

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 19 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26840079

研究課題名(和文) オタマボヤをもちいた発生遺伝学の展開に向けた遺伝学技術の導入と発生現象の調査

研究課題名(英文) Developmental biology of the appendicularian, *Oikopleura dioica*: Tool development and study of developmental phenomena.

研究代表者

小沼 健 (Onuma, Takeshi)

大阪大学・理学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30632103

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ワカレオタマボヤ *Oikopleura dioica*は、10時間という器官形成の早さ、約3000個と少ない細胞数などユニークな特性を備える。発生生物学の新しいモデル動物として位置づけ、遺伝学技術の導入と発生現象の調査を進めた。2年の研究期間内に、(1) 卵と幼生における全mRNA配列の決定、(2) 二本鎖DNAを介する遺伝子の機能阻害現象の発見、(3) 電子顕微鏡による成体の形態情報の取得、(4) 表皮細胞のパターン形成や、体の左右性に関連した細胞系譜の非対称性の解析、(5) 胚の組織染色を効率的に行う方法の開発、(6) ゲノム配列の取得および発生時系列をカバーした全転写産物量の決定を進めた。

研究成果の概要(英文)：The appendicularian, *Oikopleura dioica*, is a planktonic tunicate with a chordate body plan. It is proposed as a simplest model chromate because of its transparency, small cell number, simple body organization, and rapid development. This study aimed to develop genetic approaches and study developmental phenomena of *O. dioica*. Several major progresses are made during the 2 years for research period: (1) RNA-seq and de novo assemble of mRNAs in eggs and larvae were carried out; (2) A new gene knockdown phenomena induced by double-stranded DNA was found and reported as DNAi; (3) A morphological atlas of adults based on scanning electron microscopic observation was generated; (4) Trunk epidermis patterning and assymetries of cell lineage of adult body were described with the aid of live imaging techniques; (5) A easy-to-use protocol to detect mRNAs in embryos was developed; and (6) Genome and developmental transcriptome databases are under constructions.

研究分野：発生生物学、発生遺伝学

キーワード：オタマボヤ 脊索動物 胚発生 器官形成 ゲノム トランスクリプトーム 細胞系譜 ライブイメージング

### 1. 研究開始当初の背景

ワカレオタマボヤ *Oikopleura dioica* は、脊索動物門尾索動物亜門オタマボヤ綱に属する海洋性プランクトンである。私たちヒトと共通な脊索動物型の体制を持ちながら、世代時間が 5 日と短く、体の細胞数が 3000 個程度と少ない。受精から孵化までが 3 時間、器官形成の完了まで 10 時間と、発生がきわめて早い。受精から孵化前までの細胞系譜が解明されており、胚発生に細胞レベルの個体差がない。またゲノム配列や、遺伝子発現のデータベースが利用できる。これらの特性をもちいれば、脊索動物の胚発生や器官形成を、(1) 細胞の系譜・位置・個数などを網羅してとらえ、(2) その制御遺伝子の働きと結びつけて精密に理解できると期待される。代表者は 2012 年よりオタマボヤの研究を開始し、ライブイメージング法や、遺伝子機能のノックダウン法を開発してきた。

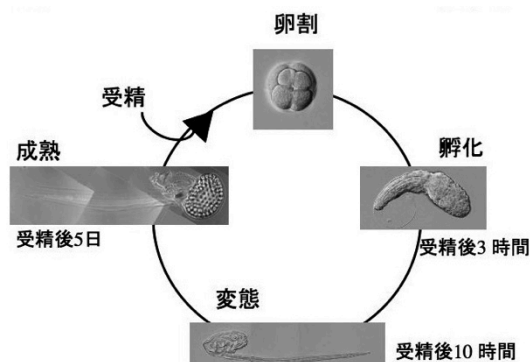


図 1 ワカレオタマボヤの生活環

### 2. 研究の目的

本研究では、オタマボヤをもちいて、線虫のように「単純な体の実験動物の利点」をもつ脊索動物をつくり、発生学を含む基礎生物学全般にかかわる新しい研究領域を開拓していくことを目標とした。

