繊毛虫 Paramecium 属のゲノム再編集の最近の研究動向

西山 学即

福島県立医科大学医学部自然科学講座(分子細胞生物学分野)

繊毛虫は原生生物に属する単細胞多核生物であり、小核と大核の2種類の核を持つ個性的な生物である。有 性生殖後、新大核が発生する過程で計画的な IES (Internal Eliminated Sequence)の切り出しなどの DNA の再 編集を経て新大核ゲノムが形成される。この IES はトランスポゾンの特徴である末端反復配列やトランスポゼース を持つものもあり、トランスポゾンから進化し繊毛虫ゲノムに浸透していった配列であると考えられている。我々は この IES をゾウリムシ(Paramecium caudatum)の hb-nap-1 遺伝子間で見出し研究を行ってきた。この総説では これまでに分かっている Paramecium 属の IES の切り出し機構及び繊毛虫で見られるその他の興味深い生命 現象を紹介したい。

Received 9 November 2021, Accepted 12 November 2021, Revised 30 November 2021

1. はじめに

原生生物界は,他の真核生物の3つの界である動 物界, 菌界, 植物界よりもはるかに多様で幅広い系 統分類学的位置を占めている。この界に属する生物 には,高等真核生物に見られる多細胞化,有性生殖 等の生存戦略のための様々な試行錯誤の跡が残さ れ非常に興味深い。中でも、繊毛虫綱に属する生物 は、大核、小核の2種類の核を持つ単細胞多核生物 であることが特徴である。大核は無性生殖である分裂 によって増殖している個体において機能する核で、 その転写活性は高く,形質を発現して個体維持を担 っている。これは多細胞生物の体細胞核に相当する。 一方,小核は,通常転写活性がほとんどなく,有性生 殖である接合後の新しい個体形成に関与する核で, 多細胞生物の生殖細胞核に相当する[1] (Fig. 1)。ゾ ウリムシ(Paramecium caudatum)の有性生殖による接 合は性的に成熟した後(接合後の50-60分裂以降)に 生育環境が不良になった場合に見られる。 接合時に, 複相(2n)の小核が減数分裂を経た後,単相(n)の核 が4つ形成される。内1つだけが選ばれ、残り3つは 消滅してしまう。腹部の細胞口同士を接着すると単相 の核(n)が細胞口へと移り、そこでさらに分裂して2つ の配偶核(n)が作くられる。配偶核の一方は移動核 (n),もう一方は静止核(n)と呼ばれ,移動核は細胞口 から出て細胞間を移動しパートナー細胞中に入りそ の静止核と融合し融合核(2n)を形成する[2]。この有 性生殖に相当する接合によって原生生物に遺伝的



Figure 1: ゾウリムシの細胞構造 原生生物界繊毛虫綱に属する生物は,大核 (MAC),小核(MIC)の2種類の核を持つ単細胞 多核生物であることが特徴である。大核の転写 活性は高く形質を発現して個体維持を担ってい る。一方,小核は通常転写活性がほとんどなく, 種族維持を担う。接合後,新個体が誕生する際 に大核原基では DNA の断片化, DNA のスプラ イシングである計画的な IES (Internal Eliminated Sequence)の切り出しによる除去,テロメア配列の 付加が起こり,その後 10²~10³倍の遺伝子増幅 が行われ,大核となる。

な多様性がもたらされる。後に大核になる核(大核原 基)が分化する過程では、単に多糸染色体の形成が 行なわれるわけではなく,特異的な領域でのDNAの 断片化, DNA のスプライシングである計画的な IES (Internal Eliminated Sequence)の切り出しによる除去 (Fig. 2A), テロメア配列の付加が行われ, その後 10² ~103 倍の遺伝子増幅が行われる事が知られている [1, 3, 4]。 DNA のスプライシング自体は, 酵母の接合 型を決定するカセットモデル[5-7],抗体生産細胞の 免疫グロブリン遺伝子再構成の分子メカニズム[8,9], トランスポゾン[10-12]の存在など広く生物一般に渡っ てみられる現象である。繊毛虫の DNA スプライシン グは,一部の遺伝子領域ではなくゲノムいたるところ で起こるため、下毛目(Oxytricha 属, Stylonychia 属, *Euplotes* 属), 膜口目(*Tetrahymena* 属), 毛口目 (Paramecium tetraurelia, P. primaurelia)等で盛んに 研究が行われている。近年その成果を纏めた繊毛虫 の IES の切り出し機構に関しての総説も幾つか発表 されている[1,13,14]。

