

共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：大学共同利用機関法人
情報・システム研究機構
国立遺伝学研究所

職名：教授

氏名：川上 浩一

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：脊椎動物の骨格筋の形成・成熟・維持機構の研究

2. 再生医科学研究所共同研究者：瀬原 淳子

3. 研究期間： 短期研究課題 ・ 長期研究課題
(平成22年4月1日～平成23年3月31日)

4. 研究経過及び研究成果：

筋形成および骨格筋と腱の相互作用に関する共同研究を進めている。

川上グループで、トランスポゾン Tol2 を用いて GFP が挿入されたトランスジェニックフィッシュを確立し、その中で骨格筋や腱で発現しているラインを川上グループと瀬原グループで解析している。骨格筋で発現する 1 ラインに関して、筋形成に関わることがわかったことから、その分子機構をゼブラフィッシュを用いて調べるとともに、マウス筋衛星細胞を用いて筋形成に対する効果を調べ、同じ機構がほ乳類でも保存されているかを検証中である。一方、腱で発現する 1 ラインに関しては、挿入部位の転写因子に関して筋形成や腱形成への関与を調べるとともに、このラインを用いて、ライブイメージングにより、腱がどのように発生し形態形成を行うのかを検討中である。また、筋形成とその維持には神経筋接合部の形成も重要であり、それに関連して GFP- トランスジェニックラインを用いて、末梢神経系形成における ADAM19 の役割を再評価し、新たな知見を得た。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表等
<発表論文>

1. Muto A, Ohkura M, Kotani T, Higashijima S, Nakai J, Kawakami K. (2011) Genetic visualization with an improved GCaMP calcium indicator reveals spatiotemporal activation of the spinal motor neurons in zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108(13), 5425-5430.
2. Tsujita T, Li L, Nakajima H, Iwamoto N, Nakajima-Takagi Y, Ohashi K, Kawakami K, Kumagai Y, Freeman BA, Yamamoto M, Kobayashi M. (2011) Nitro-fatty acids and cyclopentenone prostaglandins share strategies to activate the Keap1-Nrf2 system: a study using green fluorescent protein transgenic zebrafish. *Genes Cells*, 16(1), 46-57.
3. Hu, S.Y., Liao, C.H., Lin, Y.P., Li, Y.H., Gong, H.Y., Lin, G.H., Kawakami, K., Yang, T.H., and Wu,

