

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 31 年 4 月 23 日現在

機関番号：32621

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18593

研究課題名(和文) 孵化酵素の多重コピー遺伝子がもたらすメダカ属魚類の孵化環境への適応進化

研究課題名(英文) Adaptive evolution of multi-copy hatching enzyme genes in Oryzias

研究代表者

川口 眞理 (Kawaguchi, Mari)

上智大学・理工学部・准教授

研究者番号：00612095

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ミナミメダカには、アミノ酸配列がよく似るが至適塩濃度が異なる2種類の孵化酵素HCEが存在する。胚は淡水と海水で孵化できることから、多様な孵化環境に適応していると考えられる。両者でアミノ酸変異が見られる部位に一方を基に他方のアミノ酸残基に置き換えた変異HCEタンパク質を作製した。その結果、複数のアミノ酸残基の変異によって至適塩濃度の違いが生じていることが示唆された。さらに、メダカ属の5魚種のHCE遺伝子のクラスター構造を決定し、各魚種のHCEの至適塩濃度を調べた。その結果、3か所のアミノ酸残基が至適塩濃度の違いに大きく寄与している可能性が高いことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の特色は、第一に、タンパク質レベルの実験を通して適応進化を論じる点である。本研究は、多重コピー遺伝子の活性の多様性と適応進化との関係について考察するもので、これによって進化生物学の分野に重要な知見を提供できると確信する。第二に、DNAレベルとタンパク質レベルの実証可能な実験系を導入して、マクロな多様化のメカニズムの解明にアプローチしている点である。タンパク質の機能を実際に観察しながら、具体的にどの部位のどのアミノ酸変異が環境への適応や生物の多様化に関わっているのかを詳細に解析しようとする点も、本研究の重要な特色である。

研究成果の概要(英文)：Embryos are surrounded by egg envelope to protect from physical stress, and then, secrete hatching enzymes HCE and LCE to dissolve the envelope at hatching. In medaka, two isoforms of HCE having high sequence similarity show different optimum salinities for egg envelope digestion. In this study, we tried to figure out the amino acid residues responsible for the different optimal salinity between the two isoforms. We constructed various kinds of mutant recombinant HCEs, and determined their optimal salinity. As the results, we found that the change of optimal salinity was caused by several amino acid residues. We further determined nucleotide sequence of the HCE cluster of 5 fishes from genus Oryzias. Then, the optimal salinity of HCE of each species was examined from their recombinant HCEs. Based on these data, three amino acid residues were suggested to be most important for different optimal salinity of HCE.

研究分野：進化生物学

キーワード：hatching enzyme egg envelope

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

進化研究において最近では、遺伝情報である DNA 上に残された過去の痕跡を分析することにより、進化過程を解析しようとするアプローチがとられることも多い。しかし DNA 配列の変化やそれによってもたらされたタンパク質配列の変化が、必ずしもすべてが機能の変化（ひいては生物の多様性）をもたらすとは限らないので、生物の進化を明らかにするためにはタンパク質の機能の変化を確実に押さえる必要がある。進化過程で生物が新しい機能を獲得する要因の1つとして、多重遺伝子族の形成が提唱されている。本研究の目的は、多重コピー遺伝子間の機能の違いが様々な環境への変化に対応する能力をもたらし、それが結果的に生物の適応進化をもたらしているという仮説について、実験に基づく検証を試みることである。

2. 研究の目的

本研究では、実験系として卵膜-孵化酵素系を取り上げる。正真骨魚類には2種類の孵化酵素（HCE と LCE）があり、両者の共同作用により卵膜を可溶化して孵化することが知られている（Kawaguchi et al., 2010a）。HCE は多重コピー遺伝子として、LCE は単一コピー遺伝子としてゲノム上に存在する（Kawaguchi et al., 2010b）。私はマミチヨグの孵化酵素の精製を行い、多重コピー遺伝子である HCE 間には1カ所のアミノ酸置換しかないにもかかわらず、機能に違いがあることを見出した（Kawaguchi et al., 2013）。すなわち、36番目のアミノ酸残基がグリシンのものは淡水で高い活性を示し、アルギニンのものは塩水で高い活性を示した。マミチヨグの HCE と類似した部位に同様の変異がミナミメダカの HCE にもみられることが知られている（Yasumasu et al., 1992）。私は、ミナミメダカ *Oryzias latipes* の HCE の至適塩濃度を調べ、一方は淡水で高い活性を示し（淡水型）、他方は淡水では活性が低い塩水で高い活性を示すことを見出した（塩水型）。主に淡水域に生息しているミナミメダカが、淡水型だけでなく塩水型の HCE を持っていることが観察されたのである。実際、ミナミメダカは淡水だけでなく汽水や塩田にも分布することが知られている。これらの結果から、多重コピー遺伝子の存在がメダカ類の生息域の拡大の一因と考えられる。そこで本研究では、至適塩濃度の違いをもたらす原因アミノ酸変異を同定することを目指す。さらに、メダカ属各魚種の HCE の配列を決定し、それぞれの至適塩濃度を明らかにする。これらの結果を通して、メダカ属魚類が孵化環境にどのように適応しているのかを考察する。

3. 研究の方法

ミナミメダカの淡水型と塩水型 HCE の配列をそれぞれ部分的に入れ替えた様々な変異組換え HCE を作製し、淡水型と塩水型それぞれの活性をもたらすアミノ酸残基の同定する。メダカ属魚類（ルソンメダカ、セレベスメダカ、インドメダカ、ハブスメダカ、ジャワメダカ）の BAC ライブラリーから HCE 遺伝子のスクリーニングを行い、HCE 遺伝子のクラスター構造を明らかにする。各魚種の HCE の組換えタンパク質を作製し、0~0.75 M NaCl 存在下での卵膜分解活性を調べ、至適塩濃度を明らかにする。アミノ酸配列と活性とを比較し、至適塩濃度の違いをもたらすアミノ酸残基の考察を行う。

4. 研究成果

ミナミメダカがもつ2種類の HCE アイソザイムの至適塩濃度の違いをもたらすアミノ酸残基を同定するために、両者でアミノ酸変異が見られる部位に一方を基に他方のアミノ酸残基に置き換えた変異 HCE タンパク質を作製した。両者の間には9ヶ所のアミノ酸変異が見られ、アミノ酸の性質が大きく変わる部位（例えば一方が極性のないグリシンなのに対し、他方が塩基性のアルギニン）を置き換えた種々の変異組換え HCE を作製した。その結果、淡水型の HCE から塩水型の HCE への変異は2ヶ所のアミノ酸残基の変異によってもたらされることが分かった。ところが、同じ領域を塩水型 HCE から淡水型 HCE のアミノ酸残基に変異させても至適塩濃度の違いがもたらされなかった。

塩水型 HCE を基に部分的に淡水型 HCE のアミノ酸変異を導入する方法では原因アミノ酸変異を同定することが困難と判断し、淡水型 HCE を基に徐々に塩水型 HCE のアミノ酸変異を導入していき、淡水型の活性が維持されるか否かを調べることにした。まず、淡水型 HCE の立体構造モデルを作製し、立体構造上変異サイトが近接してる2ヶ所のみを塩水型 HCE のアミノ酸残基に変異させた。合計5種類（このうち1つは1ヶ所の変異のみ）の変異 HCE を作製すると、このうちの4つが塩水型 HCE の活性を示すようになった。つまり、9カ所中2カ所は淡水型 HCE の活性に寄与しないが、残る7ヶ所の変異のうち、2つずつの変異を導入しているため、4~7カ所の変異が淡水型 HCE の活性に重要である可能性がある。そこで、淡水型 HCE の活性に寄与しない2カ所の変異に加えて1カ所ずつ塩水型 HCE の変異を導入した合計7種類の変異組換え HCE を作製した。しかしながら、すべてが淡水型 HCE の活性を示した。このことは、すべての変異が単独では至適塩濃度の違いをもたらさず、複数のアミノ酸残基が合わさって至適塩濃度の違いをもたらしていることを示している。

上述の実験方法では、至適塩濃度の違いをもたらす原因アミノ酸残基の同定は困難であった。そこで、メダカ属間で HCE の配列を同定し、各魚種の HCE の至適塩濃度を調べ、両者を比較することで、淡水型 HCE に共通するアミノ酸残基あるいは塩水型 HCE に共通するアミノ酸残基が同定できれば、それが至適塩濃度の違いに重要な領域であると推察することが可能である。そ

のために、種々のメダカ属魚種の HCE 遺伝子を探査することにした。メダカ属各魚種は、いずれも HCE 遺伝子が多重コピー遺伝子として存在する。そこで、ルソンメダカ、セレベスメダカ、インドメダカ、ハブスメダカ、ジャワメダカの BAC ライブラリーから HCE 遺伝子のスクリーニングを行い、それぞれ 3、8、3、1、7 クローンを同定した。これらの BAC クローンの全長配列の決定を行い、スクリーニングを行った 5 種すべての HCE クラスターの配列を得ることができた。

メダカ属は大きく 3 つの系統に分けられている。それらはラティペスグループ、セレベスグループ、ジャワグループである。このうちジャワグループには、今回クラスター構造を明らかにしたインドメダカ、ハブスメダカ、ジャワメダカの 3 種が含まれる。この 3 魚種のクラスター構造は転写方向を含めてよく保存されていた。また、ラティペスグループにはルソンメダカと全ゲノム配列が決定されているミナミメダカが属しており、両魚種間でクラスター構造は類似していたが、ジャワグループの構造とは異なっていた。セレベスグループからはセレベスメダカ 1 種のみしか解析できていないが、他の 2 グループの構造とは異なっていた。これらの結果から、グループ内ではクラスター構造が保存されているもののグループ間では保存されていないことが示唆された。これらの組換えタンパク質を作製し、至適塩濃度を調べ、各魚種の HCE のアミノ酸配列を比較し、淡水型の活性を示すアミノ酸残基と塩水型の活性を示すアミノ酸残基の特徴を調べてみると、3 か所のアミノ酸残基が淡水型の活性を示すもの間もしくは塩水型の活性を示すもの間で保存されていた。これらの結果から、この 3 か所のアミノ酸残基が至適塩濃度の違いに大きく寄与している可能性が高いと考えている。

興味深いことに、ラティペスグループのみで HCE 様遺伝子である AHCE 遺伝子が HCE 遺伝子クラスター内に見つかった。ミナミメダカのゲノムには 1 個の AHCE 遺伝子と 1 個の AHCE 偽遺伝子があった。ミナミメダカの AHCE の組換えタンパク質を作製して卵膜分解活性を調べてみたところ卵膜分解活性が低かった。一方、ルソンメダカでは 2 個の AHCE 遺伝子が見つかるが、HCE は 1 個のみがゲノム上にあり、3 つの HCE 遺伝子が偽遺伝子化していることが分かった。これらの結果から、ルソンメダカでは偽遺伝子化した HCE の代用として機能している可能性もあると考えている。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 9 件)

1. Tatsuki Nagasawa, Mari Kawaguchi, Tohru Yano, Sho Isoyama, Shigeki Yasumasu, and Masataka Okabe. (2019) Translocation of promoter-conserved hatching enzyme genes with intron-loss provides a new insight in the role of retrocopy during teleostean evolution. *Scientific Reports*, 9: 2448. (査読有)
2. Yusuke Takehana, Margot Zahm, Cédric Cabau, Christophe Klopp, Céline Roques, Olivier Bouchez, Cécile Donnadieu, Celia Barrachina, Laurent Journot, Mari Kawaguchi, Shigeki Yasumasu, Satoshi Ansai, Kiyoshi Naruse, Koji Inoue, Chuya Shinzato, Manfred Schartl, Yann Guiguen, and Amaury Herpin. (2019) Genome sequence of the euryhaline Javafish medaka, *Oryzias javanicus*: a small aquarium fish model for studies on adaptation to salinity. *BioRxiv*, in press. (査読無)
3. Kaori Sano, Risa Yokoyama, Takako Kitano, Takeshi Takegaki, Nobumasa Kitazawa, Toyoji Kaneko, Yoshihide Nishino, Shigeki Yasumasu, and Mari Kawaguchi. (2019) Male parental assistance in embryo hatching of barred-chin blenny *Rhabdoblennius nitidus*. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, in press. (査読有)
4. Ganesh Acharya, Marisa Bartolomei, Anthony M. Carter, Larry Chamley, Charles F. Cotton, Junichi Hasegawa, Yuri Hasegawa, Satoshi Hayakawa, Mari Kawaguchi, Chaini Konwar, Shoichi Magawa, Kiyonori Miura, Hiroataka Nishi, Carlos Salomon, Keiichi Sato, Hidenobu Soejima, Hiroaki Soma, Anne Sørensen, Hironori Takahashi, Taketeru Tomita, Camilla M. Whittington, Victor Yuan, Perrie O'Tierney-Ginn (2019) IFPA meeting 2018 workshop report I: Reproduction and placentation among ocean-living species; placental imaging; epigenetics and extracellular vesicles in pregnancy. *Placenta*, in press. (査読有)
5. 川口眞理 (2018) 「図書紹介：タツノオトシゴ図鑑」*魚類学雑誌*, 65(2):217-217. (査読無)
6. 川口眞理 (2018) 連載企画「私の実験動物、個性派です！」への依頼原稿「究極のイクメン魚「タツノオトシゴ」*実験医学*, vol.36, 604-608. (査読無)
7. 川口眞理 (2017) 「The 3rd Syngnathid Biology International Symposium 参加記」*魚類学雑誌*, 64(2):240-241. (査読無)
8. Mari Kawaguchi, Ryohei Okubo, Akari Harada, Kazuki Miyasaka, Kensuke Takada, Junya Hiroi, and Shigeki Yasumasu (2017) Morphology of brood pouch formation in the pot-bellied seahorse *Hippocampus abdominalis*. *Zoological Letters*, 3: 19. (査読有)
9. Kaori Sano, Mari Kawaguchi, Keita Katano, Kenji Tomita, Mayu Inokuchi, Tatsuki Nagasawa, Junya Hiroi, Toyoji Kaneko, Takashi Kitagawa, Takafumi Fujimoto, Katsutoshi Arai, Masaru Tanaka, and Shigeki Yasumasu (2017) Comparison of Egg Envelope Thickness in Teleosts and its Relationship to the Sites of ZP Protein Synthesis. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 328: 240-258. (査読有)

