

令和 4 年 5 月 12 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2017～2021

課題番号：17KT0023

研究課題名(和文) 複雑な消化管形態形成の自己組織化を単純な動物を使って理解する

研究課題名(英文) Self-organization of elaborate digestive tract in the simple chordate

研究代表者

西田 宏記(Nishida, Hiroki)

大阪大学・理学研究科・教授

研究者番号：60192689

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：複雑な形態が個体差なく形作られるしくみの解明は体の発生過程の理解にとって重要である。そのしくみの解明には、細胞レベルでの解像度を持ったライブイメージングが不可欠であり、そのための利点に富んだオタマボヤを実験材料とし研究を行った。まず、ブロックフェース走査型電子顕微鏡を用い孵化直後の幼生と体が完成した幼若体を細胞レベルで立体構築した。つぎに、口の形成過程を詳細に4Dライブイメージングで観察し、開口部や口腔の形成、および関連する感覚器官の発達のプロセスを細胞レベルで明らかにした。また、ゲノムブラウザを構築し、細胞接着分子のカドヘリン遺伝子をゲノムから網羅的にリストアップし、その発現を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

複雑な形態が個体差なく形作られるしくみの理解は遅れており、発生生物学の中でも、フロンティアとして位置づけられている。研究を実りあるものにするためには利点に富んだ適切な系の選択が研究の推進に重要となる。本研究により、オタマボヤはライブイメージングのための多くの利点を備えていることがわかった。オタマボヤは体幹部で起こる形態形成を容易かつ包括的に記録できるユニークな系を提供する。本研究は我々のオタマボヤの継代飼育技術と実験手法等の積み重ねを元に遂行したものであり、オタマボヤが3D形態形成のしくみを解明するのに多くの利点を持った系であることを広く示すことができたという点で学術的な意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Analyses of mechanisms on how intricate 3D structures of body and organs would contribute to our understanding of developmental processes. To this purpose, live imaging of developing animal with cellular resolution would provide crucial information. In this project, we used larvaceans with various advantages as a model system. First, each constitutive cell was mapped in 3D reconstruction of whole body and each organ with aid of serial block face scanning electron microscopy. Then, processes of mouth opening and formation of associated sensory organs were monitored using 4D fluorescence time-lapse recording. Genome browser was established and every cadherin gene in the genome were listed up. Their gene expression was analyzed during formation of tissue boundaries in the trunk.

研究分野：発生生物学

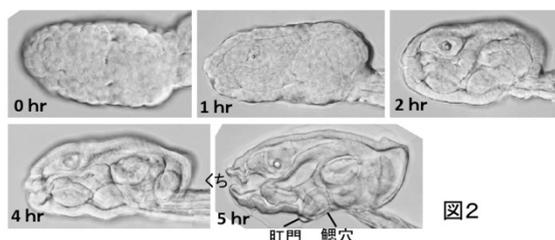
キーワード：器官形成 消化器官 形態形成 口形成 カドヘリン 走査型電子顕微鏡 オタマボヤ 脊索動物

## 1. 研究開始当初の背景

複雑な形態が個体差なく正確に形作られるしくみの理解は遅れており、発生生物学の中でも近年、フロンティアとして位置づけられている。3D 形態が発生過程を通してできあがっていくしくみの解明には、細胞レベルでの解像度を持ったライブイメージングが不可欠かつ強力なツールである。研究を実りあるものにするためには利点に富んだ適切な系の選択が研究の推進に大きく貢献すると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、ワカレオタマボヤ (*Oikopleura dioica*) をその系として提案し、5 時間の間に起こる消化管の形態形成を解析することを目的とした (右図)。オタマボヤは脊索動物門に属する海洋性プランクトンで、脊椎動物と共通な体制を持ちながらも世代時間が 5 日と短い。受精からオタマジャクシ幼生が孵化するまで 3 時間、成体と同じ構造が完成するまで 8 時間という発生の早さである。その後の 5 日間で、ほとんど体細胞の細胞分裂は起こらず、個々の細胞が大きくなっていくことで成長する。オタマボヤはホヤ類とは違い変態をせず、一生オタマジャクシ型の形態を持ち続ける。成体の細胞数は約 4000 個と少なく、孵化直後 (0 hr) のなにも構造が見えない体幹部の内部 (脳、消化管、鰓、生殖巣前駆細胞) は大きい細胞でできており、500 個くらいの細胞が存在している。よって、孵化後から形態形成完了 (5 hr) まで、平均して 3 回しか細胞分裂が起こらない。また、胚と成体は透明であり、加えてゲノム配列や遺伝子発現のデータベースが利用できるようにした。このような背景のもと、これまで築き上げてきた技術を活かしながら、オタマボヤの持つユニークな特徴を利用できる独自の系として体幹部の大部分を占める消化器官の 3D 形態の構築のしくみの解析を着想した。