開始当初は、1) トランスジェニック個体の作成、2) 発生の制御遺伝子の特定、3) 未踏の発生現象の実体解明の 3 点を目的としたが、これ以外にも幅広い進展がみられた。ここでは、以下について述べる。

- (1) 二本鎖 DNA がトリガーとなる遺伝子機能のノックダウン現象の発見
- (2) 表皮細胞のパターン形成や、体の左右性に関連した細胞系譜の非対称性の理解
- (3) 電子顕微鏡による成体の形態情報の取得
- (4) 胚の *in situ* hybridization を効率的に行う方法の開発
- (5) 卵と幼生のトランスクリプトーム解析
- (6) 日本産オタマボヤのゲノム配列の決定と発生時系列 RNA-seq 解析

### 3. 研究の方法

ワカレオタマボヤは、兵庫県赤穂市の沿岸で採取したものを研究室で 3 年以上にわたり大規模に累代飼育しており、安定して材料を

供給できる環境が整っている。また、mRNA や DNA を卵巣に注入し、生まれてくる多数の卵や胚に取り込ませる技術を保持している。これらを活用して、以下を進めた。

(1) 「外来遺伝子をゲノムに導入する方法 (トランスジェネシス)」や「変異体の作成方法 (ミュータジェネシス)」の開発に取り組んだ。これらは近縁種であるホヤで確立されているが、オタマボヤではその開発が長年上手く行かず停滞している。ここでは、トランスポゾンやゲノム編集技術 (TALEN) を検討した。トランスポゾンをもちいて、筋肉アクチン遺伝子のプロモーターの制御下で EGFP を発現する DNA 配列をゲノムに挿入することを試みた。また、遺伝子のノックインを試す第一段階として、脊索形成のキー転写因子である *Brachury* (*Bra*) を標的にした TALEN を作成した。これを mRNA 注入により発現させ、*Bra* プロモーターの下流に EGFP をつないだトランスジーンを導入することを試みた。

(2) 表皮細胞のパターン形成を調べるため、核や細胞膜を蛍光マーカータンパク質で標識し、蛍光顕微鏡下でタイムラプス追跡した。さらに、体の左右性を調べるため、可変色蛍光タンパク質の *nls-Kaede* を発現させた 2 細胞胚の片方の割球に紫外光を当て、赤く標識する方法を確立した。標識しない割球の子孫細胞は緑の蛍光のみとなる。器官形成が完了する 10 時間後まで育て、デコンボリューション型の蛍光顕微鏡 (デルタビジョン) をもちいて Z スタック画像を取得した。

(3) 発生や生理機能を調べる基盤情報として、走査型電子顕微鏡 (SEM) により成体の内部・外部の構造を調べた。2% グルタルアルデヒドと 1% パラホルムアルデヒドで固定後、試料を切断、または臨界点乾燥後に両面テープで表面をはがして内部を観察した。

(4) 胚の whole-mount *in situ* hybridization (WISH) を検討した。胚の WISH を行うには、卵膜の除去が重要になる。しかしオタマボヤは生きたまま卵膜を除くと容易に形が崩れるか発生異常になる。従来は、固定をした後に手作業で卵膜を取り除くのが一般的だが、熟練と労力を要する作業で、大量の試料を用意しにくい。生きた胚をプロテアーゼ処理して卵膜をプローブが通過できるようにすれば、この問題を解決できるかもしれないと考えた。32 細胞胚には将来脊索となる割球が 2 つあり、*Bra* が発現することが知られているので、この遺伝子を標的にして検討した。

(5) オタマボヤの未受精卵と受精後 8 時間幼生で RNA-seq を行った。*de novo assemble* により転写産物の配列を決定した (バイオインフォマティクス解析は Kai Wang 博士による)。(6) 日本産オタマボヤのゲノム配列および、発生段階をカバーしたトランスクリプトーム情報の取得に取り組んだ。オタマボヤは非常に小さく、解析には大量の個体が必要になる。アレル間のバリエーションの影響を減らす

