

「原生生物繊毛虫の有性生殖・性決定および性成熟に関する研究」
 ー性成熟過程における接合型発現と次世代シーケンサーを用いた異なる性成熟度
 および接合型細胞における網羅的遺伝子発現解析ー

研究院 自然科学系 生物科学領域 杉浦 真由美

本年度は、「原生生物繊毛虫の有性生殖開始機構・性決定および性成熟機構の解明」を目指して、昨年度までに行った繊毛虫ブレファリズマの交配実験と、それによって樹立した子孫株を用いて、さらに発展させた研究を行った。主な研究内容は「(1) 子孫株の性成熟過程における性(接合型)の発現パターンの解析」と「(2) 性成熟過程および接合型の異なる個体における次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子発現解析」である。

(1) 子孫株の性成熟過程における性(接合型)の発現パターンの解析

昨年度までに、I型とII型の二種類の性(接合型)をもつ繊毛虫ブレファリズマを用いて掛け合わせ実験を行い、複数の子孫候補株を樹立した。ブレファリズマは、接合を完了すると、有性生殖(接合)を行うことができない性的未熟期になる。接合完了後に無性生殖(二分分裂)を繰り返すことによって性的未熟期から成熟期、老衰期へと発生過程を進行させていくと考えられている。樹立した複数の子孫候補株のうち7株において、接合完了後約13回分裂時には、接合活性がほとんどみられない未熟期であることが確認された。今年度は、性的未熟期にあり子孫株であることが確認された、これらの7株を用いて、分裂に伴う性成熟過程において、どのように接合型が発現されてくるかを調べた。

各子孫株を植え継ぎを繰り返しながら長期培養し、経時的にサンプリングを行い、その時点における分裂回数のカウントと性成熟度および接合型発現のチェックを行った(図)。その結果、ほとんどの子孫株が未熟期から成熟期に入る初期の段階において、優先的に接合型I型を発現し始めることがわかった。その後、分裂回数が進むにつれて、接合型II型を発現する細胞が現れ、単一クローン内でI型とII型が混在した状態となった。さらに分裂回数が進み100回以上分裂すると、クローン内の一部の細胞はまだ接合型発現が不安定で接合型の変換を起こすものも見られたが、ほとんどの細胞は接合型II型を発現していることがわかった。以上の結果より、ブレファリズマは性成熟過程において複雑かつ不安定な接合型発現パターンを示すことが明らかとなった。



(2) 性成熟過程および接合型の異なる個体における次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子発現解析

ブレファリズマの「性成熟機構」、「接合型決定機構」、「有性生殖開始機構」の解明へ向

けて、それらを明らかにする手掛かりを得るために、未熟期細胞と成熟期にある I 型細胞、II 型細胞における遺伝子発現を網羅的に解析した。この解析によって、「性成熟に関与する因子」や「接合型発現に関与する因子」、「接合に関連する因子（交配フェロモン、交配フェロモン受容体）」などの候補遺伝子が同定できる可能性がある。

本研究によって樹立したブレファリズマ子孫株の未熟期の段階にある細胞と性的に成熟期にある I 型細胞、II 型細胞の 3 株から RNA を抽出し、次世代シーケンサー (HiSeq2000、イルミナ社) を用いて *de novo* RNA-seq 解析を行なった。得られた配列データをアセンブルしてコンティグ配列を構築した結果、約 57000 種類のコンティグ (転写産物に相当) が得られた。各コンティグの発現量をサンプル間で比較し、その発現パターンを元に全データを整理し、最終的に性成熟度や接合型の違いを反映したトランスクリプトームのデータセットを構築することに成功した。

本年度は、研究スキルアップ経費 (英語論文校閲) が採択され、研究成果を国際的な学術雑誌へ投稿する際の英文校閲費用として使用した。専門家による英文校正を受け、自分達では気付く事のできなかつた英語の問題点を指摘してもらうことができ、非常に勉強になった。

【2015 年度研究業績】

[原著論文・総説 (査読あり)]

- 1) R Araki, M Sugiura, Y Hoki, M Sunayama, M Nakamura, Y Kasama and M Abe
Induced pluripotent stem cell generation-associated point mutations
Inflammation and Regeneration (2015) 35 (5), 226-232.

[原著論文・総説 (査読なし)]

- 1) 荒木良子、杉浦真由美、笠間康次、安倍真澄
「iPS 化に伴う点突然変異」日本臨牀 (2015) 73 巻増刊号 5, 55-61.

[国際学会・国内学会発表]

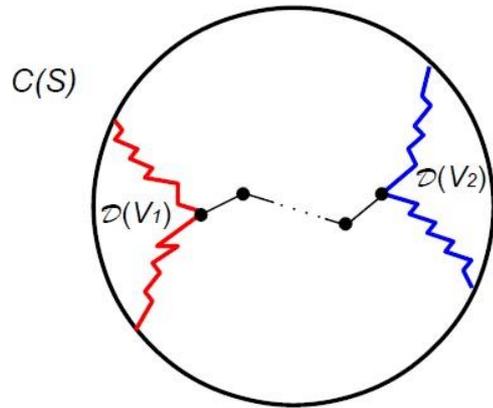
- 1) M Sugiura and T Harumoto. Mating type expression during sexual maturation in *Blepharisma stoltei*. Ciliate Molecular Biology Conference, Camerino, Italy, July 10-16, 2015
- 2) M Kobayashi, Y Nishihara, M Miura, M Takusagawa, M Sugiura, T Harumoto. Mating pheromone gamone 1 plays an important role in speciation of the ciliate *Blepharisma*. Ciliate Molecular Biology Conference, Camerino, Italy, July 10-16, 2015
- 3) 春本晃江・小林真弓・杉浦真由美・篠原きよの・田草川真里
繊毛虫ブレファリズマにおける交配フェロモンの多様性と種分化
日本動物学会第 86 回大会、新潟、2015 年 9 月 17 日～19 日
- 4) 杉浦真由美・春本晃江
ブレファリズマの性成熟過程における接合型発現パターンと遺伝子発現解析
日本原生生物学会第 48 回大会、東京都、2015 年 11 月 6 日～8 日
- 5) 小林真弓・杉浦真由美・春本晃江
Blepharisma hyalinum の分類の再検討
日本原生生物学会第 48 回大会、東京都、2015 年 11 月 6 日～8 日
- 6) 尾野優奈・杉浦真由美・春本晃江
ブレファリズマのジャイアント形成の意義と形成条件の検討
日本原生生物学会第 48 回大会、東京都、2015 年 11 月 6 日～8 日

絡み目の橋分解に関する研究

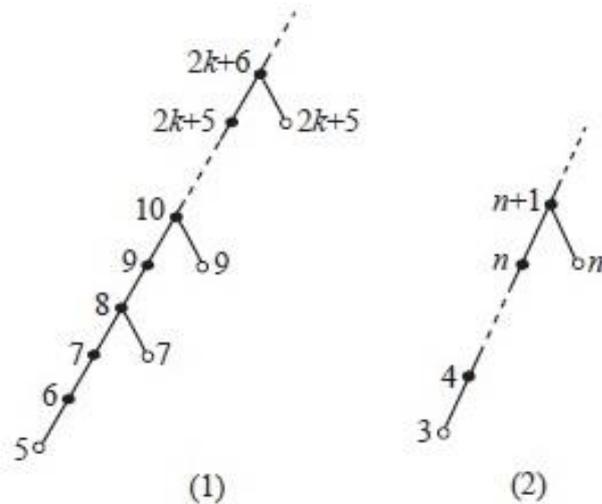
研究院 自然科学系 数学領域 張 娟姫

[今年度の研究成果・活動報告]

今年度の研究成果の一つは、奈良女子大学の小林毅先生、愛知教育大学の井戸絢子氏と行った、「鋭い」ヘガード分解に関する共同研究による成果です。2014 年に出版された 3 人の共著論文では、任意に与えられた自然数 n に対して、ヘンペル距離が丁度 n であるヘガード分解の存在を証明していますが、今回更に、そのヘガード分解として「鋭い」という性質をみたすものが存在することが証明できました。この研究成果については、共同研究者の一人である井戸絢子氏が今年度 6 月に開かれた国際会議「Singularities in Generic Geometry and its Applications」等にて発表し、現在この成果をまとめた共著論文を執筆中です。



二つ目の研究成果は、奈良女子大学の小林毅先生、駒澤大学の小沢誠先生、九州大学の高尾和人氏と行った、結び目の橋分解の関係を表すグラフに関する共同研究による成果です。一つの結び目に対して、その各橋分解を頂点とし、「安定化」という操作を 1 回行うことで結ばれる二つの橋分解に対応する頂点を辺で結ぶことによって、グラフ（特に頂点に重みの付いた木）を作ることが出来ます。このグラフの構造について 4 人で共同研究を行い、昨年度は「最小ではないけど極小的な重みをもつ頂点」をもつ興味深い例が存在することを証明し、その成果をまとめた論文を現在投稿中です。その後、それらの「極小的な重みをもつ頂点」の間の「距離」について更に研究を続け、そのような各頂点から「最小橋分解の安定化」に対応する部分木への距離が丁度 1 であることを証明できました。現在この成果をまとめた共著論文を執筆中です。



三つ目の研究成果は、エクス・マルセイユ大学の Michel Boileau 先生、キール大学の Richard Weidmann 先生等との共同研究によるものです。両先生とは以前から、絡み目の

橋数という位相的不変量と絡み目群のメリディアン階数という代数的不変量の関係を問う問題に関する共同研究を行っていました。2015年3月には両先生を奈良に招聘して議論を行い、その後もメールによる議論を続け、代数絡み目を含むある種の絡み目に対して肯定的な答えを得ることができました。この結果をまとめた共著論文を今年度完成させることができ、現在国際学術誌に投稿中です。また、Weidmann先生の学生である Ederson Dutra氏も含めた4人で引き続き共同研究を行い、絡み目から新しい絡み目を得るための操作に関して「橋数とメリディアン階数が一致する」という性質が保たれることを証明することができました。特にその応用として、既存の結果より更に広い範囲の絡み目に対して二つの不変量が一致することも明らかになりました。現在この結果をまとめた共著論文も執筆中です。

[今後の予定]

これまでの研究成果を踏まえ、今後もヘンペル距離の観点から3次元多様体のヘガード分解や絡み目の橋分解への理解をより深めるための研究を続けると共に、その応用にも取り組んでいきたいと考えています。それに加えて、結び目の橋分解の間の関係を表すグラフの構造に関する研究も続け、また、絡み目の様々な不変量等の関係をより明確にすることを中心に、ヘガード分解及び橋分解に関する様々な問題の解決にチャレンジしていきたいと考えています。

[文献]

- 1) Ayako Ido, Yeonhee Jang and Tsuyoshi Kobayashi, Heegaard splittings of distance exactly n , *Algebr. Geom. Topol.*, 14, 1395-1411, (2014).
- 2) Ayako Ido, Yeonhee Jang and Tsuyoshi Kobayashi, On keen Heegaard splittings, 執筆中.
- 3) Yeonhee Jang, Tsuyoshi Kobayashi, Makoto Ozawa and Kazuto Takao, A knot with destabilized bridge spheres of arbitrarily high bridge number, 投稿中.
- 4) Yeonhee Jang, Tsuyoshi Kobayashi, Makoto Ozawa and Kazuto Takao, Trees of bridge spheres for knots, 執筆中.
- 5) Michel Boileau, Yeonhee Jang and Richard Weidmann, Meridional rank and bridge number for a class of links, 投稿中.
- 6) Michel Boileau, Ederson Dutra, Yeonhee Jang and Richard Weidmann, Meridional rank of knots whose exterior is a graph manifold, 執筆中.