## 3. 研究の方法

孵化した直後の幼生 (0 hr) は頭部と尾部の区別はつくものの、その体幹部は細胞塊のように見えるだけで、表皮と内部の組織境界さえも明らかではない。その後 1 時間で、何となく器官境界が見え始め、2 時間では各器官が独立した細胞塊となって認識できる。完成した消化管は複雑に湾曲した構造であるが、器官境界が認識できる 2 時間の時点でその湾曲した構造の輪郭がいきなり形成される。その前後に置いて、細胞移動はほとんど観察されない。続いて各塊が単層上皮化し、管腔を形成し、その末端が体外へと開口する。これら全ての過程は孵化後 5 時間 (受精後 8 時間) で完了する。よって、この系は解析に値する十分な複雑さを持ちつつ、他の動物の消化管形成に比較して、とても単純化された系だといえる。

3D 形態が時系列に従ってできあがっていくしくみの解明には、Z 軸を含むライブイメージングが不可欠であるが、オタマボヤでは、全ての過程は 5 時間程度で完了するので、包括的な解析に最適な系である。比較的光障害の低いデコンボリューション顕微鏡をもちいて、この期間を通して精力的に 4D (3D+t) ライブイメージングを行い、多面的かつ大量のデータの取得を行った。

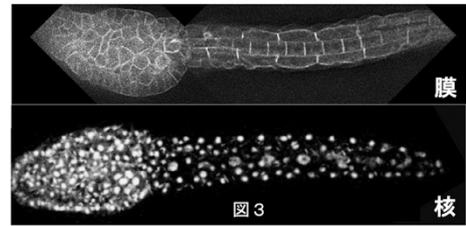
卵巣は多核体となっているため、夕方に卵巣に mRNA を注入しておくこと次の日の朝にそのメスから産まれてきた多くの未受精卵は蛍光タンパクをすでに発現した状態で生まれてくる。孵化後のオタマジャクシは泳いでしまうが、これまでの研究によりマウント方が確立している。尾を手製の微小ナイフで切断する方法と、尾の脊索形成に必要な *Brachyury* 遺伝子のノックダウン法である。これにより、幼生はスライドガラス上で動かなくなるので、タイムラプスビデオ録画をすることができる。今回の観察は体幹部の形態形成に限っており、尾が異常になっても体幹部は正常に形成される。

さらに、遺伝子の機能解析に関しては、我々がインフラを整えた日本産オタマボヤのゲノム配列や遺伝子発現のデータベースが利用できる。

#### 4. 研究成果

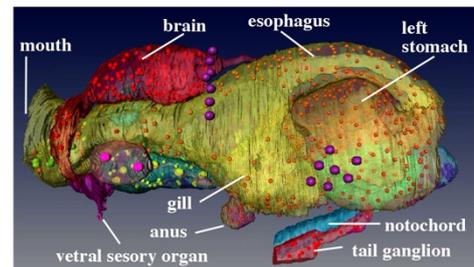
##### (1) 核と細胞膜を蛍光タンパク質で標識し、ライブイメージングを行った。

まず、核（ヒストン-mCherry）と細胞膜（PH-EGFP）を蛍光標識し、成体の体幹部の3D構築を行った。これにより、消化管がどのような細胞構成になっているかの概要を把握できた。次に、微分干渉顕微鏡を用い、4Dライブイメージングを行いかなりのデータ量を取得した。次いで、核（H2B-mCherry）・細胞膜（PH-YFP）を光らせ、Z軸を含む蛍光タイムラプスビデオで撮影も行を行った（右図）。