ため、一ペアの親由来の子孫を3回近親交配した集団を広げ、ここから試料採取に取り組んだ。精巢およそ300尾分から pair end ライブラリと mate pair ライブラリをつくり、illumina HiSeq4000 によるシーケンス解析を行った(シーケンスは BGI Japan に受託)。同時に、メスの卵巣を150個体分集めた pair end ライブラリも解析した。ワカレオタマボヤは XY 型の性決定をすることが分かっているため、オスとメスの配列を比較することで、常染色体と Y 染色体を識別することを試みた。

さらに2015年度の新学術領域「ゲノム支援」のサポートを受け、以下2つの解析を進めた: 1) ゲノム配列のアセンブルを促進するため、PacBio によるロングリード配列の取得を進めた。約150尾分の精巢から15ug、かつ平均長50kbのゲノムDNAを取得した(ライブラリ作成・シーケンスは、遺伝研の豊田敦准教授との共同研究)。2) 発生段階をカバーしたトランスクリプトーム情報の取得を行った。未受精卵から幼若体まで13ステージ分の total RNA を集めた。同様に、近縁種のマボヤでも12ステージ分のサンプルを集めた。リード配列のマッピングや定量解析のため、strand-oriented ライブラリを作成した Biological replicate は3とし、合計79試料(上記と異なる試料を4点含む)を解析に供した。(ライブラリ作成・シーケンスは、東大の鈴木穰教授との共同研究)。

#### 4. 研究成果

##### (1) 遺伝子導入法の開発と、DNAi の発見

7種類のトランスポゾン进行测试したところ、Tol2、TcBuster、PiggyBac の3つは、mRNA 注入により転移酵素が翻訳され、核に局在することが分かった。これらをもちいて、筋肉アクチンプロモーター:蛍光タンパク質の DNA(図2A)の導入を試みた。一部の F1 世代のゲノムDNAを抽出してゲノムPCRを行ったところ、一部の子孫ではトランスジーンに対応するサイズの PCR 産物が検出されており、導入DNAがゲノムに挿入された可能性が出て来た(図2B)。しかし、筋肉が光る F1 世代は得られなかった。

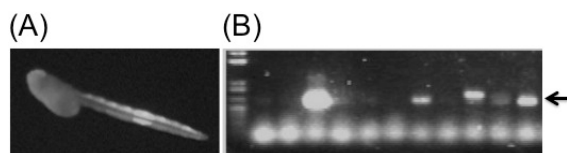


図2 (A) 筋肉アクチンプロモーターによる、筋肉での蛍光タンパク質の発現。(B) F1 個体でのゲノムPCR。矢印がレポーター遺伝子の予想サイズ。

次に、TALEN をテストした。Bra 遺伝子を標的にした TALEN を作成し、mRNA を注入したが、当該遺伝子のノックダウンでみられる脊索形成の異常はみられなかった。注入した mRNA の翻訳が起きていない可能性を考慮し、N 末を Flag タグで標識して、Flag の抗体染色を行った結果、核にわずかなシグナル

が検出された。しかし、標的配列の切断を引き起こすのに十分量のタンパク質が翻訳されたのかは疑問が残るので、遺伝子配列の切断にこの方法が適切かはさらに検討が必要である。今後は、CRISPR/Cas9 システムも導入し、また、mRNA ではなく、精製したタンパク質を注入するなどの改善を計る。

上記の取り組みから、オタマボヤに特有の問題が2つ見えてきた。一つは、顕微注入した mRNA が翻訳されない場合が多いことである。すなわち、特定の mRNA の翻訳を妨げる機構が存在すると考えられる。事実、上記の7種類の転移酵素 mRNA は、カタユウレイボヤ胚に注入すると、すべて翻訳された。もう一つの問題は、外来の DNA コンストラクトの発現効率が悪く、注入胚の数%のみしか光らないことである。以上から、オタマボヤは他のモデル動物と比べ、外来遺伝子への抑制反応が強いことはほぼ確実であり、外来DNAをゲノムに挿入できても発現しない可能性が高い。この抑制反応の実体は謎だが、トランスジェニック個体の作成には避けて通れない問題であり、今後も検討を進めたい。

