慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	海産動物を材料とした非モデル生物の発生現象 (卵成熟、受精、成長、形態形成) の解明
Sub Title	Study on developmental phenomena in non-model marine invertebrates : oocyte maturation, fertilization, growth and morphogenesis
Author	倉石, 立(Kuraishi, Ritsu)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	多様な海産無脊椎動物の中で、ウニやホヤなど、ごく一部の動物種だけが発生研究に用いられてきた。本研究では、歴史的にあまり着目されてこなかった動物種を用いて、以下の項目について研究を進めた。 卵形成と受精 Dinophilus属のゴカイは、極端な性的二形を示し、雌雄間で卵サイズが異なることが知られている。この動物種では、核型分析を行った先行研究から、交尾・受精後に、卵黄が蓄積し、卵サイズの差が生じることが予想されていた。今回、交尾後の雌個体における卵サイズ増加と受精タイミングの関係を解析した。雌個体を樹脂に包埋し、厚さ5μmの切片を作成、HE染色を施した後に、顕微鏡観察を行った。その結果、先行研究からの予想とは異なり、卵サイズの雌雄差が生じた後に、受精が成立していることが明らかになった。この事実は、性が精子の型によらず、受精以前に存在する何らかの別の要因で決定されている可能性を示唆している。今後は、その要因の探索を行う予定である。 成長・形態形成 イトマキヒトデ幼生のビピンナリア期に着目し、アスタチン属メタロプロテアーゼ（PpMC5）と核型トランスグルタミナーゼ(PpnTG)の機能解析を、モルフォリノオリゴを用いた発現抑制モルファントの表現型観察により進めた。PpMC5モルファントを透過型電子顕微鏡で観察したところ、変調した基底膜と断片化した細胞が見出された。このとき、間充織細胞は食作用を活発に行い、膨潤した状態であった。一方、従来研究で判明していたPpnTGのヒストン二量化機能の観点から、PpnTGのモルファントとその実験対照で細胞数を揃えた状態でウエスタンブロッティング解析を試行した。その結果、PpnTGのモルファントでは、単量体のヒストン合成量の顕著な増加が認められた。両研究から、胚期を経た幼生期に、生理状況が大きく変化している実体を言及できるようになってきている。 Among huge numbers of marine invertebrates, only a few model animals, such as sea urchins, ascidians and so on, have been used as experimental materials for developmental biology. In the present study, we investigated significant developmental phenomena using unique properties of non-model marine animals. Oogenesis and fertilization It has been reported that Dinophilus sp (polychatae) exhibits sexual dimorphism in which female eggs are apparently larger than male ones. In previous karyotyping studies, it has been predicted that the difference in egg sizes is caused by accumulation of yolk after fertilization. In the present study, we examined this hypothesis under a light microscopic observation of HE stained sections of breeding females. Unlike the expectation from previous studies, it is revealed that sperm nucleus was only observed in oocytes after completion of yolk accumulation. These facts suggest that in Dinophilus sp, sex of the eggs is determined before fertilization by unknown factor(s). Larval growth and morphogenesis By using morpholino antisense oligos, we have examined functions of astacin metalloprotease (PpMC5) and nuclear type of trans glutaminase during larval development of the starfish, Patria pectinifera. In morphant of PpMC5, transmission electron microscopy showed that in unhealthy morphology, disorganization of basal lamina and cell fragmentations concomitantly occur in the epithelial cells around which mesenchyme cells actively scavenge epithelial cell carcasses. On the other hand, in PpNTG morphants, larvae also become unhealthy and, surprisingly, histone H4 is shown to be over synthesized by means of western blotting analysis. Together, some protases act on suppressive modulations of specific substrates in developmental growth and morphogenesis of P. pectinifera larvae.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000009-20200028

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2021 年 4 月 7 日

2020 年度　学事振興資金（共同研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	文学部	職名	准教授	補助額	1,274　千円
	氏名	倉石 立	氏名（英語）	Ritsu Kuraishi		