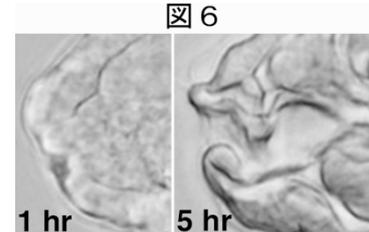
##### (2) ブロックフェース走査型電子顕微鏡 (SBF-SEM) を用いた3D画像再構築

さらに、孵化直後の幼生（内臓形成前、受精後3時間）と体が完成した幼若体（内臓形成完了時、受精後10時間）の形態を細胞レベルで詳細に把握するため、ブロックフェース走査型電子顕微鏡 (SBF-SEM) を用いて、それぞれ約2000枚の連続横断面画像を取得し、3D画像再構築と3D動画作成を体全体と各臓器ごとにおこない体幹部の臓器の構造と細胞構成を明らかにした。全ての細胞の核をトレースし、各臓器の構造と構成細胞数を細胞レベルで明らかにすることができた。その結果から、体幹部の詳細な構造が細胞レベルで理解できたと共に、幼生の形態形成過程ではたった数回の細胞分裂を経て、機能的な器官が誕生することがわかった。この成果は、ライブイメージングを用いて形態形成過程における細胞の挙動を分析するのに役に立つ基礎的データを提供することになる。この成果をコミュニティーが利用できるようにするため、至急、論文を作成し出版した。(Nishida et al., 2021)



##### (3) 口の形成機構：外胚葉と内胚葉の接続による開口

管腔形成、管腔の体外への開口について、そのしくみを調べるために口の形成過程を観察した。生命維持において食事を必要とする多細胞動物は、食物を摂取する器官として口を持つ。一般的に後口動物の口は、外胚葉と内胚葉の接続によって形成されることが知られている。よって、ワカレオタマボヤを用いて口の形成過程を解析した。口の形作りの過程を微分干渉顕微鏡でタイムラプス撮影すると共に（右図）、細胞膜や細胞核を蛍光標識した上で個々の細胞の動きについてライブイメージングを行い追跡した。その結果を論文として発表した。(Morita et al., 2020)



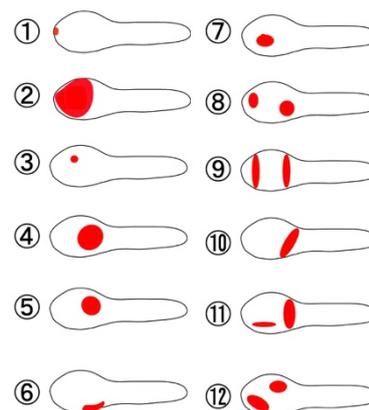
口の形成には、口の開口部の形成、口腔の形成、および関連する感覚器官の発達のプロセスが含まれる。感覚器としては口腔周囲神経には20個のコロナル細胞と2個の背側感覚器細胞がある。口の開口に際しては、2つの唇前駆細胞 (LPC) が孵化後約2時間後に背腹に細胞分裂し、2つの娘細胞の間にくさび状の裂け目を作り、背側唇細胞 (DLC) と腹側唇細胞 (VLC) となる。最終的には、DLC と VLC が剥離して背側唇と腹側唇に分離し、口が開くことがわかった。これは、細胞分裂そのものが形態形成に寄与しているという興味深い例である。その後、消化器官の管腔は前方から後方へと向かって進行する。次に、動物半球と植物半球の細胞を光変換可能な蛍光タンパク質を用いて標識したところ、外胚葉と内胚葉の境界が唇細胞とコロナル細胞の間に存在していることが示された。その結果、口腔内の上皮は背側領域では外皮由来であり、腹側領域では内皮由来である。加えて、オタマボヤでは背側感覚器細胞を含むすべての口周辺の感覚細胞は内胚葉由来であり、外胚葉プラコードには由来しないことがわかった。これらの口の形成に関する観察は、この単純な脊索動物における分子レベルでのさらなる研究のための細胞基盤を提供するものであると考えられる。

