

動物と植物の高温適応に種を大きく超えて関わる RNA 結合分子の解析

Analysis of RNA-binding proteins involved in high temperature tolerance in animals and plants across species (日本動物学会推薦)

代表研究者 太田 茜 Konan University Akane OHTA

We have previously analyzed the temperature tolerance of a simple animal, the nematode *C. elegans*. Here, we found that the LHT1 gene that enhances high-temperature tolerance in *Arabidopsis thaliana*, discovered previously, is a gene called *emb-4* in *C. elegans*, and that *emb-4* mutants with reduced function of the *emb-4* gene have weaker high-temperature tolerance and, conversely, stronger cold tolerance. Using RNA sequencing analysis, we identified genes regulated by EMB-4, and found that EMB-4 is involved in acidic sphingomyelinase, which is involved in fatty acid metabolism, and in the enzyme sphingomyelinase, which is involved in the production of fatty acids. Sphingomyelinase and phospholipid scramblase involved in the local structure of biological membranes. These mutants of *C. elegans* showed higher tolerance to high temperatures. The above results reveal genes involved in high temperature tolerance that are common to two qualitatively different species, animals (nematodes) and plants (*Arabidopsis thaliana*), and that regulate genes involved in fatty acid metabolism and biomembrane structure in nematodes. Since similar genes exist widely in animals and plants, including humans, further analysis is expected to lead to the development of high-temperature tolerant livestock and crops that can contribute to the food crisis caused by global warming.

研究目的

はじめに

温度は生物が生存し適応するための重要な環境要因の一つである。例えば、人間の場合、体温がわずか3℃下がって33℃になると仮死状態に陥る可能性があり、また、病気の発生率や死亡率は気温の変動が大きな時期に増加するとされている。急激な温度変化によって引き起こされるヒートショックや低体温症による死亡数は、交通事故による死亡数を上回ると報告されており、これらの温度に関連する健康問題は社会的な課題となっている。また、地球規模の気候変動により、生物種のおよそ3割が絶滅の危機にあるとされており、温度適応はグローバルな問題となっている。

生物は環境からの温度情報を受け取り、それに応じて適応する能力を進化の過程で獲得してきた。人間には体温を自律的に調整する仕組みがあり、

深部体温や外部環境温度の変化を感じ、統合して適切に調整している。また、線虫からヒトに至る多くの動物において、進化的に保存された温度センサー分子として、TRP (Transient receptor potential) イオンチャネルが知られており、この分子は多様な細胞や組織に発現し、細胞内のカルシウム濃度を上昇させることで熱感覚に関わる応答を引き起こしている。

生物の温度応答メカニズムの解明は多方面で期待されていますが、人間の体は約37兆個の細胞から成り、それぞれが複雑なネットワークを形成しているため、解析は容易ではない。そこで本研究では、ヒトと多くの相同性を持つ遺伝子を備えたシンプルなモデル生物である線虫 *C. elegans* を使用し、温度応答メカニズムの研究を行った。*C. elegans* は959個の細胞を持ち、そのうち302個が神経細胞で構成されている。

C. elegans の温度適応には温度順化の現象が関与していることがわかっている。温度順化とは、環境温度に応じて低温(2°C)への耐性が変化する現象を指し、15°Cで飼育された個体は2°Cでも生存可能な低温耐性を持つ一方で、25°Cで飼育された個体は低温耐性がなく、2°Cでは死滅する。この低温耐性を指標とすることで、温度応答に関与する分子や神経細胞の解析が進展している。

これまでの研究から、低温耐性や温度順化に関する温度受容ニューロンとして、頭部に位置する3種類のニューロンが特定された。これらの温度受容ニューロンの一つが温度を検知すると、シナプスを通じてインスリンを分泌し、腸で受容されることで腸内の不飽和脂肪酸の合成が抑制され、結果として低温耐性が負の調整を受ける。また、低温下では腸の中性脂肪の量が増加する。一方で、高温耐性には熱ショックタンパク質などが必要であることが確認されているが、低温耐性と高温耐性の両方に共通する遺伝子については十分に解明されていない。

本研究の目的

高温耐性の研究は植物でも進展しており、特にモデル植物であるシロイヌナズナには世界各地から2000種類以上の野生系統が見つかっている。この中で、高温耐性が低い系統と高い系統の違いを生じさせる遺伝子として、Long-term Heat Tolerance1 (LHT1)/MAC7が同定されている(Isono et al, PNAS Nexus, 2023)。LHT1/MAC7遺伝子は、mRNAスプライシングに関与するRNAヘリカーゼをコードしており、ヒトのAquarius (AQR)と相同性がある。しかし、これらの遺伝子がヒトや他の動物における高温耐性や低温耐性にどのように関与しているかについては明らかになっていなかった。そこで、本研究では、線虫を使い植物のLHT1/MAC7が動物の高温耐性を含む温度耐性に関与するかを調べた。

研究経過

結果と考察

1. 線虫 *C. elegans* の高温耐性の定量化

野生株であるN2系統の高温耐性が過去の飼育温度に依存するかを調べたところ、15°Cで飼育された個体のほとんどは31°Cで死亡したが、25°Cで育てられた個体は31°Cでも生存し、20°Cで飼育された個体は約半数が生存する結果が得られた。これらの結果は、高温耐性が以前の飼育温度の影響を受けることを示しており、線虫が過去の温度環境に基づき高温への適応性を調整する能力を持つことが示唆される。

2. 植物の高温耐性に関連する遺伝子と線虫の耐温性の関係

シロイヌナズナにおいて高温耐性に寄与するLHT1遺伝子が動物にも関わる可能性を調べるために、*C. elegans*での解析を行った。LHT1タンパク質はRNAおよびDNAヘリカーゼドメインを持つスプライソーム因子で、ヒトのAQRに相当し、*C. elegans*ではemb-4遺伝子によってコードされるEMB-4タンパク質がそのホモログであった。

そこで、emb-4変異体の高温耐性を25°Cおよび20°Cで飼育した後に32°Cで24時間曝露した結果、野生株よりも生存率が低下していた。これはEMB-4が線虫の高温耐性を促進する役割を果たすことを示唆する。一方、低温耐性の解析では、2°Cで48時間曝露した際に生存率が増加しており、EMB-4が低温耐性を抑制する役割を担っていることが示唆された。これにより、EMB-4は高温耐性を促進し、低温耐性を抑制する機能があると考えられる。

emb-4変異体の温度耐性に関連する遺伝子の同定

高温・低温の刺激を与えたemb-4変異体で発現が変動する遺伝子をトランスクリプトーム解析で調べ、4つの異なる条件で発現が変化した遺伝子を特定した。20°Cで飼育を続けたemb-4変異体と

野生株との比較を行うと、1103 個の遺伝子の発現が上昇しており、173 個の遺伝子の発現が低下していた。20°C飼育後に 2°Cで 9 時間曝露した条件では、799 個の遺伝子の発現が上昇しており、662 遺伝子個の遺伝子の発現が低下していた。20°C飼育後に 32°Cで 1 時間曝露した条件では、1321 個の遺伝子の発現が上昇しており、133 個の遺伝子の発現が低下していた。20°C飼育後に 32°Cで 13 時間曝露した条件では、480 個の遺伝子の発現が上昇しており、161 個の遺伝子の発現が低下していた。この解析により、上記すべての条件で共通して発現変動した遺伝子として、46 個の遺伝子の発現が上昇しており、9 個の遺伝子の発現が低下していたため、合計 55 個を特定した。

3. 新たな高温耐性関連遺伝子の同定

*emb-4*変異体で発現変動が見られた 55 個の遺伝子のうち、高温耐性と低温耐性に関与する 12 個の遺伝子を解析した。脂肪酸代謝に関連する酸性スフィンゴミエリナーゼ (*asm-3*) やリン脂質スクランブラー (*scrm-4*) の変異体では、高温耐性の向上が確認された。また、神経系に関連するグアニリル酸シクラーゼ (*gcy-19*) やクラスリン様タンパク質 (*dyf-3*) の変異体においても同様に高温耐性が増強され、未知の機能を持つ *C38D9.2* 遺伝子の変異体でも高温耐性の向上が見られた。なお、*dyf-3* および *C38D9.2* 変異体は低温耐性も向上していた。

考察

まとめ

本研究では、植物の高温耐性に関わるスプライソソーム因子が、動物である線虫の温度耐性にも関連することが示された。*emb-4* 遺伝子は、脂肪酸代謝や膜構造調整を行う複数の遺伝子発現を制御し、高温耐性を調節している可能性が示唆される。トランскriプトーム解析から単離された酸性スフィンゴミエリナーゼ (ASM) は、細胞膜やリソソームの脂質二重膜に存在し、スフィンゴミエ

リンを加水分解してセラミドを生成する。セラミドは、細胞膜でのシグナル伝達や脂質ラフトの形成に関与する。また、*asm-3* 変異体ではオメガ-3 長鎖脂肪酸が過剰に蓄積することが報告されており、これが ASM-3 を介した脂肪酸代謝と高温耐性の関係を示唆している。

研究の発表

口頭発表

1.

