酸化因子が高発現することを明らかにした。
- ・一旦乾燥した Pv11 細胞を再水和させたときには、深刻な DNA の障害を修復する遺伝子が高発現することを明らかにした。

2. 研究背景

ネムリユスリカの幼虫はアフリカ原産の昆虫であり、乾季において完全な乾燥を経ても無代謝状態に入ることで死を回避し、水を与えられることで再び元の生活環に戻ることができる乾燥耐性を持っています。このネムリユスリカの胚由来の培養細胞として Pv11 細胞が 2002 年に樹立されました。この Pv11 細胞は高濃度のトレハロースで処理することで、増殖能力を保ったまま常温で乾燥保存することができます。この Pv11 細胞の乾燥耐性は、1) トレハロース処理による乾燥耐性の誘導、2) 乾燥による代謝の完全停止、3) 培地を再び与える再水和による蘇生、という一連の過程を経て達成されます。しかし、これらの過程においてどのような遺伝子が関与しているかという網羅的な解析は行われておらず、Pv11 細胞の乾燥耐性はベールに包まれていました。そこで本研究グループは、Pv11 細胞のトレハロー

ス処理時、乾燥時及び再水和時の全遺伝子の発現量を時系列 CAGE-seq (※2) データとして取得し、これを解析することにより各段階で働く特徴的な遺伝子の推定を試みました。各段階で働く特徴的な遺伝子は、トレハロース処理や乾燥、再水和によって発現が大きく変化していると考えられます。本研究では、このような遺伝子を発現変動遺伝子 (DEG: Differentially Expressed Gene) として統計解析により検出し、遺伝子の機能に基づき、どのような機能を持った遺伝子がそれぞれの段階で有意に存在するかを解析することで、各段階における特異的な生理現象を支える分子機構の示唆を行いました。

3. 研究内容・成果

まずトレハロース処理前及び処理後 48 時間、その後乾燥 3 時間及び 10 日間、そして再水和後 3 時間及び 24 時間後の Pv11 細胞を用いて total RNA を採取し CAGE-seq と呼ばれる方法により全遺伝子の発現量を定量しました。その結果、まず全遺伝子の発現パターンは図 1 に示すようにトレハロース処理、乾燥を経て通常とは異なる状態になり、再水和により元の状態に戻っていくことが明らかになりました。続いてトレハロース処理時、乾燥時及び再水和時の DEG を統計解析により検出しました。

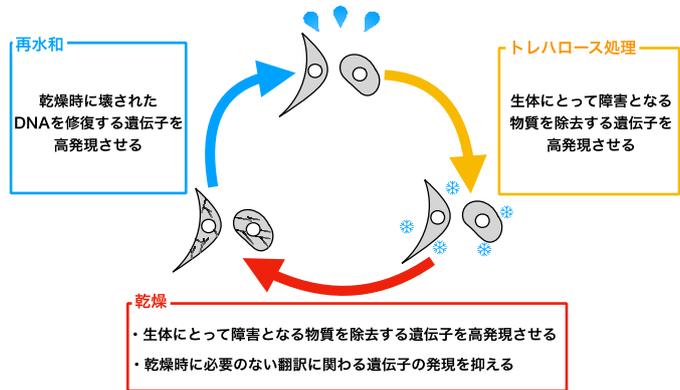


図 1 Pv11 細胞のトレハロース処理、乾燥、再水和における遺伝子の発現変動の概念図

トレハロース処理時における DEG においては、その多くの遺伝子が、生体にとって有害となる活性酸素によって生み出される過剰な酸化物質を分解する抗酸化因子 (例えば、チオレドキシニンなど) が占めていました。すなわち、トレハロース処理は、生体機能の障害となる物質を除去する遺伝子を発現させることで、乾燥耐性機能を発揮させる準備段階であることが示唆されました。続いて乾燥時の DEG に注目すると、トレハロース処理時と同様に生体にとって有害となる物質を除去する遺伝子の高発現が見られたことに加えて、タンパク質の翻訳に関わるリボソームタンパク質が有意に発現を減少させていることが明らかとなりました。このことから、Pv11 細胞が、乾燥に応じて必要なくなる遺伝子の発現を抑えることで省エネルギー化を達成している可能性が示唆されました。そして再水和時の DEG に注目すると、DNA を修復するために働く遺伝子が発現上昇していました。再水和過程は、乾燥に伴って蓄積した DNA へのダメージを治すことで、細胞の機能を通常の状態に戻す役割を持っている可能性が示唆されました。