この取り組みの副産物として、新しい遺伝子の発現抑制現象を発見し、DNAi と名付けた。Bra 遺伝子をコードするリニアな二本鎖 DNA を注入したところ、RNAi と酷似した脊索の形成不全が生じた。この効果は配列特異的で、他の遺伝子の PCR 産物を注入した胚では脳や内胚葉の形成不全を確認した。また、この作用は mRNA 分解のみならず、転写抑制も介する可能性が示唆された(Omotezako et al., 2015、報道関連情報を参考)。PCR 産物の注入のみで遺伝子をノックダウンできるので、発生にかかわる遺伝子を安価かつ容易にスクリーニングできるようになった。すでに母性 mRNA のスクリーニングを行い、いくつかの発生関連遺伝子の特定に成功している(表迫ら、投稿準備中)。また現在、この DNAi の作動機序の解析を進めている。当初と異なる展開となったが、「発生遺伝学的なアプローチを行う」という目的に見合った成果が得られ、オタマボヤの実験動物としての有用性を向上させることができたと考えている。

##### (2) 表皮細胞のパターン形成や、体の左右性に関連した細胞系譜の非対称性の理解

オタマボヤの表皮は一層の細胞よりなり、領域ごとに特有かつ個体差のない配列パターンをもつ。核や細胞膜のライブイメージングによりこのパターン形成を記載した。その結果、1) 領域ごとに細胞の形、分裂方向や分裂を終える時期が異なること、2) 特定の細胞が移動してロゼッタ状の領域をつくること、3) 背中側に正中線の細胞が一行あること、その系譜、4) 腹側に幹細胞様に活発に分裂する細胞があること、5) 2細胞胚の両割球の子孫細胞の境界と、正中線の境界が一致しないことなどが分かった(岸ら、投稿準備中)。

また、左右非対称性の形成にアプローチするため、2細胞胚の片側の割球を Kaede で赤く標識し、幼若体の子孫細胞の分布を調べた(図3)。その結果、筋肉、脊索、表皮、内柱、oral gland など、左右対称な形をもつ器官のほぼ全てが、系譜レベルの由来が非対称なことが明らかになった。最も顕著な例は内柱で、大型の細胞層がすべて左割球由来だった。左右対称な器官の全細胞が、2細胞胚の片方の割球のみに由来する例はおそらく初めてある。

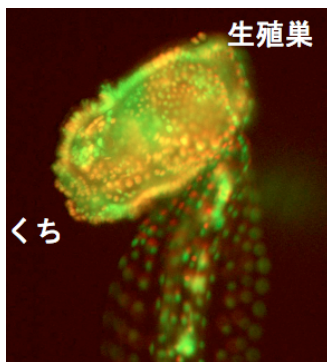


図3 結果の一例。標識割球の子孫細胞の核が赤くみえる。

他にも、2細胞胚の左右割球の活動レベルでの違いなどの予想外の知見を見出している。これらを統合することで、既知のどの脊索動物のものとも異なる、左右非対称性の新しい形成概念を打ち出せるものと期待している。

### (3) 走査型電子顕微鏡による成体の観察

走査型電子顕微鏡(SEM)により、成体のほぼすべての組織や器官の観察に成功した。試料の調整法を工夫し、表皮、咽頭部、内柱、消化器系、心臓、脳と標的器官、尾の内部、生殖巣などを観察した。過去の形態学的知見の確認に留まらず、「卵形成初期の卵巣では表層部から膜が高密度かつ鉛直方向に陥入すること」などの新知見も得られた。以上のように、3D形態を網羅したSEM画像集アトラスをつくり、発生学・生理学を進める基盤情報を構築した(小沼ら、投稿中)。