Akane Ohta, Yukina Mori, Atsushi Kuhara

Cold tolerance and temperature acclimation in *Caenorhabditis elegans* are controlled by the coordinated action of multiple organs

分子生物学会 福岡国際会議場・マリンメッセ福岡 2024.11.27-29 国内 シンポジウム
口頭(招待講演)

2.

Sakura Sengoku, Akane Ohta, Teruaki Taji and Atsushi Kuhara

Analysis of genes involved in high temperature tolerance conserved between plants and animals

動植物に共通した高温耐性に関わる遺伝子の解析
日本女性科学者の会 学術大会
甲南大学、兵庫県 2024.10.13 国内 ポスター

3.

Sakura Sengoku, Akane Ohta, Teruaki Taji and Atsushi Kuhara

Genes involved in heat tolerance diversity in plants are required for heat and cold tolerance in *C. elegans*

植物の高温耐性多様性に関わる遺伝子が線虫の高温耐性と低温耐性に関与する
比較生理生化学会名古屋大学、愛知
2024.9.30-10.1 国内 ポスター

4.

Akane Ohta & Atsushi Kuhara

The Interplay of Multi-Organ Coordination in

Temperature Acclimatization of *Caenorhabditis elegans*
比較生理生化学会名古屋大学、愛知
2024.9.30-10.1 国内 シンポジウム、口頭発表

5.
Akane Ohta, Yuki Sato, Kazuho Isono, Takuma Kajino, Teruaki Taji, and Atsushi Kuhara
Analysis of genes whose expression changes with temperature that affect cold and heat tolerance
動植物に共通する温度耐性に関わる遺伝子の解析
The future of nematode research 2024 meeting
立命館大学 びわこ・くさつキャンパス
2024.8.27-28 国内 ポスター

6.
Sakura Sengoku, Ayaka Tokuwame, Akane Ohta, Yuki Sato, Kazuho Isono, Takuma Kajino, Teruaki Taji, Atsushi Kuhara
Molecular mechanisms of high and low temperature tolerance conserved between plants and animals, and screening of cold sensitive genes
Neuro2024、FAONS 2024 Congress 福岡コンベンションセンター(福岡)
2024.7.24-27 国内+国際 ポスター

7.
Akane Ohta, Atsushi Kuhara
Neural wiring and brain-gut communication regulates temperature acclimation
Neuro2024、FAONS 2024 Congress 福岡コンベンションセンター(福岡)
2024.7.24-27 国内+国際 シンポジウム
招待講演

8.
Akane Ohta, Yuki Sato, Kazuho Isono, Takuma Kajino, Teruaki Taji, and Atsushi Kuhara
Intron-binding protein EMB-4 is involved in cold and heat tolerance through regulating gene expression
分子生物学会 神戸国際会議場、神戸国際展示場、神戸市、兵庫県
2023.12.6-9 国内 ポスター

誌上発表

- Ohta A., Sato Y., Isono K., Kajino T., Tanaka K., Taji T., Kuhara A.
The intron binding protein EMB-4 is an opposite regulator of cold and high temperature tolerance in *Caenorhabditis elegans*
PNAS nexus, 3, 8, 293 (1-13), 2024
- Ohnishi K., Sokabe T., Miura T., Tominaga M., Ohta A., Kuhara A.
G protein-coupled receptor-based thermosensation determines temperature acclimatization of *Caenorhabditis elegans*
Nature commun., 15: 1660, 1-13, 2024
- Okahata M., Sawada N., Nakao K., Ohta A., Kuhara A.
Screening for cold tolerance genes in *C. elegans*, whose expressions are affected by anticancer drugs camptothecin and leptomycin B
Scientific Reports, 14, 5401, 1-14, 2024