〔学会発表〕(計 50 件)

1. 原田明里・川原玲香・川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢の形成に関わる候補遺伝子の発現パターン」第 71 回日本動物学会関東支部、東京、2019 年 3 月 (ポスター発表)
2. 佐藤千優・川口眞理・安増茂樹「メダカの卵膜硬化に関与するトランスグルタミナーゼ」第 71 回日本動物学会関東支部、東京、2019 年 3 月 (ポスター発表)
3. 小島利恵子・松田千紘・高江洲雪子・川口眞理・安増茂樹「キュウリウオ目に存在する 3 つの孵化酵素の卵膜分解系：タンパク質機能性は、合目的で洗練されたシステムに進化する」第 71 回日本動物学会関東支部、東京、2019 年 3 月 (ポスター発表)
4. 川口眞理「ヨウジウオ科魚類の育児嚢の進化」第 51 回日本魚類学会、東京、2018 年 10 月、日本魚類学会奨励賞受賞講演
5. 原田明里・川口眞理「タツノオトシゴとイシヨウジの育児嚢の組織観察」第 51 回日本魚類学会、東京、2018 年 10 月 (口頭発表)
6. Mari Kawaguchi “Formation of seahorse brood pouch” Workshop: Reproduction and Placentation among Ocean living species. International Federation of Placenta Associations, Tokyo, Japan, 2018 September 22. (招待講演)
7. 長澤竜樹・川口眞理・矢野十織・磯山翔・安増茂樹・岡部正隆「骨魚類孵化酵素遺伝子のイントロン消失メカニズム ゲノム構造の進化的制約から解放された遺伝子の分子進化」第 89 回日本動物学会シンポジウム「遺伝的変異 発生・生理 適応度を繋ぐ生物多様性研究」, 札幌、2018 年 9 月
8. 竹野陸央・川口眞理・安増茂樹「ニジマス孵化酵素の卵膜分解機能」第 89 回日本動物学会、札幌、2018 年 9 月 (ポスター発表)
9. 原田明里・川原玲香・川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢の形成に関わる分化因子の探査」第 89 回日本動物学会、札幌、2018 年 9 月 (ポスター発表)
10. 長澤竜樹・川口眞理・矢野十織・磯山翔・安増茂樹・岡部正隆「孵化酵素遺伝子のイントロン消失メカニズム：分子進化におけるレトロコピーの新たな役割の考察」第 20 回日本進化学会、東京、2018 年 8 月 (口頭発表) 口頭発表最優秀賞受賞
11. Shigeki Yasumasu, Miyuki Horie, Tatsuki Nagasawa, Akira Oike, Mari Kawaguchi “Molecular evolution of transglutaminase responsible for egg envelope hardening in fish” 第 24 回小型魚類研究会、名古屋、2018 年 8 月 (ポスター発表)
12. 川口眞理・原田明里「タツノオトシゴの育児嚢の形成のカギを握る遺伝子は何か？」第 4 回ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会、東京、2018 年 8 月 (ポスター発表)
13. Mari Kawaguchi, Kaori Sano, and Shigeki Yasumasu “Sub-functionalization of hatching enzyme genes during evolution of sticklebacks” 9th International Conference on Stickleback Behavior and Evolution, Kyoto, Japan, 2018 July 3-7.
14. 川口眞理「タツノオトシゴ類の育児嚢の進化」第 123 回日本解剖学会シンポジウム「体表の進化生物学」, 東京、2018 年 3 月 (招待講演)
15. 川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢～形成メカニズムと進化～」第 70 回日本動物学会関東支部公開シンポジウム「魚類の多様な世界 ～魚はどのように進化したのか～」, 東京、2018 年 3 月 (口頭発表)
16. 竹野陸央・川口眞理・佐野香織・安増茂樹「メダカ孵化酵素 LCE と基質卵膜 ChgH のドッキングシミュレーションによる複合体形成」第 70 回日本動物学会関東支部、東京、2018 年 3 月 (ポスター発表)
17. 西野良英・川口眞理・佐野香織・安増茂樹「メダカを用いた正真骨魚類の卵膜合成機構の研究」第 70 回日本動物学会関東支部、東京、2018 年 3 月 (ポスター発表)
18. 岡沢耀平・川原玲香・川口眞理「妊娠中のタツノオトシゴの育児嚢で発現する遺伝子の探査」第 70 回日本動物学会関東支部、東京、2018 年 3 月 (ポスター発表)
19. 宮坂和希・川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢における C 型レクチンの局在」第 70 回日本動物学会関東支部、東京、2018 年 3 月 (ポスター発表)
20. 原田明里・川原玲香・川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢の形成に関わる候補遺伝子の発現解析」第 70 回日本動物学会関東支部、東京、2018 年 3 月 (ポスター発表)
21. 木下奈々・川原玲香・川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢における真皮層特異的マーカーの探査」第 70 回日本動物学会関東支部、東京、2018 年 3 月 (ポスター発表)
22. Mari Kawaguchi, Akari Harada, and Shigeki Yasumasu. “Formation of seahorse brood pouch.” Society for Integrative and Comparative Biology, San Francisco, USA, 2018 January 5.
23. Shigeki Yasumasu, Kaori Sano, Tatsuki Nagasawa, and Mari Kawaguchi. “Co-evolution of fish hatching enzyme and its substrate.” Society for Integrative and Comparative Biology, San Francisco, USA, 2018 January 6.
24. Kaori Sano, Shuhei Ohno, Akitaka Izuha, Keisuke Imai, Mari Kawaguchi, and Shigeki Yasumasu. “Neofunctionalization of duplicated hatching enzyme genes in the teleost evolution.” Society for Integrative and Comparative Biology, San Francisco, USA, 2018 January 6.
25. 原田明里・川口眞理「組織観察によるタツノオトシゴ類の育児嚢の進化過程」第 88 回日

- 本動物学会、富山、2017年9月(口頭発表)
26. 長澤竜樹・川口眞理・矢野十織・安増茂樹・岡部正隆「真骨魚類の進化過程において孵化酵素遺伝子が頻りに経験した retrotranslocation と intron-loss の関係」第 88 回日本動物学会、富山、2017年9月(口頭発表)
 27. 西野良英・安増茂樹・川口眞理・佐野香織「メダカ卵巣で発現する ZP 遺伝子の機能解析」第 88 回日本動物学会、富山、2017年9月(口頭発表)
 28. 堀江望由季・安増茂樹・川口眞理「真骨魚類の卵膜硬化の分子メカニズム」第 88 回日本動物学会、富山、2017年9月(口頭発表)
 29. 原田明里・川口眞理「タツノオトシゴとイシヨウジの育児嚢の組織観察」第 50 回日本魚類学会、函館、2017年9月(口頭発表) 優秀口頭発表賞受賞
 30. 佐野香織・横山莉沙・竹垣毅・川口眞理「ロウソクギンポ *Rhabdoblennius nitidus* の孵化におけるオスのアシスト」第 50 回日本魚類学会、函館、2017年9月(ポスター発表)
 31. 川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢の形成と雄性ホルモンによる誘導」第 19 回日本進化学会シンポジウム「エボデボから見る非モデル生物研究の魅力」、京都、2017年8月(招待講演)
 32. 長澤竜樹・川口眞理・矢野十織・安増茂樹・岡部正隆「真骨魚類の進化過程において孵化酵素遺伝子は intron を失いながら、頻りに retrotranslocation を起こした」第 19 回日本進化学会、京都、2017年8月(ポスター発表)
 33. 川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢形成に関わる遺伝子の探査」第 3 回ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会、岡崎、2017年8月(招待講演)
 34. Mari Kawaguchi. "Morphological observation of formation of seahorse brood pouch." 3rd International Syngnathid Biology Symposium (SyngBio 2017), Florida, USA, 2017 May.
 35. 原田明里・川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢を構成する組織の形成過程」第 69 回日本動物学会関東支部、東京、2017年3月(ポスター発表)
 36. 高梨亜登・川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢の形成はアンドロゲンによって誘導される」第 69 回日本動物学会関東支部、東京、2017年3月(ポスター発表)
 37. 会田裕貴・長澤竜樹・川口眞理・安増茂樹「チョウザメにおける孵化腺細胞の分泌様式」第 69 回日本動物学会関東支部、東京、2017年3月(ポスター発表)
 38. 日野由佳子・長澤竜樹・川口眞理・安増茂樹「CRISPR/Cas9 法によるメダカ KLF17 遺伝子のノックアウト」第 69 回日本動物学会関東支部、東京、2017年3月(ポスター発表)
 39. 竹野陸央・藤田正博・藤田恭子・川口眞理・安増茂樹「ニジマス孵化酵素の卵膜分解機構」第 69 回日本動物学会関東支部、東京、2017年3月(ポスター発表)
 40. 川口眞理・西田 睦「おさかな周期表～魚類の多様な系統と分類の理解をめざして～」第 101 回日本生物教育学会、東京、2017年1月(口頭発表)
 41. Ryohei Okubo, and Mari Kawaguchi. "Morphological observation of formation of seahorse brood pouch." Non-conventional animal models surfing the new waves of cutting-edge technologies. Joint Meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th meeting of Zoological Society of Japan, Okinawa, Japan, 2016 November. (招待講演)
