

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23年4月1日～平成24年3月31日)

4. 研究経過及び研究成果:

川上グループで、トランスポゾンTo12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、ほ乳類でも同様のメカニズムが働いているかどうかを調べるために マウス筋衛星細胞C2C12にこの遺伝子に対するsiRNAを導入し、筋形成に対する効果を調べたが、C2C12の筋形成には目立った変化はみられなかった。一方、腱で発現する2ラインに関しては、両者の挿入部位を決定したところ、同じファミリーに属する転写因子の上流領域であることが判明し、これらの転写因子がマウスでも類似の発現パターンを示すことがわかった。これらの転写因子の筋形成や腱形成、あるいはこれらの相互作用における役割は不明であることから、それらの役割に関して調べているところである。さらに川上グループで見いだされた、類似の発現パターンを示すトランスジェニックフィ

ッシュも用いて、それら相互の関連を調べている。また、先に同定した遺伝子に関しては、瀬原グループでノックアウトマウスを作成し、解析中である。

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

<発表論文リスト>

1. Hirata, H., Wen, H., Kawakami, Y., Naganawa, Y., Ogino, K., Yamada, K., Saint-Amant, L., Low, S.E., Cui, W.W., Zhou, W., Sprague, S.M., Asakawa, K., Muto, A., Kawakami, K., and Kuwada, J.Y. (2012) Connexin39.9 is necessary for coordinated activation of slow-twitch muscle and normal behavior in zebrafish. *The Journal of Biological Chemistry*, 287(2), 1080-1089.
2. Asakawa, K., Higashijima, S.I., and Kawakami, K. (2012) An *mnr2b/hlxb9lb* enhancer trap line that labels spinal and abducens motor neurons in zebrafish. *Developmental Dynamics*, 241, 327-332
3. Kishimoto, N., Alfaro-Cervello, C., Shimizu, K., Asakawa, K., Urasaki, A., Nonaka, S., Kawakami, K., Garcia-Verdugo, J.M., and Sawamoto, K. (2011) Migration of neuronal precursors from the telencephalic ventricular zone into the olfactory bulb in adult zebrafish. *The Journal of Comparative Neurology*, 519, 3549-3565.
4. Mizoguchi, T., Togawa, S., Kawakami, K., and Itoh, M. (2011) Neuron and sensory epithelial cell fate is sequentially determined by Notch signaling in zebrafish lateral line Development. *The Journal of Neuroscience*, 31, 15522-15530.
5. Muto, A., and Kawakami, K. (2011) Imaging functional neural circuits in zebrafish with a new GCaMP and the Gal4FF-UAS system. *Communicative & Integrative Biology*, 4, 566-568.
6. Abe, G., Suster, M.L., and Kawakami, K. (2011) Tol2-mediated transgenesis, gene trapping, enhancer trapping, and the Gal4-UAS system. *Methods in Cell Biology*. 104, 23-49.
7. Suster, M.L., Abe, G., Schouw, A., and Kawakami, K. (2011) Transposon-mediated BAC transgenesis in zebrafish. *Nature Protocols*, 6, 1998-2021.
8. Wang, H., Bonnet, A., Delfini, M.C., Kawakami, K., Takahashi, Y., and Duprez, D. (2011) Stable, conditional, and muscle-fiber-specific expression of electroporated transgenes in chick limb muscle cells. *Developmental Dynamics*, 240, 1223-1232.
9. Ikenaga, T., Urban, J.M., Gebhart, N., Hatta, K., Kawakami, K., and Ono, F. (2011) Formation of the spinal network in zebrafish determined by domain-specific Pax genes. *The Journal of Comparative Neurology*, 519, 1562-1579.
10. Vogalis, F., Shiraki, T., Kojima, D., Wada, Y., Nishiwaki, Y., Jarvinen, J.L., Sugiyama, J., Kawakami, K., Masai, I., Kawamura, S., Fukada, Y., and Lamb, T.D. (2011) Ectopic

expression of cone-specific G protein-coupled receptor kinase GRK7 in zebrafish rods leads to lower photosensitivity and altered responses. *The Journal of Physiology*, 589, 2321-2348.

11. Shakes, L.A., Abe, G., Eltayeb, M.A., Wolf, H.M., Kawakami, K., Chatterjee, P.K. (2011) Generating libraries of iTo2-end insertions at BAC ends using loxP and lox511 Tn10 transposons. *BMC Genomics*, 12, 351.

<学会発表リスト>

1. Tanino, S., Abe, G., Kawakami, K., Nakamura, H., Funahashi, J.: Essential roll of SOX5 in the semicircular canal development of zebrafish. 44th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists. (2011.5.18-21, 沖縄)
2. Lal, P., Kawakami, K.: enetic dissection of adult zebrafish brain by Tol2 transposon mediated Gal4-UAS system and gene trap and enhancer trap method. 44th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists. (2011.5.18-21, 沖縄)
3. Wada, H., Kawakami, K.: Postembryonic development of the lateral line neuromasts in zebrafish. 44th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists. (2011.5.18-21, 沖縄)
4. Asakawa, K., Abe, G., Kawakami, K.: Genetic dissection of the hindbrain by the Gal4-UAS system in zebrafish. 44th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists. (2011.5.18-21, 沖縄)
5. Kawakami, K.: zTrap and NIGKOF: the databases for Tol2-mediated gene trap/enhancer trap lines and gene-knockout fish lines. Conference on genome engineering 2011 (2011.6.20-22, Singapore)
6. Asakawa, K., Abe, G., Kawakami, K.: GENETIC DISSECTION OF THE HINDBRAIN BY THE Gal4-UAS SYSTEM. 7th European Zebrafish Meeting (2011.7.5-9, Scotland)
7. Muto, A., Kawakami, K.: CALCIUM IMAGING OF THE ZEBRAFISH BRAIN WITH IMPROVED GCAMPS. 7th European Zebrafish Meeting (2011.7.5-9, Scotland)
8. Tsetskhladze, Z., Canfield, V., Johnson, S., Kawakami, K., Cheng, K.: FUNCTIONAL ASSESSMENT OF HUMAN CODING POLYMORPHISMS IN SLC45A2 USING ORTHOLOGOUS RESCUE (OR) IN ZEBRAFISH. 7th European Zebrafish Meeting (2011.7.5-9, Scotland)
9. Kawakami, K., Abe, G., Asakawa, K., Fukuda, R., Pradeep, L., Muto, A., Takakubo, H., Wada, H.: zTrap and NIGKOF: the databases for gene trap/enhancer trap lines and gene-knockout fish lines. 7th European Zebrafish Meeting (2011.7.5-9, Scotland)
10. Kawakami, K.: The transposon-mediated Gal4-UAS method in zebrafish and calcium imaging with an improved GCaMP. Zebrafish Disease Models 4: Blood, Immunity, Cancer, and Endothelial workshop (2011.7.9-11, Scotland)
11. 浅川和秀, 川上浩一: ゼブラフィッシュL型レクチン lman2la は、体幹運動の発達に必要である.

第 30 回日本糖質学会年会 (2011.7.11-13, 新潟)

12. Mizoguchi, T., Togawa, S., Kawakami, K., and Itoh, M.: Neuron and sensory epithelial cell fate is sequentially determined by Notch signaling in zebrafish lateral line development. The 5th Asia-Oceania Zebrafish Meeting (2011.8.26-29, China)
13. Sato, F., Sato, T., Sakaguchi, K., Arai, H., Kurisaki, T., Kawakami, K., and Sehara-Fujisawa, A.: Roles of Meltrin beta (ADAM19) in development of peripheral nervous system. The 5th Asia-Oceania Zebrafish Meeting (2011.8.26-29, China)
14. Nagai, H., Kishimoto, N., Shimizu, K., Asakawa, K., Urasaki, A., Knaut, H., Nonaka, S., Kawakami, K., Sawamoto, K.: The Role of Sdf1/Cxcr4 Chemokine Signaling in Neurovascular Niche within the Adult Zebrafish Telencephalic Ventricular Zone. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
15. Wada, H., Kawakami, K.: Dickkopf controls neuromast size during lateral line development. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
16. Muto, A., Kawakami, K.: Brain Imaging with New GCaMPs. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
17. Lal, P., Kawakami, K.: Genetic dissection of the adult zebrafish brain by the GAL4-UAS system. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
18. Amo, R., Agetsuma, M., Kinoshita, M., Shiraki, T., Higashijima, S., Matsuda, M., Suster, M.L., Kawakami, K., Oshima, T., Aizawa, H., Okamoto, H.: Functional analysis of the habenulo-raphé pathway using genetic manipulation. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
19. Abe, G., Asakawa, K., Ito, A., Fukuda, R., Muto, A., Lal, P., Wada, H., Kawakami, K.: Development of Tol2 transposon mediated gene trap method in zebrafish using MAZ transcription termination site. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
20. Kawakami, K., Abe, G., Asakawa, K., Fukuda, R., Lal, P., Muto, A., Wada, H.: zTrap and NIGKOF: the databases for gene trap/enhancer trap lines and gene-knockout fish lines. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
21. Mizoguchi, T., Togawa, S., Kawakami, K., Ito, M.: Notch signaling regulates neuronal versus sensory epithelial fate choice in the zebrafish lateral line system. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
22. Okigawa, S., Isoda, M., Suster, M.L., Kikuta, H., Kawakami, K., Ito, M.: V2 interneuron development is regulated by multiple Delta-Notch signaling. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
23. Takeuchi, M., Shimizu, T., Kani, S., Bae, Y., Tanabe, K., Kusuda, R., Asakawa, K., Kawakami, K., Hibi, M.: Genetic control for development of cerebellar neurons and neural

- circuits in zebrafish. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
24. Fukuda, R., Kotani, T., Kawahara, A., Kawakami, K.: G protein α 12/13 is involved in the heart tube formation via S1P signaling. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
 25. Nakayama, S., Kamihagi, C., Ikenaga, T., Kawakami, K., Hatta, K.: The Observation of Craniofacial Cartilages and a Single Floor Plate Cell using a Gal4-Enhancer Trap Line. 17th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2011.9.8-9, 静岡)
 26. 川上浩一, 阿部玄武, 浅川和秀, 福田隆一, Lal Pradeep, 武藤彩, 中井淳一: トランスポゾンを用いた遺伝子トラップ法による脳機能の遺伝学的解剖. 第34回日本神経科学大会 (2011.9.14-17, 神奈川)
 27. 武藤彩, 中井淳一, 川上浩一: ゼブラフィッシュ稚魚視覚系の脳機能カルシウムイメージング. 第34回日本神経科学大会 (2011.9.14-17, 神奈川)
 28. 岸本憲人, 清水耕平, 永井秀人, 浅川和秀, 浦崎明宏, Holger Knaut, 野中茂紀, 川上浩一, 澤本和延: ゼブラフィッシュ成魚の脳室壁付近における神経-血管ニッチ. 第34回日本神経科学大会 (2011.9.14-17, 神奈川)
 29. 浅川和秀, 阿部玄武, 川上浩一: ゼブラフィッシュを用いた後脳運動制御機能の遺伝学的解剖. 第34回日本神経科学大会 (2011.9.14-17, 神奈川)
 30. 天羽龍之介, 揚妻正和, 木下雅恵, 白木利幸, 東島眞一, 松田勝, Maximiliano L Suster, 川上浩一, 大島登志男, 相澤英紀, 岡本仁: 手綱核の機能解析に向けたゼブラフィッシュ内側及び外側手綱核相同領域の遺伝学的操作. 第34回日本神経科学大会 (2011.9.14-17, 神奈川)
 31. Asakawa, K., Kawakami, K.: The Role of //lman2la//, an L-type Lectin Gene, in the Escape Behavior in Zebrafish. 2011 Annual Conference of the Society for Glycobiology. (2011.11.9-12, USA)
 32. Asakawa, K., Abe, G., Kawakami, K.: Genetic dissection of the hindbrain by the Gal4-UAS system in zebrafish. SOCIETY FOR NEUROSCIENCE 2011 (2011.11.12-16, USA)
 33. Muto, A., Nakai, J., Kawakami, K.: Functional brain imaging with improved GCaMPs in zebrafish. SOCIETY FOR NEUROSCIENCE 2011 (2011.11.12-16, USA)
 34. Okigawa, S., Isoda, M., Suster, M., Kikuta, H., Higashijima, S., Kawakami, K., Ito, M.: Different combinations of Notch ligands are involved in the V2 interneuron development. 第34回日本分子生物学会年会 (2011.12.13-16, 神奈川)
 35. Kishimoto, N., Shimizu, K., Nagai, H., Asakawa, K., Urasaki, A., Nonaka, S., Kawakami, K., Sawamoto, K.: Zebrafish as a model for studying adult neurogenesis and neuronal regeneration. 第34回日本分子生物学会年会 (2011.12.13-16, 神奈川)
 36. 黒木あづさ, 谷田部春香, 水野沙耶香, 川上浩一, 河村正二, 藤原晴彦: 配列特異的遺伝子導入ツールとしての LINE:28S rDNA 標的的特異的 LINE・R2OI による外来遺伝子導入. 第34回日本

分子生物学会年会 (2011.12.13-16, 神奈川)

37. Fukuda, R., Kotani, T., Kawahara, A., Kawakami, K.: G protein alpha 12/13 is involved in the heart tube formation via S1P signaling. 第34回日本分子生物学会年会 (2011.12.13-16, 神奈川)
38. 川上浩一: ゼブラフィッシュにおけるトランスポゾンを用いた方法論の開発とその機能的神経回路研究への応用. 認識と形成研究会 2011 (2012.1.21-22, 静岡)
39. Kawakami, K.: Transposon-mediated genetic methods in zebrafish and their applications to the study of functional neural circuits. FURANO CONFERENCE. (2012.3.4-8, 北海道)