### (4) 胚のホールマウント *in situ* hybridization を効率的に行う方法の開発

胚を 0.05%アクチナーゼ液で処理すると、ホールマウント *in situ* hybridization (WISH) が可能になることを見出した。処理胚を固定後、Bra mRNA の WISH を行った結果、脊索運命をもつ数個の割球が染まった。他方、未処理の胚は染まらなかった。処理時間を検討したところ、20°Cで2分が効果的なことが分かった。オタマボヤの初期胚の細胞周期は5-10分と短い、任意のステージの胚を得るのには有効である。以上より、オタマボヤの胚のもろさ、卵膜除去の煩雑さを克服する方法を確立した(小沼ら、投稿準備中)。この方法は現実上2つのメリットがある。すなわち、1) WISH にはある程度の数の胚が必要だが、手間が圧倒的に減ること、2) 残った卵膜が「緩衝剤」となり、操作時の物理的衝撃で胚

が壊れるリスクが下がることである。今後は、多数の(数10-100種類の)遺伝子の発現解析も現実的なものになったといえる。

### (5) 卵と幼生における全 mRNA 配列の決定

日本産オタマボヤの未受精卵と幼生(受精後8時間)をもちいて RNA-seq を行い、それぞれ 4Gb ほどのクリーンリードをもちいて、Trinity による *de novo* assemble を行った。主な結果は3つである。1) 86,898種類の転写産物の配列(N50=1,806ヌクレオチド)が得られた。Oikobase 上には、タンパク質をコードすると予想される 16,423 遺伝子が存在するが、そのうち 95%の mRNA 配列を回収できた。さらに、これまで予想されていなかった 175 遺伝子を同定した。2) 日本産とノルウェー産ではエクソン領域の同種内多型が予想外に多く、アミノ酸は平均 94%、塩基配列は平均 91%の保存性であった。おそらく、これがゲノムブラウザーへのマップ率が低かった理由と考えられる。3) スプライシングリーダー (SL) 配列をもつ転写産物は、母性 mRNA に多いことが分かった。以上の RNA-seq の結果をもとに、オタマボヤの Blast サーバーを構築した (Wang et al., 2015)。

### (6) ゲノム配列の決定と時系列 RNA-seq 解析

ゲノムシーケンスについては、Illumina による PE ライブラリーのシーケンスを終え、40Gb 分以上(オタマボヤのゲノムサイズの400倍以上)のクリーンリードを得て、アセンブルを終えた段階である。PacBioII によるロングリード配列についても、平均長 40Kb 以上の高品質のゲノム DNA を取得し、そのシーケンスが進行中である。これらが揃いしだい、ゲノムアセンブルを行う。また、Y染色体の情報を得るため、PE ライブラリーはオスだけでなく、メスからも作成した。期待どおり、メスから得られたリード配列がマップされない、すなわち Y 染色体由来と思われるスカフォールド配列が多数見つかった。このように、配列決定がすすんで来たので、今後は遺伝子予測や多型解析を行い、ゲノム情報の構築を完了したい。

(5)の RNA-seq を端緒とし、発生段階の 14 ステージ(未受精卵から幼若体)をカバーしたトランスクリプトーム解析を進めた。ここでは、リード数の定量解析を行うため、biological replicate は3として、合計 43 サンプルを集めた。オタマボヤの胚一つあたりの total RNA は 1ng 以下と少ないので試料の採取に苦労したが、ほぼ4ヶ月をかけて採取を終え、ライブラリー作成に足りる品質の total RNA を精製した。ゲノム支援のサポートのもと、polyA 配列をもつ RNA の精製、strand-oriented ライブラリーの作成を終えた。リードサイズ 100 bp にてシーケンスを完了し、ライブラリーあたり 0.8Gb 以上の配列データを取得した。現在、その解析とデータベース化に着手している。



以上のように、当初の期待以上の進展が得られた。「オタマボヤの生物学的な特性を活かし、発生学や生物学の新領域を開拓する」ことを念頭に、今後もさらに研究を進めたい。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

Kishi K, Onuma TA and Nishida H (2014).

Long-distance cell migration during larval development in the appendicularian, *Oikopleura dioica*.

*Developmental Biology* 395(2): 299-306.

doi: 10.1016/j.ydbio.2014.09.006. Epub 2014 Sep 16. PMID: 25224225

Omotezako T, Onuma TA and Nishida H (2015). DNA interference: DNA-induced gene silencing in the appendicularian *Oikopleura dioica*.