 42. Shigeki Yasumasu, Kaori Sano, Tatsuki Nagasawa, and Mari Kawaguchi. "Molecular co-evolution of a hatching enzyme and its substrate." Joint Meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th meeting of Zoological Society of Japan, Okinawa, Japan, 2016 November.
 43. Kaori Sano, Shuhei Ohno, Akitaka Izuha, Mari Kawaguchi, Shigeki Yasumasu. "Production of a neofunctionalized hatching enzyme from a recombinant enzyme with ancestral activity by amino acid mutation." Joint Meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th meeting of Zoological Society of Japan, Okinawa, Japan, 2016 November.
 44. Tatsuki Nagasawa, Tohru Yano, Mari Kawaguchi, Shigeki Yasumasu, and Masataka Okabe. "The conserved enhancer of the hatching enzyme gene in ray-finned fish." Joint Meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th meeting of Zoological Society of Japan, Okinawa, Japan, 2016 November.
 45. 大窪遼平・川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢の形態学的観察」第 49 回日本魚類学会、岐阜、2016年9月(ポスター発表)
 46. 川口眞理・大窪遼平・川原玲香・井ノ口繭・金子豊二「タツノオトシゴ類の孵化様式」生物資源ゲノム解析拠点シンポジウム・研究発表会、東京、2016年9月(ポスター発表)
 47. 川口眞理「タツノオトシゴの育児嚢の形成」第 2 回ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会、岡崎、2016年8月(招待講演)
 48. 福岡明子・竹花佑介・豊田敦・成瀬清・安増茂樹・川口眞理「メダカ属は淡水型と汽水型の 2 種類の孵化酵素をもつのか？」第 18 回日本進化学会、東京、2016年8月(口頭発表)
 49. 長澤竜樹・矢野十織・川口眞理・安増茂樹・岡部正隆「ゼブラフィッシュ孵化酵素遺伝子のエンハンサー解析」第 18 回日本進化学会、東京、2016年8月(口頭発表)
 50. 佐野香織・島田将・川口眞理・安増茂樹「真骨魚類卵膜遺伝子の進化」第 18 回日本進化学会、東京、2016年8月(ポスター発表)

〔図書〕(計 3 件)

1. 川口眞理 (2018) 『魚類学の百科事典』8章「孵化」pp.398-399, 丸善
2. 川口眞理 (2018) 『魚類学の百科事典』9章「孵化に関わる遺伝子」pp.462-463, 丸善,
3. Mari Kawaguchi and Keiichi Sato (2018) Pregnancy and parturition: teleost fishes and elasmobranchs. In Penny Swanson and Michael K. Skinner, editors: Encyclopedia of Reproduction, Second Edition, Volume 6, Elsevier, pp.436-442.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。