##### (4) カドヘリン遺伝子のリストアップとその発現解析

動物の発生における形態形成期の初期に、組織(器官)の境界形成が行われる。そこで、組織(器官)の境界形成のしくみにカドヘリンが関与すると考え、器官形成期におけるカドヘリン遺伝子群の発現を調べた。孵化直後の幼生の体幹部では特に明瞭な組織境界はまだできていない。その後、1時間で組織の境界が見えるようになるので、この時期のカドヘリンの発現に特に注目した。

器官境界の形成に関しては、異なるカドヘリンが器官原基特異的に発現し、器官境界での細胞接着性が弱まることによると想像した。研究開始時点で日本産オタマボヤのゲノム配列を決定しつつあったが、アッセムブリ、遺伝子アノテーション、ステージごとの RNA-seq 解析が完了して、ゲノムブラウザーを利用可能にした(Wang et al, 2020; Dardaillon et al., 2020)。

そこで、カドヘリン遺伝子を網羅的にリストアップし、19個の遺伝子をカドヘリンをコードしている遺伝子とした。リストアップしたそれぞれの遺伝子について、発生ステージごとの遺伝子発現量を staged RNA-seq の結果を用いて調べた結果、組織境界形成が始まる孵化直後から発現量が増加しているものが 16 遺伝子あった。よって、多種のカドヘリンの発現量が増加し始める時期と組織の境界形成が開始する時期が一致していることが分かった。これら 16 の遺伝子に関して、器官形成期の様々なステージ（孵化後 0, 1, 2, 5 時間）の幼生を用いてホールマウント *in situ* ハイブリダイゼーションによって発現部位を解析した結果、12 のパターンでの部位特異的な発現が見られた（右図）。以上の結果をもとに、器官形成期におけるカドヘリン遺伝子群の発現について組織境界形成と関連付けて考察した。今後、これらのカドヘリンのノックダウンによる機能解析を行う必要があると考えられる。



以上の研究からわかるように、オタマボヤはイメージングのための多くの利点を備えていることがわかった。毎日、卵を産ませることが可能であり、朝受精させると夕方には形態形成が完了している。よって、オタマボヤは体幹部で起こる形態形成を容易かつ包括的に記録できるユニークな系を提供する。我々のオタマボヤの継代飼育技術と実験手法等の基礎的積み重ねを元に遂行したものであり、オタマボヤが 3D 形態形成のしくみを解明するのに多くの利点を持った系であることを多くの研究者に知ってもらいたいと思っている。そのために、オタマボヤの発生関する総説を書いて最近出版した。(Onuma and Nishida, 2022)

## 主要論文

Dardaillon, J., Dauga, D., Simion, P., Faure, E., Onuma, T.A., DeBiasse, M.B., Louis, A., Nitta, K.R., Naville, M., Besnardeau, L., Reeves, W., Wang, K., Fagotto, M., Guérault-Bellone, M., Fujiwara S, Dumollard R, Veeman M, Volff JN, Roest Crollius H, Douzery E, Ryan JF, Davidson, B., Nishida, H., Dantec, C., Lemaire, P. ANISEED 2019: 4D exploration of genetic data for an extended range of tunicates. **Nucleic Acids Res.** (2020) 48, D668-D675. doi: 10.1093/nar/gkz955.

Morita, R., Onuma, T.A., Manni, L., Ohno, N., Nishida, H. Mouth opening is mediated by separation of dorsal and ventral daughter cells of the lip precursor cells in the larvacean, *Oikopleura dioica*. **Dev. Genes Evol.** (2020) 230, 315–327.

Nishida, H., Ohno, N., Caicci, F., and Manni, L. 3D reconstruction of structures of hatched larva and young juvenile of the larvacean *Oikopleura dioica* using SBF-SEM. **Scientific Reports** (2021) 11, 4833.

Onuma, T. A. and Nishida, H. Developmental biology of the larvacean *Oikopleura dioica* : Genome resources, functional screening, and imaging. **Dev. Growth Differ.** (2022) 64, 67–82.

Wang, K., Tomura, R., Chen, W., Kiyooka, M., Ishizaki, H., Aizu, T., Minakuchi, Y., Seki, M., Suzuki, Y., Omotezako, T., Suyama, R., Masunaga, A., Plessy, C., Luscombe, N.M., Dantec, C., Lemaire, P., Itoh, T., Toyoda, A., Nishida, H., and Onuma, T.A. A genome database for a Japanese population of the larvacean *Oikopleura dioica*. **Dev. Growth Differ.** (2020) 62, 450–461.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 23件／うち国際共著 11件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Nishida, H., Matsuo, M., Konishi, S., Ohno, N., Manni, L., and Onuma T.A.	4. 巻 481
2. 論文標題 Germline development during embryogenesis of the larvacean, <i>Oikopleura dioica</i> .	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Devevelopmental Biology	6. 最初と最後の頁 188-200
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ydbio.2021.10.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Onuma, T. A. and Nishida, H.	4. 巻 64
2. 論文標題 Developmental biology of the larvacean <i>Oikopleura dioica</i> : Genome resources, functional screening, and imaging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Dev. Growth Differ.	6. 最初と最後の頁 67-82
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/dgd.12769	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shih, Y., Wang, K., Kumano, G., and Nishida, H.	4. 巻 38
2. 論文標題 Expression and functional analyses of ectodermal transcription factors FoxJ-r, SoxF, and SP8/9 in early embryos of the ascidian <i>Halocynthia roretzi</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 26-35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/zs200128	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Nishida, H., Ohno, N., Caicci, F., and Manni, L.	4. 巻 11
2. 論文標題 3D reconstruction of structures of hatched larva and young juvenile of the larvacean <i>Oikopleura dioica</i> using SBF-SEM	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4833
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-83706-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Marti-Solans, J., Godoy, H., Diaz-Gracia, M., Onuma, T., Nishida, H., Albalat R., and Canestro, C.	4. 巻 9
2. 論文標題 Massive gene loss and function shuffling in appendicularians stretch the boundaries of chordate Wnt family evolution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers Cell Dev. Biol.	6. 最初と最後の頁 700827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2021.700827	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Dardailion, J., Dauga, D., Simion, P., Faure, E., Onuma, T.A., ..... , Nishida, H., Dantec, C., Lemaire, P.	4. 巻 48
2. 論文標題 ANISEED 2019: 4D exploration of genetic data for an extended range of tunicates.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 D668-D675
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkz955	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsuo, M., Onuma, T.A., Omotezako, T., Nishida, H.	4. 巻 460
2. 論文標題 Protein phosphatase 2A is essential to maintain meiotic arrest, and to prevent Ca <sup>2+</sup> burst at spawning and eventual parthenogenesis in the larvacean <i>Oikopleura dioica</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dev. Biol.	6. 最初と最後の頁 155-163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2019.12.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Onuma, T.A., Hayashi, M., Gyoja, F., Kishi, K., Wang, K., Nishida, H.	4. 巻 117
2. 論文標題 A chordate species lacking Nodal utilizes calcium oscillation and Bmp for left-right patterning.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA.	6. 最初と最後の頁 4188-4198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1916858117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang, K., Tomura, R., Chen, W., Kiyooka, M., Ishizaki, H., Aizu, T., Minakuchi, Y., Seki, Yutaka Suzuki, M., Omotezako, T., Suyama, R., Masunaga, A., Plessy, C., Luscombe, N.M., Dantec, C., Lemaire, P., Itoh, T., Toyoda, A., Nishida, H., and Onuma, T.A.	4. 巻 62
2. 論文標題 A genome database for a Japanese population of the larvacean <i>Oikopleura dioica</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dev. Growth Differ.	6. 最初と最後の頁 450-461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12689	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Morita, R., Onuma, T.A., Manni, L., Ohno, N., Nishida, H.	4. 巻 230
2. 論文標題 Mouth opening is mediated by separation of dorsal and ventral daughter cells of the lip precursor cells in the larvacean, <i>Oikopleura dioica</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dev. Genes Evol.	6. 最初と最後の頁 315-327
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00427-020-00667-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Coulcher, J. F., Roure, A., Chowdhury, R., Robert, M., Lescat, L., Bouin, A., Cadavid, J. C., Nishida, H., and Darras, S.	4. 巻 9
2. 論文標題 Conservation of peripheral nervous system formation mechanisms in divergent ascidian embryos.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLIFE	6. 最初と最後の頁 e59157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.59157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamada Shiori, Tanaka Yuka, Imai Kaoru S., Saigou Motohiko, Onuma Takeshi A., Nishida Hiroki	4. 巻 448
2. 論文標題 Wavy movements of epidermis monocilia drive the neurula rotation that determines left right asymmetry in ascidian embryos	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 173 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2018.07.023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Yuka, Yamada Shiiori, Connop Samantha L., Hashii Noritaka, Sawada Hitoshi, Shih Yu, Nishida Hiroki	4. 巻 449
2. 論文標題 Vitelline membrane proteins promote left-sided nodal expression after neurula rotation in the ascidian, <i>Halocynthia roretzi</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 52~61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2019.01.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Brozovic, M., Dantec, C., . . . . ., Nishida, H., Satou, Y., Swalla, B., Veeman, M., Volf, J-N., and Lemaire, P.	4. 巻 46
2. 論文標題 ANISEED 2017: Extending the integrated ascidian database to the exploration and evolutionary comparison of genome-scale datasets.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 D718-D725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkx1108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyaoaku, K., Nakamoto, A., Nishida, H., and Kumano, G.	4. 巻 13
2. 論文標題 Control of Pem protein level by localized maternal factors for transcriptional regulation in the germline of the ascidian, <i>Halocynthia roretzi</i> .	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0196500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0196500	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Somorjai, I. M. L., Marti-Solans, J., Diaz-Gracia, M., Nishida, H., Imai, K. S., Escrava, H., Canestro, C., and Albalat, R.	4. 巻 19
2. 論文標題 Wnt evolution and function shuffling in liberal and conservative chordate genomes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genome Biology	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13059-018-1468-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Negishi Takefumi、Nishida Hiroki	4. 巻 61
2. 論文標題 Asymmetric and Unequal Cell Divisions in Ascidian Embryos	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Results and Problems in Cell Differentiation	6. 最初と最後の頁 261 ~ 284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-319-53150-2_12	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Kai、Dantec Christelle、Lemaire Patrick、Onuma Takeshi A.、Nishida Hiroki	4. 巻 18
2. 論文標題 Genome-wide survey of miRNAs and their evolutionary history in the ascidian, <i>Halocynthia roretzi</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-017-3707-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kishi Kanae、Hayashi Momoko、Onuma Takeshi A.、Nishida Hiroki	4. 巻 428
2. 論文標題 Patterning and morphogenesis of the intricate but stereotyped oikoplastic epidermis of the appendicularian, <i>Oikopleura dioica</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 245 ~ 257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2017.06.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Onuma Takeshi A.、Matsuo Masaki、Nishida Hiroki	4. 巻 227
2. 論文標題 Modified whole-mount in situ hybridisation and immunohistochemistry protocols without removal of the vitelline membrane in the appendicularian <i>Oikopleura dioica</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Development Genes and Evolution	6. 最初と最後の頁 367 ~ 374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00427-017-0588-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Onuma, T. A., Isobe, M., and Nishida, H.	4. 巻 367
2. 論文標題 Internal and external morphology of adults of the appendicularian, <i>Oikopleura dioica</i> : an SEM study.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cell and Tissue Research	6. 最初と最後の頁 213-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00441-016-2524-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tokuhisa, M., Muto, M., and Nishida, H.	4. 巻 144
2. 論文標題 Eccentric position of the germinal vesicle and cortical flow during oocyte maturation specify the animal-vegetal axis of ascidian embryos.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 897-904
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.146282	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Omotezako, T., Matsuo, M., Onuma, T. A., and Nishida, H.	4. 巻 7
2. 論文標題 DNA interference-mediated screening of maternal factors in the chordate <i>Oikopleura dioica</i> .	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 44226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep44226	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計28件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Kai Wang, Ritsuko Suyama, Nakako Mizutani, Masaki Matsuo, Yu Peng, Masahide Seki, Yutaka Suzuki, Nicholas M. Luscombe, Christelle Dantec, Patrick Lemaire, Atsushi Toyoda, Hiroki Nishida and Takeshi A. Onuma
2. 発表標題 Transcriptomic analyses of the fast-developing chordate, <i>Oikopleura dioica</i> , uncover re-organization of transcription factors functioning in early embryos and the animal-vegetal axis specification
3. 学会等名 日本発生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱田 果歩、西田 遥香、児下 未佳、西田 宏記
2. 発表標題 マボヤの原腸陥入と単離内胚葉割球のブレブ形成
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takeshi A. Onuma, Momoko Hayashi, Fuki Gyoja, Kanae Kishi, Kai Wang and Hiroki Nishida
2. 発表標題 The larvacean <i>Oikopleura dioica</i> lacks Nodal and utilizes calcium oscillation and Bmp expression for left-right patterning.
3. 学会等名 日本発生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小沼健、西田宏記
2. 発表標題 脊索動物オタマボヤをもちいて左右形成の新しい領域を開拓する
3. 学会等名 第5回ホヤ研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西田宏記、西田遥香、児下未佳
2. 発表標題 マボヤの原腸陥入と単離内胚葉割球のブレブ形成活性について
3. 学会等名 第5回ホヤ研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小沼 健、秋山 正和、山崎 慎太郎、近藤 滋、西田 宏記
2. 発表標題 動物繊維をもちいたオタマボヤの「ハウス」建築
3. 学会等名 日本分子生物学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岸香苗，林桃子，小沼健，西田宏記
2. 発表標題 複雑で規則性のないパターンを個体差なく作り出すしくみ：オタマボヤの幼生発生にける表皮細胞のパターン形成
3. 学会等名 日本動物学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小沼 健、林 桃子、行者 蒔、岸 香苗、王 凱、西田 宏記
2. 発表標題 Nodal 遺伝子を持たない脊索動物オタマボヤにおける左右非対称形成
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 笠原 享祐、足立 千尋、望月 遊、大塚 玄航、西野 敦雄、小沼 健、西田 宏記、横堀 伸一
2. 発表標題 オタマボヤ綱ミトコンドリアゲノムの進化
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田宏記
2. 発表標題 SBF-SEM : 70 nmごとの電顕連続切片からオタマボヤの3D像を立体構築する実験の紹介
3. 学会等名 ホヤ研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shiori Yamada, Yuka Tanaka, Kaoru S. Imai, Motohiko Saigo1, Takeshi A. Onuma, Samantha L. Connop, Noritaka Hashii, Hitoshi Sawada, Hiroki Nishida
2. 発表標題 Neurula rotation and left-right asymmetry in ascidian embryos: Ciliary movements and the vitelline membrane signal
3. 学会等名 10th INTERNATIONAL TUNICATE MEETING (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeshi A. Onuma, Momoko Hayashi, Fumi Gyojya, Kanae Kishi, Kai Wang and Hiroki Nishida
2. 発表標題 A CHORDATE SPECIES LACKING NODAL UTILIZES CALCIUM OSCILLATION AND BMP4 FOR LEFT-RIGHT PATTERNING
3. 学会等名 10th INTERNATIONAL TUNICATE MEETING (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaki Matsuo, Takeshi A. Onuma, and Hiroki Nishida
2. 発表標題 Protein phosphatase 2A is essential to maintain meiotic arrest, and to prevent Ca <sup>2+</sup> burst at spawning and eventual parthenogenesis in the larvacean <i>Oikopleura dioica</i>
3. 学会等名 10th INTERNATIONAL TUNICATE MEETING (国際学会)
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Shih Yu, Wang Kai, and Nishida Hiroki
2 . 発表標題 XPRESSION AND FUNCTIONAL ANALYSES OF THE FOUR ECTODERMAL TRANSCRIPTION FACTORS IN THE ASCIDIAN, HALOCYNTHIA EMBRYOS
3 . 学会等名 10th INTERNATIONAL TUNICATE MEETING ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Christelle Dantec, Paul Simion, Magali Naville, Justine Dardailon, Remo Sanges, Celine Scornavacca , Frederic Delsuc, Jean-Nicolas Volff, Hiroki Nishida, Emmanuel Douzery and Patrick Lemaire
2 . 発表標題 COMPARATIVE GENOMIC ANALYSIS : IDENTIFICATIONOF NOVEL GENES IN ASCIDIANS
3 . 学会等名 10th INTERNATIONAL TUNICATE MEETING ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Hiroki Nishida
2 . 発表標題 A new chordate model animal with short life cycle of five days: The Appendicularian, Oikopleura dioica
3 . 学会等名 Kunming University Seminar ( 招待講演 ) ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Masaki Matsuo, Takeshi A. Onuma, Hiroki Nishida
2 . 発表標題 Protein phosphatase 2A (PP2A) is essential for maintenance of meiotic arrest in the larvacean, Oikopleura dioica
3 . 学会等名 日本発生生物学会
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeshi A Onuma, Hiroki Nishida
2. 発表標題 Direction of calcium waves is linked with the left-right axis of larvacean embryos
3. 学会等名 日本発生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚田かすみ, 小沼健, 西田宏記
2. 発表標題 ワカレオタマボヤにおける2本鎖DNAを介した新規の遺伝子抑制現象は、小分子RNAの合成をともなう
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西田宏記, 岸香苗, 林桃子, 小沼健
2. 発表標題 ワカレオタマボヤの幼生発生において複雑で規則性のない表皮細胞パターンを個体差なく作り出すしくみ
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masumi Tokuhisa, Miyuki Muto, Hiroki Nishida
2. 発表標題 Eccentric position of the germinal vesicle and cortical flow during oocyte maturation specify the animal-vegetal axis of ascidian embryos
3. 学会等名 日本発生物学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takeshi Onuma, Masaki Matsuo, Hiroki Nishida
2. 発表標題 Whole-mount in situ hybridization and immunohistochemistry procedures without removal of the vitelline membrane of embryos in the appendicularian, <i>Oikopleura dioica</i>
3. 学会等名 日本発生生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masaki Matsuo, Tatsuya Omotezako, Takeshi Onuma, Hiroki Nishida
2. 発表標題 Functional screening of maternal factors and analysis of metaphase arrest of meiosis in the appendicularian, <i>Oikopleura dioica</i>
3. 学会等名 日本発生生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小沼健, 林桃子, 岸香苗, 西田宏記
2. 発表標題 オタマボヤにおける2細胞期から開始する左右非対称な発生過程
3. 学会等名 日本動物学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中 佑佳, 山田 詩織, 西田 宏記
2. 発表標題 神経胚回転によるマボヤの左右非対称性の決定には繊毛が関与している
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 横堀 伸一, 笠原 享祐, 大塚 玄航, 西野 敦雄, 小沼 健, 西田 宏記, 山岸 明彦
2. 発表標題 18S rRNA 遺伝子並びにミトコンドリアゲノムに基づくオタマボヤ綱の分子系統解析
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nishida H, Tokuhisa M, Muto M
2. 発表標題 Eccentric position of the germinal vesicle and cortical flow during oocyte maturation specify the animal-vegetal axis of ascidian embryos
3. 学会等名 国際発生生物学会 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kanae Kishi, Momoko Hayashi, Takeshi A. Onuma, and Hiroki Nishida
2. 発表標題 Patterning and morphogenesis of the intricate but stereotyped Oikoplasic epidermis of the appendicularian, Oikopleura dioica
3. 学会等名 9th International Tunicate Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室ホームページ <a href="http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/bio_web/lab_page/nishida/index.html">http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/bio_web/lab_page/nishida/index.html</a>
--

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	小沼 健  (Onuma Takeshi)  (30632103)	大阪大学・理学研究科・助教    (14401)	

## 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

## 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
スペイン	バルセロナ大学			
イタリア	パドバ大学			
中国	上海交通大学			
フランス	モンパリエ大学			