私の所属した研究室では下等生物のヘモグロビン (hb, hemoglobin)の構造及び機能について研究を行っていた。その研究成果の1つとして P. caudatum の 個性的なヘモグロビン遺伝子の構造を明らかにし, 報告している[15]。その後の研究で hb 遺伝子下流域 に nap-1 (nucleosome assembly protein-1)が存在する こと, そして hb, nap-1 遺伝子を含む多様な長さの染 色体が存在することが明らかとなった。それぞれの断 片の塩基配列を決定した結果, それぞれの大核ゲノ ム断片は全く同一の hb, nap-1 両遺伝子を持ってい ること, hb-nap-1 遺伝子間の塩基配列も基本的に 同一であるが、その長さが異なることを示した。 つまり 大核断片の多様性は遺伝子間領域の長さがそれぞ れ異なることにより生み出されていたのである[16]。さ らに,除去配列は,AT 含量が高く,切断部位に順位 反復配列を持つことから TA-IES[17]の特徴を持って いることがわかった。これらの結果から同一遺伝子を 含む多様な染色体の存在はIESが不正確に切り出さ られることによって生じたと考えられた。なぜならすで に他の繊毛虫の新大核発生過程で遺伝子周辺領域 に存在する入れ子型や択一型のIES が, 選択的にあ るいは様々な切り出しを受け大核の多様な構成成分 を生み出していることが知られていたからである[18, 19](Fig.2A)_o

2. IES の特徴

Internal Eliminated Sequence (IES) は元々小核特 異的配列であるとされており,遺伝子間や遺伝子内 部に分布し大核原基発生中に取り除かれてしまう配 列と定義されている。その配列的な特徴としては





MIC DNA は小核ゲノム DNA を, MAC DNA は大核ゲノム DNA を示している。 左側から Standard:標準の IES の切り出し方, Nested:入れ子 IES の切り出し方,および Alternative: 択一 IES の切り出し方の概略図を示 す。 TA は反復配列の位置を,破線(赤・黄色)は IES を表している。 入れ子 IES では,真ん中の概略図は切除 経路の中間体を表す。 択一 IES の場合では,中間体または最終産物のいずれかを表す。

AT-rich であり, IES の末端部分には順位反復配列や 逆位反復配列と言った Cis-acting 配列要素が存在し ていることも知られている[14, 17]。さらに IES 内部配 列はトランスポゾン様配列を持つものも報告されてい る[1]。Paramecium 属や Euplotes 属の IES は Tc/Marinerトランスポゾンと共通の末端配列を持つた め、このトランスポゾンの系統から進化してきたもので あると考えられている。これは Klobutcher らが 1997 年 に提唱した IBAF モデル(invade, bloom, abdicate, and fade)として知られている[20, 21]。さらに、IES を切断 するエンドヌクレアーゼ PiggyMac (pgm)もトランスポ ゼース PiggyBac の遺伝子構造と非常に類似してい る。PiggyBac は N 末領域, 中央部にアスパラギン酸 を触媒残基としている DDD 触媒コア領域, C 末のシ ステイン豊富な領域の大きく3つの領域に分けられる。 PiggyMac (pgm)では触媒コア領域にβストランドリッ チモジュールなどの挿入が見られること, C 末に繊毛 虫特異的なコイルドコイルエクステンションが付加さ れていること以外は PiggyBac と同じドメイン構造をと っている。そのためトランスポゼース PiggyBac から IES の切除に特化した PiggyMac (pgm)が進化してき たと考えられている[22, 23]。このことも IBAF モデル

В

を支持している。残った Macronuclear Destined Sequence (MDS)は古典的非相同末端連結修 (C-NHEJ: classical non-homologous end-joining pathway)によって連結され大核ゲノムを形成する[24]。 IES の総数は繊毛虫でそれぞれであり、Tetrahymena 属ではおよそ 6000 か所の IES が遺伝子間領域に[25, 26], Euplotes 属では約 24000 か所に Tec ファミリーと 呼ばれるトランスポゾン様配列が存在することが知ら れている[27]。また、Oxytricha 属では 150000 か所も の IES が遺伝子内部や遺伝子間に存在することが知 られている[28, 29]。

P. tetraurelia, P. aurelia などのデータでは
Paramecium 属の IES は主に遺伝子内部に、少数が
遺伝子間に存在し、基本的に切断・結合は正確である。そして新大核発生過程で小核ゲノム(大核原基)
のおよそ 28~30%が切り出される[30-34]。IES の長さ
は P. aurelia で 26~882 bp[21], P. tetraurelia では 25
~5 kbp に及ぶことが知られている[30]。また、IES の
総数は、45000~65000 か所あると言われている[30,
35]。P. caudatum でも大核ゲノム解析は行われている
が、小核ゲノムの解析中であり、正確な IES の割合・
数の詳細は今のところ不明である。我々が P.