*Proceedings of the Royal Society B* 282(1807):

20150435. doi: 10.1098/rspb.2015.0435.

PMID: 25904672

Wang K, Omotezako T, Kishi K, Nishida H and Onuma TA (2015). Maternal and zygotic transcriptomes in the appendicularian, *Oikopleura dioica*: Novel protein-encoding genes, intra-species sequence variations, and trans-spliced RNA leader.

*Development Genes and Evolution* 225(3):

149-159. doi: 10.1007/s00427-015-0502-7.

Epub 2015 Jun 2. PMID: 26032664

岸香苗, 西田宏記, 小沼健 (2016)

実験動物紹介: ワカレオタマボヤ.

*比較内分泌学* 157: 1-4.

表迫竜也, 西田宏記, 小沼健 (2016)

脊索動物ワカレオタマボヤにおける2つの遺伝子サイレンシング機構: RNA interference と DNA interference.

*比較内分泌学* 157: 5-7.

Kodama H, Miyata Y, Kuwajima M, Izuchi R, Kobayashi A, Gyoja F, Onuma TA, Kumano G, Nishida H (2016).

Redundant mechanisms are involved in suppression of default cell fates during embryonic mesenchyme and notochord induction in ascidians.

*Developmental Biology* 印刷中

[学会発表] (計 21 件)

岸香苗, 小沼健, 西田宏記. Mechanisms of three long-distance migrations during larval development of the appendicularian, *Oikopleura dioica*. 日本動物学会第 85 回大会, 口頭発表

(1B1415) (仙台, 東北大学川内北キャンパス, 2014/9/11-13)

林桃子, 小沼健, 西田宏記. Development of left-right asymmetry in the appendicularian, *O. dioica*: Fate mapping of the left or right blastomere of two-cell stage embryo. 日本動物学会第 85 回大会, 口頭発表 (1B1430) (仙台, 東北大学川内北キャンパス, 2014/9/11-13)

小沼健, 磯部美穂, 西田宏記. Scanning electron microscopic observation of the appendicularian, *Oikopleura dioica*. 日本動物学会第 85 回大会, 口頭発表 (1B1500) (仙台, 東北大学川内北キャンパス, 2014/9/11-13)

小沼健, ワカレオタマボヤ形態の走査型電子顕微鏡 SEM による記載. (西田宏記研究室, オタマボヤグループ (表迫竜也, 岸香苗, 小沼健.) オタマボヤをもちいた発生学研究の近況). ホヤ研究会 2014, 口頭発表 (要旨集 pp22-23) (東京, 筑波大学, 2014/10/13-14).

表迫竜也, 小沼健, 西田宏記. RNA interference と DNA interference: 脊索動物ワカレオタマボヤ (*Oikopleura dioica*) における遺伝子サイレンシングシステム. 第 37 回日本分子生物学会年会, 口頭・ポスター発表 (2P-0009, 2W6-9) (横浜, パシフィコ横浜, 2014/11/25-27).

岸香苗, 林桃子, 小沼健, 西田宏記. ワカレオタマボヤ幼生の形態形成過程. 2015 年度日本動物学会近畿支部研究発表会, 口頭発表 (奈良, 奈良女子大学, 2015/5/16).

岸香苗, 林桃子, 小沼健, 西田宏記. Oikoplasmic epidermal patterning in the trunk of the appendicularian, *Oikopleura dioica*. 第 48 回日本発生生物学会, 口頭・ポスター発表 (OP01-FT5, P044) (筑波, つくば国際会議場, 2015/6/2-5)

小沼健, 磯部美穂, 西田宏記. Internal and external structures of the appendicularian, *Oikopleura dioica*. 第48回日本発生生物学会, 口頭・ポスター発表 (OP01-FT6, P045) (筑波, つくば国際会議場, 2015/6/2-5)

Wang K, Omotezako T, Kishi K, Nishida H, Onuma TA. Maternal and zygotic transcriptomes Maternal and zygotic transcriptomes in the appendicularian, *Oikopleura dioica*: Novel protein-encoding genes, intra-species sequence variations, and trans-spliced RNA leader. 第48回日本発生生物学会, 口頭・ポスター発表 (OP19-FT6, P001) (筑波, つくば国際会議場, 2015/6/2-5)

Onuma TA, Isobe M, Nishida H. Internal and

external morphology of adults of the appendicularian, *Oikopleura dioica*: A SEM study. The 8<sup>th</sup> International Tunicate Meeting, oral presentation (Aomori, Aomori City Cultural Hall, 2015/07/13-17).