研究課題（日本語）

海産動物を材料とした非モデル生物の発生現象（卵成熟、受精、成長、形態形成）の解明

研究課題（英訳）

Study on developmental phenomena in non-model marine invertebrates: Oocyte maturation, fertilization, growth and morphogenesis

研究組織

氏　名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position
倉石　立（Ritsu Kuraishi）	文学部・准教授
松本　緑（Midori Matsumoto）	理工学部・生命情報・准教授
清水　史郎（Shiro Shimizu）	理工学部・応用化学・教授
坪川　達也（Tatsuya Tsubokawa）	法学部・専任講師
金子　洋之（Hiroyuki Kaneko）	文学部・名誉教授

１．研究成果実績の概要

多様な海産無脊椎動物の中で、ウニやホヤなど、ごく一部の動物種だけが発生研究に用いられてきた。本研究では、歴史的にあまり着目されてこなかった動物種を用いて、以下の項目について研究を進めた。

卵形成と受精

Dinophilus 属のゴカイは、極端な性的二形を示し、雌雄間で卵サイズが異なることが知られている。この動物種では、核型分析を行った先行研究から、交尾・受精後に、卵黄が蓄積し、卵サイズの差が生じることが予想されていた。今回、交尾後の雌個体における卵サイズ増加と受精タイミングの関係を解析した。雌個体を樹脂に包埋し、厚さ 5μm の切片を作成、HE 染色を施した後に、顕微鏡観察を行った。その結果、先行研究からの予想とは異なり、卵サイズの雌雄差が生じた後に、受精が成立していることが明らかになった。この事実は、性が精子の型によらず、受精以前に存在する何らかの別の要因で決定されている可能性を示唆している。今後は、その要因の探索を行う予定である。

成長・形態形成

イトマキヒトデ幼生のビピンナリア期に着目し、アスタチン属メタロプロテアーゼ（PpMC5）と核型トランスグルタミナーゼ(PpnTG)の機能解析を、モルフォリノオリゴを用いた発現抑制モルファントの表現型観察により進めた。PpMC5 モルファントを透過型電子顕微鏡で観察したところ、変調した基底膜と断片化した細胞が見出された。このとき、間充織細胞は食作用を活発に行い、膨潤した状態であった。一方、従来研究で判明していた PpnTG のヒストン二量化機能の観点から、PpnTG のモルファントとその実験対照で細胞数を揃えた状態でウエスタンブロッテイング解析を試行した。その結果、PpnTG のモルファントでは、単量体のヒストン合成量の顕著な増加が認められた。両研究から、胚期を経た幼生期に、生理状況が大きく変化している実体を言及できるようになってきている。

２．研究成果実績の概要（英訳）

Among huge numbers of marine invertebrates, only a few model animals, such as sea urchins, ascidians and so on, have been used as experimental materials for developmental biology. In the present study, we investigated significant developmental phenomena using unique properties of non-model marine animals.

Oogenesis and fertilization

It has been reported that Dinophilus sp (polychatae) exhibits sexual dimorphism in which female eggs are apparently larger than male ones. In previous karyotyping studies, it has been predicted that the difference in egg sizes is caused by accumulation of yolk after fertilization. In the present study, we examined this hypothesis under a light microscopic observation of HE stained sections of breeding females. Unlike the expectation from previous studies, it is revealed that sperm nucleus was only observed in oocytes after completion of yolk accumulation. These facts suggest that in Dinophilus sp, sex of the eggs is determined before fertilization by unknown factor(s).

Larval growth and morphogenesis

By using morpholino antisense oligos, we have examined functions of astacin metalloprotease (PpMC5) and nuclear type of trans glutaminase during larval development of the starfish, Patria pectinifera. In morphant of PpMC5, transmission electron microscopy showed that in unhealthy morphology, disorganization of basal lamina and cell fragmentations concomitantly occur in the epithelial cells around which mesenchyme cells actively scavenge epithelial cell carcasses. On the other hand, in PpNTG morphants, larvae also become unhealthy and, surprisingly, histone H4 is shown to be over synthesized by means of western blotting analysis. Together, some protases act on suppressive modulations of specific substrates in developmental growth and morphogenesis of P. pectinfera larvae.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）