4. 今後の展開

現段階では遺伝子発現の増減を元に、トレハロース処理、乾燥及び再水和に伴って働く遺伝子の推定が行えましたが、これらの遺伝子が、実際に Pv11 細胞が乾燥しても死なず再び培地を与えることで生き返るために必須であるかどうかはまだ明らかになっていません。この問いに答えるためには、これらの遺伝子をゲノム編集技術などにより機能不活化・活性化させることで、再水和後に細胞分裂が再開しなくなるかを実験で検証する必要があります。このような実験により Pv11 細胞の乾燥耐性に必須な遺伝子が明らかになれば、今度はこのような遺伝子を別の細胞に導入することで乾燥させても死なない細胞を生み出すことができる可能性が高まり、最終的に常温乾燥保存という冷凍保存に代わる新たな生体物質・細胞保存技術開発へつながると期待されます。

※本研究は日本学術振興会科学研究費助成事業(JP25128714、JP17H01511、JP16K07308)、農水省戦略的国際共同研究推進委託事業のうち国際共同研究パイロット事業 (ロシアとの共同研究分野)、欧州委員会 研究開発・イノベーション枠組プログラム Horizon 2020 マリーキュリー・

アクション (MSCA) RISE (DRYNET; Grant no. 734434)、ロシア科学基金 (Grant for International groups N14-44-00022) などの助成や支援を受けて行われました。

<原論文情報>

タイトル : Transcriptome analysis of the anhydrobiotic cell line Pv11 infers the mechanism of desiccation tolerance and recovery

タイトル和訳 : トランスクリプトーム解析による乾燥耐性細胞系列 Pv11 細胞の乾燥寛容性及び再水和復帰機構の示唆

著者 : 山田 貴大¹、末次 克行²、Ruslan Deviatiiarov³、Oleg Gusev^{3,4}、Richard Cornette²、Alexander Nesmelov³、広井 賀子⁵、黄川田 隆洋^{2,6}、舟橋 啓¹

¹慶應義塾大学 ²農研機構 ³カザン大学 ⁴理化学研究所

⁵山陽小野田市立山口東京理科大学 ⁶東京大学

掲載誌 : Scientific Reports (DOI: 10.1038/s41598-018-36124-6)

<用語説明>

※1 トレハロース

2つのグルコースから作られる非還元性の二糖類

※2 CAGE-seq

RNAの5'末端側の配列のみを選択的に収集してシーケンスを行うことで、遺伝子の発現量を高感度に定量する技術

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

・研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 理工学部 生命情報学科 准教授 舟橋 啓 (ふなはし あきら)

TEL : 045-566-1797 FAX : 045-566-1789 E-mail : funa@bio.keio.ac.jp

農研機構 生物機能利用研究部門 新産業開拓研究領域 生体物質機能利用技

術開発ユニット 上級研究員 黄川田 隆洋 (きかわだ たかひろ)

TEL : 029-838-6170 FAX : 029-838-6170 E-mail : kikawada@affrc.go.jp

・本リリースの配信元

慶應義塾広報室 (村上)

TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

Email : m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>

理化学研究所 広報室 報道担当

TEL : 048-467-9272 FAX : 048-462-4715

Email : ex-press@riken.jp

山陽小野田市立山口東京理科大学 教務課入試係 (貞重)

TEL : 0836-88-3500 (代表) FAX : 0836-88-3400 (代表)

Email : kyoumu@admin.socu.ac.jp <http://www.socu.ac.jp/>

農研機構 生物機能利用研究部門 広報プランナー（高木）

TEL : 029-838-6000

Email : hitakagi@affrc.go.jp <http://www.naro.affrc.go.jp/>