

トランスポゾンがもたらすヒドラの幹細胞ゲノム動態の解明

Impact of transposable elements on stem cell genome dynamics of Hydra

ウィーン大学	今 鉄男
研究期間	2024年4月1日～2025年3月31日
滞在研究機関	Department of Neurosciences and Developmental Biology, University of Vienna, Vienna, 1030, Austria
共同研究者等	Prof. Oleg Simakov
区分	個人 B

Hydra (*Hydra vulgaris*), a freshwater cnidarian, exhibits remarkable regenerative ability, clonal propagation, and apparent biological immortality. Its genome is enriched with transposable elements (TEs), which contribute to genome expansion and may influence stem cell function and genome dynamics. In this study, haplotype-resolved, telomere-to-telomere genome assemblies were generated from an F1 hybrid of two genetically divergent Hydra strains, allowing detailed analysis of TE distributions in genomes. Fourteen active TE families (A-TEs) were highly enriched in one haplotype genome. Stem-cell-specific genome sequencing and transcriptomic analyses revealed that these A-TEs display distinct insertion and expression profiles across the three stem cell lineages. Comparative analysis of 82 eukaryotic genomes demonstrated that a TE cluster, including 10 A-TEs, is highly conserved across diverse taxa. Furthermore, analysis of *Hydractinia symbiolongicarpus*, a related cnidarian with a single stem cell type, revealed differences in TE composition and a notable accumulation of Helitron-like elements in subtelomeric regions. These findings suggest that TEs act as persistent drivers of chromosomal expansion and contribute to long-range genome architecture, offering novel insights into the dynamic evolution of eukaryotic genomes.

研究目的

淡水産刺胞動物であるヒドラ (*Hydra vulgaris*) は、再生能力、不老性、および無性生殖といった特異な生物学的特徴を持つ。ヒドラの体を構成するすべての細胞は、外胚葉性上皮幹細胞、内胚葉性上皮幹細胞、間幹細胞の3種類の幹細胞から供給される。発生や再生に関わる分子機構としては、Wnt/ β カテニン経路など脊椎動物と共通する経路の関与が報告されており (Watanabe 2014)、ヒドラをモデルとした研究は動物界における組織・個体再生の普遍的な分子基盤の解明に貢献すると期待されている。

先行研究によるゲノム解析の結果、ヒドラのゲノムにはトランスポゾンが豊富に存在し、これが他の刺胞動物に比べてゲノムサイズの増大に寄与していることが示されている (Chapman 2010)。また、再生過程の初期段階ではトランスポゾンの一過的な発

現を観察されており (Petersen 2015)、これらの報告はトランスポゾンがヒドラのゲノム動態や生理機能に深く関与している可能性を示唆している。しかし、その具体的な分子機構は依然として解明されていない。

トランスポゾンは、自己複製と転移を繰り返すことで、ゲノム内に多数の高度に類似した配列のコピーを生成する。さらにこれらのコピーは、転移先のゲノム領域において、塩基の置換や挿入欠失をきたす。このため、トランスポゾン動態の正確な解析には、欠損やエラーの少ない高品質なゲノム参照配列が不可欠である。しかし、現時点ではヒドラの完全なゲノム配列は報告されていない。本研究では、ヒドラのテロメアからテロメアまで連続した完全な参照ゲノム配列 (telomere-to-telomere) の構築を目指す。さらに、無性生殖によって長期間継代されたヒドラ

株における 3 種類の幹細胞のゲノム配列を比較解析し、トランスポゾン活動による各ゲノム配列の変化の解明を行う。

加えて、同じヒドロ虫綱に属するヒドラクチニア (*Hydractinia symbiolongicarpus*) は、1 種類の間幹細胞のみで全身の細胞を供給するという、ヒドラとは異なる幹細胞システムを持つことが知られている。本研究では、報告者らの先行研究により解読されたヒドラクチニアの染色体規模のゲノム配列 (Kon-Nanjo 2023) を用いて、同種におけるトランスポゾンの種類と分布を詳細に解析する。これにより、ヒドラとヒドラクチニアのゲノム構造およびトランスポゾン動態を比較し、刺胞動物におけるゲノム進化の特性を明らかにすることを目的とする。

研究経過

ヒドラの代表的な野生系統として、北アメリカ大陸由来の AEP 系統と日本・三島市由来の 105 系統が知られており、両者は地理的隔離により遺伝的に分化している。これらの 2 系統を交配して得た F1 交雑系統は、母型と父型のハプロタイプゲノムの配列を別々に識別して高精度の参照ゲノム配列を作るのに有用であると考えられた。そこで、この F1 交雑系統を無性生殖により増殖させ、ゲノム解読を行った。ゲノム配列の解読には、PacBio HiFi シーケンシングと Nanopore シーケンシングという 2 種類のロングリード技術に加え、Hi-C 解析を併用した。その結果、各ハプロタイプに対応する 15 本ずつ、合計 30 本の染色体配列を構築することに成功した。各染色体配列にはギャップがなく、両末端にはテロメア繰り返し配列が存在していた。これにより、完全長の高精度ゲノム配列の取得に成功した (NCBI RefSeq アクセス番号: GCF_038396675.1 および GCF_037890685.1)。

構築したゲノム配列の合計長は、AEP 系統の方が 105 系統より 78 Mb 長かった。染色体転座を起こした 2 本を除く 13 本の染色体においても、すべて AEP 系統の方が長いことが確認された。ゲノムサイズの違いに関与する要素を探るため、トランスポゾンに着目したところ、14 種類のトランスポゾン (hAT-Ac、TcMar-Tc1 など) が顕著に増加していることが明らかとなった。さらに、Iso-seq 解析により、これらト

ランスポゾンはいずれも全長で高発現していることが示された。これら 14 種類のトランスポゾン群を、active TEs (A-TEs) と命名した。

次に、長期間の無性生殖により、A-TEs が 3 種類の幹細胞ゲノムに及ぼす影響を評価した。まず、Nanos プロモーターの制御下で間幹細胞に GFP を発現する Cnno1::GFP 系統 (Nishimiya-Fujisawa 2012) から、酵素処理により細胞懸濁液を調製し、フローサイトメトリーによって間幹細胞とその他の細胞系列を分取した。それぞれから高分子量ゲノム DNA を精製し、Nanopore シーケンシングを実施した。同様に、Actin プロモーターの制御下で外胚葉性幹細胞に GFP を、内胚葉性幹細胞に RFP を発現する ecto-GFP/endo-RFP 系統 (Glauber 2015) から、各細胞系列ごとに細胞を分取して Nanopore シーケンシングを行った。得られた各幹細胞系列由来の Nanopore リードを AEP 系統の参照ゲノムにマッピングし、A-TEs を含むトランスポゾンの挿入プロファイリングを行った。その結果、3 種類の幹細胞はそれぞれ独自の挿入パターンを示した。さらに、細胞系列ごとに挿入近傍の遺伝子の種類も異なり、間幹細胞では細胞増殖に関連する遺伝子群が、上皮幹細胞ではペプチド輸送関連遺伝子が有意に多く検出された。

幅広い種における A-TEs の進化的役割を評価するため、NCBI Genome データベースに登録された 82 種の真核生物ゲノム中のトランスポゾン分布を解析した。トランスポゾン配列の検出感度を高めるため、RepeatModeler (Flynn 2020) によるアノテーションに隠れマルコフモデルを用いた探索手法を組み合わせた。この手法により 82 種すべてのゲノムに対してプロファイリングを行い、広範な真核生物で保存されているトランスポゾンクラスタを同定した。さらに、このクラスタの中に A-TEs のうち 10 種類が含まれていることを確認した (Kon-Nanjo 2024)。

最後に、刺胞動物のゲノム進化におけるトランスポゾンの機能特性を明らかにするため、ヒドラと同じヒドロ虫綱に属するヒドラクチニアのゲノム配列中のトランスポゾン解析を行った。解析には、報告者らが先行研究で構築したヒドラクチニアの染色体規模の参照ゲノム配列 (Kon-Nanjo 2023) を使用した。ヒドラクチニアはヒドラと同様に 15 本の染色体を持ち、これは同じヒドロ虫綱で 8 本の染色体を持つナノミア属 (*Nanomia septata*) (Ahuja 2025) と

は対照的である。ヒドラクチニアとヒドラの 15 本の染色体間では、相同遺伝子の配置に基づき相同な染色体関係が確認された。さらに、ヒドラの解析で用いた隠れマルコフモデルによるトランスポゾン検出法を適用した結果、Helitron 様の反復配列がヒドラクチニアの染色体末端のサブテロメア領域に選択的に蓄積していることが明らかとなった。

考察

本研究では、ヒドラのハプロタイプレベルの高解像度ゲノム解読を基盤として、幅広い真核生物で保存されている A-TEs を同定した。A-TEs はヒドラの 3 種類の幹細胞ゲノムにおいて、それぞれ異なる挿入プロファイルを示した。特に、間幹細胞は体細胞（神経細胞、刺細胞、腺細胞）に加え生殖細胞にも分化することから、間幹細胞ゲノムに蓄積された A-TEs は有性生殖を介して次世代に伝達され、その繰り返しのよってゲノムサイズの増大に寄与する可能性が考えられる。また、トランスポゾンの挿入部位近傍に存在する遺伝子の種類は、幹細胞系列ごとに異なっていた。これらの結果は、ヒドラの各幹細胞ゲノムにおけるトランスポゾンの挿入が完全にランダムではなく、遺伝子発現や細胞機能に影響を与える可能性を示唆している。

これまでの研究では、hAT や Tc1-Mariner といった superfamily と呼ばれる大分類におけるトランスポゾンの保存性が広く議論されてきた (Wicker 2007)。本研究では、hAT-Ac、hAT-Charlie、TcMar-Tc1、TcMar-Fot1 など、より細分類されたサブグループにおいて保存性が確認された。一方で、ヒドラクチニアでは Helitron 様の反復配列が染色体末端のサブテロメア領域に選択的に蓄積していることが明らかとなった。これらの結果は、種を超えて広く保存された A-TEs の様な中核的なトランスポゾン群に加え、種特異的なトランスポゾンの増加が真核生物のゲノム進化において重要な役割を果たしていることを示唆している。今後は、A-TEs の進化的保存性を持つ機能的意義について、複数種間でのクロマチン構造解析やエピゲノム解析を通じて検証を進めていく予定である。

研究の発表

口頭発表

1. 今 鉄男、ヒドラ (*Hydra vulgaris*) のトランスポ

ゾンがもたらすゲノム動態とその進化的意義、北海道大学農学部セミナー、2024 年 12 月 2 日、北海道大学

2. Tetsuo Kon. Dynamic genomes of Hydra and the anciently active repeat complement of animal chromosomes. SINCEREST symposium 2024, 2024 年 9 月 30 日、University of Vienna, Austria.
3. Kon T, Kon-Nanjo K, Koubkova Yu CT, Rodriguez-Terrones D, Falcon F, Martínez DE, Steele RE, Tanaka EM, Holstein TW, Simakov O. トランスポゾンがもたらすヒドラのゲノム動態とその進化的起源、日本動物学会第 95 回長崎大会 2024 年 9 月 12 日、長崎大学
4. 今 鉄男、ヒドラ (*Hydra vulgaris*) のトランスポゾンがもたらすゲノム動態、三重大学セミナー 2024 年 9 月 10 日、三重大学
5. Kon T, Kon-Nanjo K, Koubkova Yu CT, Rodriguez-Terrones D, Falcon F, Martínez DE, Steele RE, Tanaka EM, Holstein TW, Simakov O. ヒドラのトランスポゾンによるゲノム動態とその進化的起源、日本遺伝学会第 96 回大会、2024 年 9 月 5 日、高知工科大学
6. 今 鉄男、不老動物ヒドラのトランスポゾンがもたらすゲノム動態の解明、老化・健康長寿学セミナー、2024 年 7 月 27 日、熊本大学

ポスター発表

1. Kon T, Kon-Nanjo K, Koubkova Yu CT, Rodriguez-Terrones D, Falcon F, Martínez DE, Steele RE, Tanaka EM, Holstein TW, Simakov O. Dynamic genomes of Hydra reveal anciently active repetitive elements of animal chromosomes. International congress on transposable elements 2024 (ICTE2024). 2024 年 4 月 22 日、Saint-Malo, France.

誌上発表

1. Kon-Nanjo K#, Kon T#*, Koubkova Yu CT, Rodriguez-Terrones D, Falcon F, Martínez DE, Steele RE, Tanaka EM, Holstein TW, Simakov O* (#equally contributed, *corresponding authors). The dynamic genomes of Hydra and the anciently active repeat complement of animal chromosomes. *bioRxiv*, 2024. <https://doi.org/10.1101/2024.03.13.584568>.

2. Kon T*, Kon-Nanjo K, Simakov O (*corresponding author). Subtelomeric repeat expansion in *Hydractinia symbiolongicarpus* chromosomes. *Mobile DNA*. 16(1):14:2025.
3. Ahuja N, Schultz DT, Destanović D, Church SH, Picciani N, Munro C, Kon-Nanjo K, Kon T, Maňko

MK, Shi W, Haddock SHD, Simakov O, Dunn CW. A Chromosome-scale genome of *Nanomia septata* reveals extensive rearrangement but no clear driver of the unique colony-level organization of Siphonophores. *bioRxiv*, 2025. <https://doi.org/10.1101/2025.05.01.651713>.