TAYAGYNR

Figure 2B: hb-nap-1 遺伝子間領域で見つかった IES の切り出しパターン

左図は遺伝子間領域の実際の配列の一部を抜粋したのものである。四角で囲った配列は順位反復配列 を示し、点線は切り出し方を表している。右図は hb と nap-1 遺伝子及び遺伝子間領域の概略図を示す。 M は主要大核成分を,m は微少大核成分を示す。四角で囲んだ部分は各遺伝子領域を、直線及び破線 は遺伝子間領域を示す。特に破線は IES を、丸は切断点を表している。下図は Paramecium aurelia で 知られている逆位反復配列のコンセンサス配列を示す。 caudatum hb-nap-1 遺伝子間で見出した IES の長さ は 32~616 bp であり, 長さ的には他 Paramecium 属と 大きな違いは見られなかった。しかし, P. tetraurelia と は異なり P. caudatum の hb-nap-1 遺伝子周辺では IES は遺伝子内部には無く, 遺伝子間のみに存在し ていた。新大核が形成される過程でこの遺伝子間領 域が多様な切り出しを受け, 3 種類の主要な断片と複 数の微量の断片成分を生み出していると考えられた [36](Fig.2B)。

3. Cis-acting 配列

IES の切り出しには Cis-acting 配列要素と Trans-acting 分子のそれぞれが重要な働きをしている。 Cis-acting 配列要素は IES 両末端あるいは内部に配 置し,切り出し配列の認識に始まり,切り出し境界の 設定や切り出しの効率に影響を与えることが報告さ れている[37,38]。E. crassus では,Tec1,Tec2と呼ば れるトランスポゾン様配列があるが,大核形成期にす べて除去されてしまう[39]。このTec1とTec2の両端に は約 0.7 kbp の逆位反復配列が存在し[40],その間 にトランスポゼース様の配列も見出されており,トラン

スポゾンの特徴を色濃く残している[41]。Tec の切り出 しのジャンクションは末端の 5'-TA-3'であるが, その 外側 16 bp の位置に Cis-acting 配列要素と考えられ ている 5'-TTGAA-3'が存在している[42]。他にも, O. fallax では、TBE と呼ばれるトランスポゾン様配列が あり, その両端に 77~78 bp の逆位反復配列, さらに その外側には、5'-AAT-3'の反復配列が配置してい る。また, T. thermophila では, IES の末端には, 配列 も長さも異なる8 bp以下の順位反復配列が存在して いる[43]。これらは大きく2 つのクラスのトランスポゾン 様のエレメント(Tel-1 ファミリー)に分けることができる が,末端に共通して 5'-C4A4-3'が見られる[44]。 Paramecium 属の P. aurelia で見つかっている IES の 末端配列には5'-TA(C/T)AG(C/T)N(A/G)-3'という逆 位反復配列が存在している[21](Fig. 2B)。そのコンセ ンサス配列は切り出しのジャンクション部位に見られ る 5'-TA-3'であるが, この配列は E. crassus の Tecト ランスポゾンの末端に保存されている配列とよく似て いる[21]。更に,除去配列内部にはアデニン・チミン (AT)含量が高いミニサテライト配列や短縮型トランス



Figure 3: Trans-acting 分子による IES の切り出し方法([13]より改変)

MIC は小核を, OLD MAC は旧大核そして Developing MAC は大核原基を示している。太線は DNA を, 細線は RNA を示す。点線は IES 領域を表している。太文字はタンパク質の名称を表している。接合前に大核ゲノムー式が転写され, ncRNA が生成される。接合後, 小核ゲノムから転写された dsRNA が DCL2 や DCL3 によって切断され scnRNA が生成される。scnRNA 分子は細胞質に輸送されて Ptiwi01-Ptiwi09 と結合し Guide strand との複合体が形成される。この複合体は分解中の大核内に移動し Nowa1, Nowa2 そして Ptmb.220 と会合し, Guide strand を使ってその内部にある ncRNA との相補鎖を検索する。この時相補鎖を形成した Guide strand を持つ複合体は分解されてしまい, 相補結合を起こさなかった Guide strand を持つ複合体のみが小核特異的配列をもつ scnRNA として選別される。scnRNA 複合体は小核から発達中の大核原基 内に移動し小核特異的配列である IES を認識し酵素 Pgm によって切除している。

ポゼースが存在していることも報告されている[45]。 一方, P. caudatum の切り出しの機構についてはいま のところ全く不明である。しかし,我々の見出した hb -nap-1 遺伝子間領域の IES では P. aurelia と同様に AT 含有量は高い傾向が見られた(73.9~75.1%)。だ が P. aurelia とは異なりその切断点には逆位反復配 列は見つからず、2~6 bpの5'-TA-3'ジヌクレオチド 配列を含む順位反復配列のみが見つかっている。他 に特筆すべき配列の特徴としては, 切断点部分は 5'-TA-3'頻度が高く(~30%/30 bp), その位置に切断 点が集中していることも明らかになった[36]。P. caudatum では IES の切り出し方による異なる極端な 多様性が存在し多くの株で共通して見つかること,加 えて同属の P. tetraurelia の正確な IES の切り出し機 構を考えると単純に不正確に IES が切り出されるとい うよりは何らかの意図を持って染色体の多様性を作り 出しているように考えられる。これら 2 つの理由から 我々はこれらの切除配列を Imprecise Internal Deletion Sequences (IIDSs)と名付けた。元々IESの機 能は遺伝子発現制御に関与していると考えられてお り残存する IES の長さによって遺伝子の発現量を調 節している可能性がある。ただ切り出し機構がいまだ 解明されていないため, P. tetraurelia とは異なり単純 に不正確な切り出しを行っている可能性も否定でき ていない[36]。

4. Trans-acting 分子

Tetrahymena 属で IES の切除機構の解析が始まり, Paramecium 属である P. tetraurelia などでも切り出し 機構の解析が進み, IES の切り出しにはどちらかと言 えば Cis-acting 配列要素よりも Trans-acting 分子の存 在が重要であること, IES の切り出し機構は RNAi とよ く似た機構を取っていることが明らかとなってきた[46, 47]。Paramecium 属の IES は母系制御 IES (mcIESs: 約 30%)と非母系制御 IES (non-mcIESs)の大きく2 種 類のグループに分けられる[32]。mcIES は旧大核か ら Trans-acting 分子の non-coding RNA (scnRNA)の 関与により特異的に切除されていることが明らかにな ってきたが, non-mcIES に関しては mcIES よりも解析 が進んでいない。ただ, mcIES の切り出し機構にも, RNA 分子が関わっている可能性がある。2014 年なっ

て scnRNA よりも大きな分子である iesRNA(26~31 nt)が確認されており[48],切り出し機構に何らかの non-coding RNA 分子の関与が示唆されている。残 念ながら P. caudatum では切り出し機構の解析が始ま ったばかりであるため、同属の P. tetraurelia の IES の 切り出し機構における Trans-acting 分子の働きをまと めた[13](Fig. 3)。 接合前に大核ゲノムー式が転写さ れ, ncRNA が生成される。接合が始まり小核が減数 分裂を始めるころには小核ゲノムから転写された dsRNA が Dicer-like protein である DCL2 や DCL3 によって切断され, 25 nt 長の scnRNA が生成される [48-50]。二本鎖の scn RNA 分子は RNA 結合・輸送タ ンパク質として知られる Piwi (Ptiwi01 及び Ptiwi09)と 結合し細胞質に輸送され Passenger strand を分解さ れて Guide strand (一本鎖 RNA)との複合体が形性さ れる[51, 52]。この複合体は分解中の旧大核内に移 動し Trans-acting 分子として核間情報伝達に働く Nowa1, Nowa2 そして Ptmb.220 と会合し[53, 54], Guide strand を使ってその内部にある ncRNA との相 補鎖を検索する。この時相補鎖を形成した Guide strand を持つ複合体は分解されてしまい, 相補結合 を起こさなかった Guide strand を持つ複合体のみが 小核特異的配列をもつ scnRNA として選別される。 scnRNA 複合体は小核から発達中の大核原基内に 移動し小核特異的配列である IES を認識し,酵素 Pgm を誘導し IES を切除すると考えられている[22, 55]。Trans-acting の小分子 RNA(scnRNA)により小 核特異的配列(IES)が認識され, IES が切り出される この機構は RNAi と同様である。 Cis-acting 配列要素, Trans-acting 分子いずれにせよ Paramecium 属では3 ~4回の核内倍加(核分裂を伴わないゲノム複製)後 から IES の切り出しが始まるとされているが[56], 前項 で述べた通り P. caudatum の hb-nap-1 遺伝子間領 域に見られる多様性は5種類以上と非常に多様であ るので P. caudatum の切り出しの始まりはもう少し核 内倍加が進んでから起こっている可能性があると考 えている。また,切り出し方に注目すると入れ子と択 一 IES の両パターンにも見受けられる(Fig. 2A, B)。 主要各成分間の IES 成分の長さを比較すると193 bp (M2-M1), 155 bp (M3-M2)である[36]。他の

Paramecium 属では 90%以上が 150 bp 以下の IES であることから[30], P. caudatum の IES の平均長は比較的長いのかもしれない。また,希少成分の m1 と主要成分の M1 を比較すると 32 bp しか違いがない。他の Paramecium 属では IES の長さは 10 bp 毎に存在頻度が上がることが知られており[30], これは Pgm が DNA の螺旋一巻分で不正確に切断するためと考えられている。P. tetraurelia の正確な切り出しとは異なり[33], P. caudatum では pgm による不正確な切り出し が起こっている可能性も捨てきれない。

5. キメラゲノム

大核発生過程でゲノムの多様性を作り出している 原因は遺伝子間領域の IES の複雑な切除によって 生じると考えられたが、その多様性を調べる過程で、 遺伝子内領域でも再編成が行われていることを示す *hb-nap-1* 遺伝子融合大核成分(キメラゲノム)を発見 した[57]。このような成分が生成するためには IES が 不正確に切り出されたか、CBS (Chromosome Breakage Sequence)の様に染色体の断片化が起こっ たのちに染色体同士の融合が起こったのではないか と考えた。そのためこのキメラ成分の塩基配列を決定 し、その塩基配列の特徴を CBS や IES の切り出し機 構の特徴と比較した。 P. aurelia の IES の末端配列には 5'-TA(C/T)AG(C/T)N(A/G)-3'という8塩基の逆位反 復配列のコンセンサス配列が存在していることは先に 述べた[21]。そこでキメラゲノムの末端部分の配列を 比較してみると hb 遺伝子側の右側逆位反復配列は 5'-TAAACAAA-3'であり, nap-1 遺伝子側の左側逆 位反復配列は5'-ATGATGAT-3'であった。左右の逆 位反復配列に高い相同性は見られず, P. aurelia の コンセンサス配列とも相同性は見られなかった。この ことからこの様なキメラ成分は IES の不正確な切り出 しによって生じているものではないことが分かった (Fig. 4)。

多くの生物で、DNA の切断や、組換えまたは染色 体乗換えに先んじて起こる二本鎖 DNA の切断が、 修復機構の障害によりそのまま染色体の断片化につ ながることが知られている。例えば、ヒトでは様々な病 気や白血病、リンパ腫、肉腫と上皮腫瘍で、染色体 の断片化を含む染色体異常が報告されている[58、 59]。繊毛虫でも、大核発生過程で染色体が特定の 配列周辺で不正確に断片化が起こることが知られて いる。加えて切断後、各断片が再融合する現象も観 察されている[20,60]。特に*Tetrahymena* 属と*Euplotes* 属では、染色体の切断位置近傍に Cis-acting 配列要



Figure 4: キメラゲノム模式図

上段及び中段は hb, nap-1 各遺伝子領域及びキメラゲノムの塩基配列を,下段はキメラゲノムの模式図を示す。上段の四角形で囲んだ塩基配列は切断点を示している。下段の四角形は hb, nap-1 各遺伝子領域を, 直線は遺伝子間領域を示している。

素である CBS が存在し, 染色体の切断には不可欠 であることが知られている。典型的 CBS としては、 出 Tetrahymena 属で見 され た TAAACCAACCTCTTT 配列や[61], Euplotes 属の 染色体切断部位周辺に見出された 10 bp のコンセン サス配列(5´-HATTGAAAHH-3´ H=A, C または T) がすでに知られている[62]。この Cis-acting 配列要素 は,特異的染色体断片化のためには必要不可欠で ある。しかし, Paramecium 属では Tetrahymena 属ほど 厳密に染色体の断片化が行われていないという報告 もある[60]。現在までのところ Paramecium 属では染 色体断片化部位周辺で同様のコンセンサス配列は 確認されていない[45]。実際にキメラ成分の切断点 周辺を見ても CBS と高い相同性を持つ配列も,高い 保存配列も見つからなかった。キメラ配列の切断点 周辺で見つかった唯一の特徴としては hb 遺伝子側 で 3 回の 5'-AAC-3', nap-1 遺伝子側で 7 回の 5'-GAT-3'順位反復配列が見つかったくらいである (Fig. 4)。P. caudatum の様々な株を使ってキメラ成分 の PCR 増幅を試みた結果,実験に供したすべての 株で同じキメラ成分の存在を確認できた[57]。染色体 の不正確な切り出しと再融合によって偶然に同様の キメラ成分が全ての株で生じたとは考えにくい。これ らのことからキメラ成分は、IES でも CBS でもない全く 新規の機構によって生成されていることが示唆され る。

繊毛虫が多様な切り出し機構を保持している意義 についてはまだよくわかっていない。しかし,一般的 にイントロンが25~45 bpと短く[63],エキソンシャッフ リングが困難な Paramecium 属がこの新規の機構によ り新たな遺伝子を生じさせている可能は大いにあると 考えている。今回発見したキメラ成分にはその両上 流域にプロモーター領域を保持していたので, RT-PCR を行いその転写活性を調べた。残念ながら このキメラ成分由来の転写産物を確認することはでき なったが,全く転写活性がないとは言い切れない。正 常な Paramecium 属の転写産物では終止コドン近傍 (2~65 bp)にポリ(A)シグナルが見出せるが、キメラ成 分では終止コドン下流100 bp以内にポリ(A)シグナル を見出すことができなかった。酵母では mRNA の下 流域に異常が起こると翻訳が抑制されることが知られ ているので[64],キメラ成分の転写産物も異常な転写 産物として速やかに分解されてしまった可能性があ る。

6. エピジェネティック転写制御

キメラ成分の転写活性の実験から繊毛虫類の転 写制御に興味を持ち P. caudatum のエピジェネティッ ク転写制御の研究を始めた。繊毛虫の DNA の修飾 は大核 DNA のみで見られ, 染色体の構造に影響を 与え転写制御を行っていると考えられている。繊毛虫 の先行研究でも、シトシンやアデニンのメチル化が報 告されている。Tetrahymena 属では 6metA による DNA 修飾が知られエピジェネティックな転写活性に 寄与している[65], Stylonychia 属[66]と Colpoda 属 [67]ではシトシンのみにメチル化が起こる。Oxytricha 属では種によって異なるがシトシンまたはアデニンの 片方のみにおこる[68, 69]。面白いことに Blepharisma 属ではアデニンとシトシンの両方にメチル化が起こる ことが知られている[70]。一方 Paramecium 属では P. tetraurelia で大核の 5metC の脱メチル化により転写 が活性化することがすでに報告されているが[71], まだまだ報告が少ない。そこで、我々は P. caudatum のシトシンのメチル化を検討した。一般的に真核生物 ではシトシンのメチル化は CpG 島で起こることが知ら れており, hb 遺伝子及びその周辺領域では, プロモ ーター領域(4 か所), 遺伝子内部(13 か所), ターミネ ーター領域(2か所)の計 19か所の CpG 島がある。hb 遺伝子自体の転写活性は低いため,メチル化シトシ ンが検出されると予想したが,現在までのところ検出 することはできていない。どうやらhb 遺伝子周辺では 5metCの修飾は起こっておらず, hb 遺伝子の転写活 性の制御に関与していないと考えている (unpublished)

謝辞

本研究は、山内 清志教授(静岡大学理学部), 見上 一幸名誉教授(宮城教育大学)両教授のもと で開始し、福島県立医科大学の落合 威彦名誉教 授、工藤 倫夫助教授、そして松岡 有樹教授のもと で継続・発展してきたものである。先生方に心から感 謝する。

参考文献

[1] Prescott DM (1994) *Microbiol. Rev.* **58**(2), 233-267.

[2] 樋渡 宏一 (1982) ゾウリムシの性と遺伝 UP バイ オロジー 東京大学出版会

[3] Mikami K (1980) Dev. Biol. 80(1), 46-55.

[4] Grandchamp S, Beisson J (1981) *Dev. Biol.* **81**(2), 336-341.

[5] Dolan JW, Fields S (1991) *Biochim. Biophys. Acta* **1088**(2),155-169.

[6] Herskowitz I (1989) Nature 342(6251), 749-757.

[7] Johnson LM, Fisher-Adams G, Grunstein M (1992) *EMBO J.* **11**(6), 2201-2209.

[8] Alt FW, Blackwell TK, Yancopoulos GD (1987) *Science* **238**(4830), 1079-1087.

[9] Schatz DG, Oettinger MA, Schlissel MS (1992) *Annu. Rev. Immunol.* **10**, 359-383.

[10] Gierl A, Frey M (1991) Curr. Opin. Genet. Dev. 1(4), 494-497.

[11] Haniford DB, Chaconas G (1992) *Curr. Opin. Genet. Dev.* **2**(5), 698-704.

[12] Mizuuchi K (1984) Cell 39(2 Pt 1), 395-404.

[13] Betermier M, Duharcourt S (2014) *Microbiol.* Spectr. **2**(6)

[14] Wang Y, Wang Y, Sheng Y, Huang J, Chen X,Al-Rasheid KAS, Gao S (2017) *Eur. J. Protistol.* 61(Pt B), 376-387.

[15] Yamauchi K, Ochiai T, Usuki I (1992) *Biochim.Biophys. Acta* 1171(1), 81-7.

[16] Yamauchi K, Mukai M, Ochiai T, Usuki I (1992) Biochem. Biophys. Res. Commun. 182(1), 195-200.

[17] Steele CJ, Barkocy-Gallagher GA, Preer LB,Preer JR Jr (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91(6),2255-2259.

[18] Austerberry CF, Allis CD, Yao MC (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81(23), 7383-7387.

[19] Herrick G, Hunter D, Williams K, Kotter K(1987) *Genes Dev.* 1(10), 1047-1058.

[20] Klobutcher LA, Herrick G (1997) *Progr. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **56**, 1–62.

[21] Klobutcher LA, Herrick G (1995) *Nucleic Acids Res.* **23**, 2006–2013.

[22]Baudry C, Malinsky S, Restituito M, Kapusta A, Rosa S, Meyer E, Bétermier M (2009) *Genes Dev.* 23, 2478–2483. [23] Dubois E, Bischerour J, Marmignon A, Mathy N, Régnier V, Bétermier M (2012) *Int. J. Evol. Biol.* 436196.

[24] Marmignon A, Bischerour J, Silve A, Fojcik C,Dubois E, Arnaiz O, Kapusta A, Malinsky S,Bétermier M (2014) *PLoS Genet.* **10**(8), e1004552.

[25] Schoeberl UE, Kurth HM, Noto T, Mochizuki K (2012) *Genes Dev.* **26**(15), 1729-1742.

[26] Coyne RS, Chalker DL, Yao MC (1996) Annu. Rev. Genet. **30**, 557-578.

[27] Jaraczewski JW, Frels JS, Jahn CL (1994) *Nucleic Acids Res.* **22**(21):4535-4542.

[28] Nowacki M, Vijayan V, Zhou Y, Schotanus K, Doak TG, Landweber LF (2008) *Nature* **451**(7175), 153-158.

[29] Prescott DM, Prescott JD, Prescott RM (2002) *Protist.* **153**(1), 71-77.

[30] Arnaiz O, Mathy N, Baudry C, Malinsky S, Aury JM, Denby Wilkes C, Garnier O, Labadie K, Lauderdale BE, Le Mouël A, Marmignon A, Nowacki M, Poulain J, Prajer M, Wincker P, Meyer E, Duharcourt S, Duret L, Bétermier M, Sperling L (2012) *PLoS Genet.* **8**(10), e1002984.

[31] Jahn CL, Klobutcher LA (2002) Annu. Rev. Microbiol. 56, 489-520.

[32] Duharcourt S, Keller AM, Meyer E (1998) *Mol. Cell Biol.* **18**(12), 7075-7085.

[33] Lhuillier-Akakpo M, Frapporti A, Denby WilkesC, Matelot M, Vervoort M, Sperling L, Duharcourt S(2014) *PLoS Genet.* **10**(9):e1004665.

[34] Guérin F, Arnaiz O, Boggetto N, Denby Wilkes C, Meyer E, Sperling L, Duharcourt S (2017) *BMC Genomics* **18**, 327.

[35] Duharcourt S, Butler A, Meyer E (1995) *Genes Dev.* **9**(16), 2065-2077.

[36] Nishiyama N, Mikami K, Matsuoka A, Ochiai T, Yamauchi K (2010) *Genes Genet. Syst.* **85**(1), 9-17.

[37] Mayer KM, Forney JD (1999) *Genetics* **151**(2), 597-604.

[38] Dubrana K, Le Mouël A, Amar L (1997) *Nucleic Acids Res.* **25**(12), 2448-2454.

[39] Baird SE, Fino GM, Tausta SL, Klobutcher LA (1989) *Mol. Cell Biol.* **9**(9), 3793-3807.

[40] Krikau MF, Jahn CL (1991) *Mol. Cell Biol.* **11**(9), 4751-4759.

[41] Jahn CL, Doktor SZ, Frels JS, Jaraczewski JW, Krikau MF (1993) *Gene* **133**(1), 71-78.

[42] Jaraczewski JW, Jahn CL (1993) *Genes Dev.* 7(1), 95-105.

[43] Godiska R, Yao MC (1990) *Cell* **61**(7), 1237-1246.

[44] Cherry JM, Blackburn EH (1985) *Cell* **43**(3 Pt 2), 747-758.

[45] Le Mouël A, Butler A, Caron F, Meyer E (2003) *Eukaryot. Cell* **2**(5), 1076-1090.

[46] Sandoval PY, Swart EC, Arambasic M, NowackiM (2014) *Dev. Cell* 28(2), 174-188.

[47] Mochizuki K, Fine NA, Fujisawa T, Gorovsky MA (2002) *Cell* **110**(6), 689-699.

[48] Noto T, Mochizuki K (2017) Open Biol. 7(10), 170172.

[49] Lepère G, Nowacki M, Serrano V, Gout JF, Guglielmi G, Duharcourt S, Meyer E (2009) *Nucleic Acids Res.* **37**(3):903-915.

[50] Hoehener C, Hug I, Nowacki M (2018) *Cell* **173**(1), 234-247.

[51] Bouhouche K, Gout JF, Kapusta A, Bétermier M, Meyer E (2011) *Nucleic Acids Res.* **39**(10), 4249-64.

[52] Furrer DI, Swart EC, Kraft MF, Sandoval PY, Nowacki M (2017) *Cell Rep.* **20**(2), 505-520.

[53] Nowacki M, Zagorski-Ostoja W, Meyer E (2005) *Curr. Biol.* **15**(18), 1616-1628.

[54] Nowak JK, Gromadka R, Juszczuk M, Jerka-Dziadosz M, Maliszewska K, Mucchielli MH, Gout JF, Arnaiz O, Agier N, Tang T, Aggerbeck LP, Cohen J, Delacroix H, Sperling L, Herbert CJ, Zagulski M, Bétermier M (2011) *Eukaryot. Cell* **10**(3), 363-372.

[55] Dubois E, Mathy N, Régnier V, Bischerour J, Baudry C, Trouslard R, Bétermier M (2017) *Nucleic Acids Res.* **45**(6), 3204-3216.

[56] Bétermier M, Duharcourt S, Seitz H, Meyer E(2000) *Mol. Cell Biol.* **20**(5), 1553-1561.

[57] Nishiyama N, Mikami K, Ochiai T, Yamauchi K

(2009) Zoolog. Sci. 26(4), 259-265.

[58] Mills KD, Ferguson DO, Alt FW (2003) *Immunol. Rev.* **194**, 77-95.

[59] Albertson DG, Collins C, McCormick F, Gray JW(2003) *Nat. Genet.* **34**(4), 369-376.

[60] Caron, F (1992) J. Mol. Biol. 225, 661-678.

[61] Yao MC, Zheng K, Yao CH (1987) *Cell* **48**(5), 779-788.

[62] Klobutcher LA, Gygax SE, Podoloff JD, Vermeesch JR, Price CM, Tebeau CM, Jahn CL (1998) *Nucleic Acids Res.* **26**(18), 4230-4240.

- [63] Aury JM, Jaillon O, Duret L, Noel B, Jubin C, Porcel BM, Ségurens B, Daubin V, Anthouard V, Aiach N, Arnaiz O, Billaut A, Beisson J, Blanc I, Bouhouche K, Câmara F, Duharcourt S, Guigo R, Gogendeau D, Katinka M, Keller AM, Kissmehl R, Klotz C, Koll F, Le Mouël A, Lepère G, Malinsky S, Nowacki M, Nowak JK, Plattner H, Poulain J, Ruiz F, Serrano V, Zagulski M, Dessen P, Bétermier M, Weissenbach J, Scarpelli C, Schächter V, Sperling L, Meyer E, Cohen J, Wincker P (2006) *Nature* **444**(7116), 171-178.
- [64] Inada T, Aiba H (2005) *EMBO J.* **24**(8), 1584-1595.

[65] Gorovsky MA, Hattman S, Pleger GL (1973) *J. Cell Biol.* **56**(3), 697-701.

[66] Kwok FW, Ng SF (1989) *Development* **105**(3), 559-568.

[67] Ammermann D, Steinbrück G, Baur R, Wohlert H (1981) *Eur. J. Cell Biol.* **24**(1), 154-156.

[68] Palacios G, Martin-Gonzalez A, Gutierrez JC (1994) *Cell Biol. Int.* **18**(4), 223-228.

[69] Rae PM, Spear BB (1978) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**(10), 4992-4996.

[70] Bracht JR, Perlman DH, Landweber LF (2012) *Genome Biol.* **13**(10), R99.

[71] Salvini M. Barone E. Ronca S. Nobili R (1986) Developmental Genetics **7**(3), 149-158.