- J.L. (2011) Zebrafish eggs used as bioreactors for the production of bioactive tilapia insulin-like growth factors. *Transgenic research*, 20, 73-83.
4. Suzuki, Y., Urasaki, A., Asami, Y., Isaka, K., and Kawakami, K. (2010) Efficient gene transfer to endometrial adenocarcinoma cell line (Ishikawa) by Tol2 transposable element: a possible vector for gene therapy for implantation failure. *The Journal of Tokyo Medical University*, 68, 396-402.
 5. Agetsuma, M., Aizawa, H., Aoki, T., Nakayama, R., Takahoko, M., Goto, M., Sassa, T., Amo, R., Shiraki, T., Kawakami, K., Hosoya, T., Higashijima, S., and Okamoto, H. (2010) The habenula is crucial for experience-dependent modification of fear responses in zebrafish. *Nature Neuroscience*, 13, 1354-1356.
 6. Kawakami, K., Abe, G., Asada, T., Asakawa, K., Fukuda, R., Ito, A., Lal, P., Mouri, N., Muto, A., Suster, M.L., Takakubo, H., Urasaki, A., Wada, H., and Yoshida, M. (2010) zTrap: zebrafish gene trap and enhancer trap database. *BMC Developmental Biology*, 10(1), 105
 7. Hu, S.Y., Lin, P.Y., Liao, C.H., Gong, H.Y., Lin, G.H., Kawakami, K., and Wu, J.L. (2010) Nitroreductase-mediated gonadal dysgenesis for infertility control of genetically modified zebrafish. *Marine Biotechnology*, 12, 569-578.
 8. Asakawa, K., and Kawakami, K. (2010) A transgenic zebrafish for monitoring in vivo microtubule structures. *Developmental Dynamics*, 239, 2695-2699.
 9. Chen, Y.C., Wu, B.K., Chu, C.Y., Cheng, C.H., Han, H.W., Chen, G.D., Lee, M.T., Hwang, P.P., Kawakami, K., Chang, C.C., and Huang, C.J. (2010) Identification and characterization of alternative promoters of zebrafish Rtn-4/Nogo genes in cultured cells and zebrafish embryos. *Nucleic Acids Research*, 38, 4635-4650.
 10. Imai, F., Yoshizawa, A., Fujimori-Tonou, N., Kawakami, K., and Masai, I. (2010) The ubiquitin proteasome system is required for cell proliferation of the lens epithelium and for differentiation of lens fiber cells in zebrafish. *Development*, 137, 3257-3268.
 11. Rodríguez-Marí, A., Cañestro, C., Bremiller, R.A., Nguyen-Johnson, A., Asakawa, K., Kawakami, K., and Postlethwait, J.H. (2010) Sex Reversal in Zebrafish fancl Mutants Is Caused by Tp53-Mediated Germ Cell Apoptosis. *PLoS Genetics*, 6:e1001034.
 12. Bussmann, J., Bos, F.L., Urasaki, A., Kawakami, K., Duckers, H.J., and Schulte-Merker, S. (2010) Arteries provide essential guidance cues for lymphatic endothelial cells in the zebrafish trunk. *Development*, 137, 2653-2657.
 13. Yamamoto, M., Morita, R., Mizoguchi, T., Matsuo, H., Isoda, M., Ishitani, T., Chitnis, A.B., Matsumoto, K., Crump, J.G., Hozumi, K., Yonemura, S., Kawakami, K., and Itoh, M. (2010) Mib-Jag1-Notch signalling regulates patterning and structural roles of the notochord by controlling cell-fate decisions. *Development*, 137, 2527-2537.
 14. Sinha, D.K., Neveu, P., Gagey, N., Aujard, I., Le Saux, T., Rampon, C., Gauron, C., Kawakami, K., Leucht, C., Bally-Cuif, L., Volovitch, M., Bensimon, D., Jullien, L., and Vriza, S. (2010) Photoactivation of the CreER(T2) recombinase for conditional site-specific recombination with high spatiotemporal resolution. *Zebrafish*, 7, 199-204.
 15. Pujol-Martí, J., Baudoin, J.P., Faucherre, A., Kawakami, K., and López-Schier, H. (2010) Progressive neurogenesis defines lateralis somatotomy. *Developmental Dynamics*, 239, 1919-1930.
 16. Grabundzija, I., Irgang, M., Mátés, L., Belay, E., Matrai, J., Gogol-Döring, A., Kawakami, K., Chen, W., Ruiz, P., Chuah, M.K., Vandendriessche, T., Izsvák, Z., and Ivics, Z. (2010) Comparative Analysis of Transposable Element Vector Systems in Human Cells. *Molecular Therapy*, 18, 1200-1209.
 17. Yoshida, A., Yamaguchi, Y., Nonomura, K., Kawakami, K., Takahashi, Y., and Miura, M. (2010) Simultaneous expression of different transgenes in neurons and glia by combining in utero electroporation with the Tol2 transposon-mediated gene transfer system. *Genes to Cells*, 15, 501-512.
 18. Sumiyama, K., Kawakami, K., and Yagita, K. (2010) A simple and highly efficient transgenesis method in mice with the Tol2 transposon system and cytoplasmic microinjection. *Genomics*, 95, 306-311.
 19. Wada, H., Ghysen, A., Satou, C., Higashijima, S.I., Kawakami, K., Hamaguchi, S., and Sakaizumi, M. (2010) Dermal morphogenesis controls lateral line patterning during postembryonic development of teleost fish. *Developmental Biology*, 340, 583-594.

< 学会発表 >

1. Kawakami, K. : Transgenesis and genome analysis with the Tol2 transposable element in mice and zebrafish. FASEB Summer Research Conferences, Genome Engineering: Research and Therapeutic

- Applications. (2010年6月6日-11日 Colorado, USA)
2. Appelbaum, L. et al: Modulation of Melatonin secretion and Sleep consolidation by the Hypocretin-Pineal Gland circuit. 9th International Conference on Zebrafish. (2010年6月16日-20日 Madison, USA)
 3. Muto, A. et al: Visualization of Neuronal Activity in Zebrafish Spinal Neurons with an Improved GCaMP. 9th International Conference on Zebrafish. (2010年6月16日-20日 Madison, USA)
 4. Lal, P. et al: Functional regionalization of the adult zebrafish brain by the gene trap, enhancer trap and GAL4-UAS approaches. 9th International Conference on Zebrafish. (2010年6月16日-20日 Madison, USA)
 5. Kondo, S. et al: The Role of Potassium Channels in Stripe Pattern Formation. 9th International Conference on Zebrafish. (2010年6月16日-20日 Madison, USA)
 6. Asakawa, K. et al.: The functions of the hindbrain revealed by the Gal4-UAS system. 9th International Conference on Zebrafish. (2010年6月16日-20日 Madison, USA)
 7. Fukuda, R. et al: G protein alpha 12 involved in the heart tube formation via S1P signaling. 9th International Conference on Zebrafish. (2010年6月16日-20日 Madison, USA)
 8. Kawakami, K.: zTrap and NIGKOF: Resources for Gene Trap and Enhancer Trap Lines and Knockout Fish. 9th International Conference on Zebrafish. (2010年6月16日-20日 Madison, USA)
 9. Yano, T. et al: Developmental Properties of the Fin Mesenchyme in Zebrafish. 43rd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists. (2010年6月20日-23日 京都)
 10. Takeuchi, M. et al: Efficient phenotypic rescue of the zebrafish hematopoietic mutant using Tol2-mediated transgenesis. 43rd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists. (2010年6月20日-23日 京都)
 11. Kawakami, K.: The Tol2 transposon system: a useful tool for gene transfer and transgenesis. 第16回日本遺伝子治療学会学術集会 (2010年7月1日-3日 栃木)
 12. Kawakami, K.: zTrap and NIGKOF: databases for gene trap, enhancer trap and knockout zebrafish. Society for Developmental Biology 69th Annual Meeting. (2010年8月5日-8日 Albuquerque, USA)
 13. Kawakami, K.: Transposon-mediated genetic methods in zebrafish and their application to the study of functional neural circuits. 2010 Taiwan Zebrafish Developmental Biology Meeting. (2010年8月17日 台北)
 14. 揚妻正和ら: 恐怖条件付けにともなった行動の選択は手綱核により制御される、第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会 (2010年9月2日-4日 兵庫)
 15. 武藤彩ら: 改良型GCaMPを用いたゼブラフィッシュ脳機能の解析、第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会 (2010年9月2日-4日 兵庫)
 16. 喜多善亮ら: 小脳ニューロンの時空間的な発生制御—子宮内電気穿孔法を用いた解析—、第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会 (2010年9月2日-4日 兵庫)
 17. 浅川和秀ら: ゼブラフィッシュGal4-UAS法を用いた後脳機能の遺伝学的解剖、第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会 (2010年9月2日-4日 兵庫)
 18. 高久保瞳ら: Gal4遺伝子トラップ法により作製されたトランスジェニックゼブラフィッシュのトランスポゾン挿入部位の解析、第16回小型魚類研究会 (2010年9月18日-19日 埼玉)
 19. 阿部玄武ら: *tcf7/lef1/sox4a* cooperatively regulate *fgf24* expression during zebrafish fin development. 第16回小型魚類研究会 (2010年9月18日-19日 埼玉)
 20. 浅川和秀ら: 糖鎖結合タンパク質遺伝子//*lman2la/VIPL*//の変異は逃避行動のラテラルリティーに異常を引き起こす、第16回小型魚類研究会 (2010年9月18日-19日 埼玉)
 21. Tsetschladze, Z. et al.: Potential transposon excision from the alb b4 allele of *slc45a2* in zebrafish. 5th aquatic animal model for human disease (2010年9月20日 Corvallis, USA)
 22. Kreneisz, O. et al.: Knockdown of the vertebrate α 4a glycine receptor subunit causes hyperekplexia-related tactile-evoked locomotor defects in zebrafish. Zebrafish Norwegian Network (2010年10月29日-31日 Oslo, Norway)
 23. Sumiyama, K. et al.: A simple and highly efficient transgenesis method in mice with the Tol2 transposon system and cytoplasmic microinjection. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 (2010年12月7日-10日 兵庫)
 24. 中村遼平ら: 脊椎動物の外部形態を制御する転写因子 *Zic1/Zic4* の発現制御機構の解析、第33回

- 日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会(2010年12月7日-10日 兵庫)
25. 佐藤文規ら:Zebrafish を用いた神経のミエリネーション可視化による膜型プロテアーゼADAM19 の機能の解明、第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会(2010年12月7日-10日 兵庫)
 26. Asakawa, K. et al. : Genetic dissection of the hindbrain functions by the Gal4-UAS system in zebrafish.
 27. 荻野一豊ら:ゼブラフィッシュ胚でのグリシン作動性シナプスのライブイメージング、第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会(2010年12月7日-10日 兵庫)
 28. Okigawa, S. et al. :DeltaA and DeltaD act cooperatively to maintain V2 interneuron progenitors. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会(2010年12月7日-10日 兵庫)
 29. Sumiyama, K. et al. : A simple and highly efficient transgenesis method in mice with the Tol2 transposon system and cytoplasmic microinjection. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会(2010年12月7日-10日 兵庫)
 30. Kawakami, K. : The Tol2-mediated Gal4-UAS system and its application to the study of functional neural circuits in zebrafish. Imaging Structure and Function in the Zebrafish Brain (2010年12月13日-15日 Lisbon, Portugal)
 31. 川上浩一:トランスポゾンを用いた遺伝学的アプローチによるゼブラフィッシュ機能的神経回路研究、脳の発達と機能:最近の研究進歩(2011年1月22日 東京)
 32. Postlethwait, J.H. et al. :Fanconi Anemia: Insights into mechanisms of sex determination and cancer. The 4th strategic conference of zebrafish investigators. (2010年1月29日-2月2日 Asilomar, USA)
 33. Kawakami, K. : The Tol2-mediated Gal4-UAS methods and their application to the study of neural circuits. The 4th strategic conference of zebrafish investigators. (2010年1月29日-2月2日 Asilomar, USA)