Kishi K, Hayashi M, Onuma TA, Nishida H. Morphogenesis and patterning of the trunk epidermis of the appendicularian, *Oikopleura dioica*. The 8<sup>th</sup> International Tunicate Meeting, oral presentation (Aomori, Aomori City Cultural Hall, 2015/07/13-17).

Wang K, Omotezako T, Kishi K, Nishida H, Onuma TA. Maternal and zygotic transcriptomes in the appendicularian, *Oikopleura dioica*: Novel protein-encoding genes, intra-species sequence variations, and trans-spliced RNA leader. The 8<sup>th</sup> International Tunicate Meeting, oral presentation (Aomori, Aomori City Cultural Hall, 2015/07/13-17).

Omotezako T, Onuma TA, Nishida H. DNA interference: new gene silencing method in the appendicularian, *Oikopleura dioica*: The 8<sup>th</sup> International Tunicate Meeting, poster presentation (Aomori, Aomori City Cultural Hall, 2015/07/13-17).

小沼健. (招待講演) “もっとも単純な体の脊索動物” をもちいて生物学の新たな領域を開拓する.ユニークな少数派生物を扱う若手研究者が最先端アプローチを勉強する会 (岡崎, 岡崎カンファレンスセンター, 2015/8/18-19).

小沼健, Kai Wang, 西田宏記. 脊索動物オタマボヤにおけるゲノム配列と発生段階トランスクリプトームの解析. 新学術領域研究「ゲノム支援」拡大班会議, ポスター発表 (京都, 国立京都国際会館アネックスホール, 2015/8/27-28).

岸香苗, 林桃子, 小沼健, 西田宏記. Epidermal patterning and lineage analysis of the appendicularian, *Oikopleura dioica*. 日本動物学会第86回大会, 口頭発表 (1C1330) (新潟, 朱鷺メッセ, 2015/9/17-19)

小沼健, 林桃子, 西田宏記. Left-right asymmetries in cell lineages during organogenesis of the appendicularian, *Oikopleura dioica*. 日本動物学会第86回大会, 口頭発表 (1C1345) (新潟, 朱鷺メッセ, 2015/9/17-19)

Kai Wang, 表迫竜也, 岸香苗, 西田宏記, 小沼健. Maternal and zygotic transcriptomes in the appendicularian, *Oikopleura dioica*. 日本動物学会第86回大会, 口頭発表 (1C1400) (新潟, 朱鷺メッセ, 2015/9/17-19)

平尾早智澄, Kai Wang, 小沼健, 西田宏記, 小笠原道生. Expression of thyroid and endostyle related genes in *Oikopleura dioica*. 日本動物学会第86回大会, 口頭発表 (1C1630) (新潟, 朱鷺メッセ, 2015/9/17-19)

小沼健. (招待講演) オタマボヤにおける新規の遺伝子抑制現象 (DNAi) ならびに性分化・配偶子産生研究の展望. 生有研シンポジウム「性と成熟: その普遍性と多様性を支える機構」 (京都, サントリーワールドリサーチセンター, 2016/2/5).

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

報道関連情報

DNAi の発見は、日本とアメリカの以下の二つの記事に取り上げられた。

①読売新聞

2015年6月1日

「タンパク質合成 DNA が阻害」

②The Scientist Magazine (USA)

2015年7月1日

「Metazoans in the DNAi Club」

<http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/43335/title/Metazoans-in-the-DNAi-Club/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小沼健 (ONUMA, Takeshi)

大阪大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号: 30632103

(2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

なし ( )

研究者番号: