

I ゼブラフィッシュを主なモデルとした 脳神経系と神経堤由来器官の発生・機能の 分子遺伝学およびイメージング解析

Imaging and molecular genetic analyses of development and function of the nervous system and neural crest-derived organs in the zebrafish and other model animals

八田公平・中川将司
Hatta, K., Nakagawa, M.

ゼブラフィッシュは胚が透明で発生が早く、遺伝学的手法に優れたヒトをふくむ脊椎動物のモデルである。本年度は、特定波長の光によって神経細胞の興奮性を制御できるトランスジェニックゼブラフィッシュの作成に成功し、これを利用してゼブラフィッシュの遊泳運動に関わる神経系の解析を行った。また、同様の手法によって、アセチルコリンと GABA/グリシン作動性神経細胞のホヤ幼生の遊泳運動における役割を調べた。さらに、熱ショックタンパク質の制御配列を持つトランスジェニックゼブラフィッシュにおいて、局所的に赤外レーザーを照射することによって外来遺伝子を誘導する方法(IR-LEGO)を確立した。この技術を用いて、時期、あるいは部位特異的に蛍光タンパク質などを発現させることで、神経回路の発達や機能を調べている。一方、組織間相互作用によって複雑な器官形成を行う神経堤細胞について、ゼブラフィッシュとメダカの咽頭歯の運動をSPRING-8における高速 X 線イメージングによって解析し、両者が全く異なる運動パターンを示す事を明らかにした。さらに SPRING-8 における高分解能 X 線 CT 法による脳の 3 次元構造の解析も引き続き行っており、稚魚だけでなく成魚の脳の観察に同法が利用できることを明らかにした。

II ホヤをモデルとした神経系の発生と機能の研究

Nervous system development and function in the ascidian larva

中川将司・八田公平
Nakagawa, M., Hatta, K.

ホヤは脊椎動物と同じ脊索動物門に属し、脊椎動物に最も近縁な動物である。ホヤ幼生の神経系はたった 200 個足らず細胞から構成されているにもかかわらず、その基本構造は脊椎動物のもと共通している。脊椎動物の複雑な神経系の発生機構および生理機構を理解するうえで優れたモデルとなる。ホヤ幼生の神経回路網とその機能について研究している。ホヤ幼生の特定の細胞に Ca^{2+} 指示タンパク質カメレオンをさせ、神経細胞の応答を計測すると共に、光によって神経活動を制御できるチャンネルロドプシンやハロドプシンを用いて、特定の神経の活動と行動との関係を調べている。

発表論文 List of Publications

- I-1 Deguchi T (産業技術総合研究所), Itoh M, Urawa H (基礎生物学研究所), Matsumoto T (産業技術総合研究所・鶴見大学), Nakayama S, Kawasaki T (産業技術総合研究所), Kitano T (熊本大学), Oda S (東京大学・宇宙航空研究開発機構), Mitani H (東京大学), Takahashi T (岡山大学), Todo T (大阪大学), Sato J (鶴見大学), Okada K (基礎生物学研究所), Hatta K, Yuba S (産業技術総合研究所), Kamei Y (大阪大学): Infrared laser-mediated local gene induction in medaka, zebrafish and *Arabidopsis thaliana*. *Development, Growth and Differentiation*, 51, 769-775 (2009)
- I-2 Ikenaga T, Ogura T (University of Maryland), Finger TE (University of Colorado): Vagal gustatory reflex circuits for intraoral food sorting behavior in the goldfish; Cellular organization and neurotransmitters, *Journal of Comparative Neurology*, 516, 213-225 (2009)
- I-3 Hashimoto M (大阪大学), Shinohara K (大阪大学), Wang J (University of California, San Francisco), Ikeuchi S (大阪大学), Yoshida S (大阪大学), Meno C (大阪大学), Nonaka S (基礎生物学研究所), Takada S (基礎生物学研究所), Hatta K, Wynshaw-Boris A (University of California, San Francisco), Hamada H (大阪大学): Planar polarization of node cells determines the rotational axis of node cilia, *Nature Cell Biology*, 12, 170-176 (2010)
- I-4 Itoh M, Fujita, K, Hatta K: A sleep disorder in zebrafish: analysis of a population that spawn before dawn. Reports of graduate school of material science and graduate school of life science, University of Hyogo 19 [2008]:19-28 (2009)
- I-5 八田公平・Moly Pricila Khan・磯田恵里佳・山本珠実・伊藤真理子・金村節子・松下淑恵: 「特定波長の光によって蛍光色や機能が変化する蛋白を用いた神経回路網形成過程の解析」電気学会研究会資料 p1~4 光・量子デバイス研究会 2009年
- I-6 山本珠実・Moly Pricila Khan・橋本琢人・籠島 靖・上杉健太郎(JASRI)・竹内晃久(JASRI)・鈴木芳生(JASRI)・藤田恭平・中山創平・伊藤真理子・磯田恵里佳・田島一剛・松下淑江・八田公平: 「屈折コンストラストX線マイクロCT解析による脊椎動物初期胚の脳における細胞核の観察」平成20・21年度 SPring-8重点メディカルバイオ成果報告書 p4-6
- I-7 藤田恭平・中山創平・山本珠実・Moly Pricila Khan・上杉健太郎(JASRI)・磯田恵里佳・伊藤真理子・田島一剛・原真弓・松下淑恵・山崎権彦・八田公平: 「成体のゼブラフィッシュとメダカにおける呼吸・摂食運動における頭部骨格系の運動機序の成体観察、および歯の立体構造のX線マイクロCTによる高解像度解析」平成20・21年度 SPring-8重点メディカルバイオ成果報告書p7-10
- I-8 永田絢香・池永隆徳・山本珠実・Moly Pricila Khan・上杉健太郎(JASRI)・竹内晃久(JASRI)・鈴木芳生(JASRI)・中島洋平・勝本真平・中川将司・八田公平: 「屈折コントラストX線マイクロCT解析によるゼブラフィッシュ脳の高解像度3次元構造解析 - 新たな脊椎動物脳地図の作製法の確立」平成20・21年度SPring-8重点メディカルバイオ成果報告書p121-125
- I-9 原田達典・池永隆徳・田島一剛・上杉健太郎(JASRI)・山本珠実・Moly Pricila Khan・中島洋平・八田公平: 「咽頭歯の形態の多様性と適応戦略: 脊椎動物の摂食行動のX線ライブイメージング解析」平成20・21年度 SPring-8重点メディカルバイオ成果報告書 p137-141
- I-10 Ikenaga T, Urban J (NIH), Gebhart N (University of Florida), Kawakami K (国立遺伝学研究所), Ono F (NIH): Formation of spinal network determined by domain-specific Pax genes, 39th annual meeting of the Society for Neuroscience, Chicago, 2009年10月
- I-11 Ikenaga T, Nagata A, Yamamoto T, Khan MP, Hatta K: Visualization of vertebrate CNS with fluorescent proteins and X-ray micro-tomography, Global COE Symposium

- ‘Microscopy and Cell Biology’, Ako-gun, 2010年3月
- I-12 中山創平・山本珠実・藤田恭平・上杉健太朗(JASRI)・竹内晃久(JASRI)・鈴木芳生(JASRI)・竈島 靖・Moly Pricila Khan・八田公平：ゼブラフィッシュとメダカを用いた歯の形態、数、生える場所を制御する機構の解析、日本発生生物学会第42回大会、新潟、2009年5月
- I-13 Moly Pricila Khan・松下淑恵・八田公平：Origin and development of inhibitory innervation to the Mauthner neurons in zebrafish、第32回日本神経科学大会、名古屋、2009年9月
- I-14 山本珠実・八田公平：チャンネルロドプシン2を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを用いた運動を制御する神経回路の解析、第32回日本神経科学大会、名古屋、2009年9月
- I-15 磯田恵里佳・伊藤真理子・山本珠実・黒巢佳祐・八田公平：ハロロドプシン NpHR を用いたゼブラフィッシュにおける運動開始メカニズムの解析、第15回小型魚類研究会、名古屋、2009年9月
- I-16 亀井保博(大阪大学)・鈴木基史(名古屋大学)・出口友則(産業技術総合研究所)・伊藤真理子・浦和博子(基礎生物学研究所)・尾田正二(東京大学)・中山創平・八田公平・岡田清孝(基礎生物学研究所)・高木 新(名古屋大学)・船津高志(東京大学)・弓場俊輔(産業技術総合研究所)：赤外レーザーによる生体内局所的遺伝子発現系(IR-LEGO)の開発とその応用、第15回小型魚類研究会、名古屋、2009年9月
- I-17 伊藤真理子・亀井保博(大阪大学)・出口友則(産業技術総合研究所)・鈴木基史(名古屋大学)・岡田清孝(基礎生物学研究所)・高木 新(名古屋大学)・弓場俊輔(産業技術総合研究所)・中島洋平・八田公平：IR レーザによるゼブラフィッシュ胚での単一細胞および細胞集団レベルでの遺伝子誘導、第15回小型魚類研究会、名古屋、2009年9月
- I-18 池永隆徳・Jason M. Urban(NIH)・Nichole Gebhart(University of Florida)・川上浩一(国立遺伝学研究所)・小野富三人(NIH)：ゼブラフィッシュ脊髄での *pax8* 遺伝子の発現パターンと回路形成における役割、第15回小型魚類研究会、名古屋、2009年9月
- I-19 池永隆徳・小倉立也(University of Maryland)・Thomas E. Finger(University of Colorado)：口腔内の餌選別に関わるキンギョ迷走一次味覚中枢の神経回路、第34回日本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第31回大会合同大会、豊中、2009年10月
- I-20 伊藤真理子・亀井保博(大阪大学)・出口友則(産業技術総合研究所)・鈴木基史(名古屋大学)・岡田清孝(基礎生物学研究所)・高木 新(名古屋大学)・弓場俊輔(産業技術総合研究所)・中島洋平・八田公平：赤外線レーザーによるゼブラフィッシュ器官形成における単一細胞および細胞集団での外来遺伝子誘導、第32回分子生物学会年会、横浜、2009年12月
- I-21 池永隆徳・Jason M. Urban(NIH)・Nichole Gebhart(University of Florida)・川上浩一(国立遺伝学研究所)・小野富三人(NIH)：ゼブラフィッシュ初期発生における *pax8* 遺伝子の発現パターンと機能、第9回水生動物の行動と神経系シンポジウム、名古屋、2010年1月
- I-22 永田絢香・池永隆徳・山本珠実・上杉健太朗(JASRI)・竹内晃久(JASRI)・鈴木芳生(JASRI)・八田公平：屈折コントラスト X 線マイクロ CT を用いたゼブラフィッシュ脳の立体構造の解析、第9回水生動物の行動と神経系シンポジウム、名古屋、2010年1月
- I-23 中島洋平・永田絢香・山本珠実・伊藤真理子・磯田恵里佳・池永隆徳・八田公平：脳と神経の謎を解く：分子、細胞、遺伝子からの挑戦。第2回サイエンスフェア in 兵庫、(神戸) 2010年1月24日
- II-1 Horie T (筑波大 下田臨海), Nakagawa M, Sasakura Y (筑波大 下田臨海), Kusakabe TG (甲南大) Tsuda M (徳島文理大)：Simple Motor System of the Ascidian Larva: Neuronal Complex Comprising Putative Cholinergic Neurons and Putative GABAergic or Glycinergic Neurons. *Zool Sci.* 27, 181-190 (2010)
- II-2 Tariqul, I. A. F., Moly PK, Miyamoto Y (甲南大), Kusakabe TG (甲南大)：Distinctive expression patterns of Hedgehog pathway genes in the *Ciona intestinalis*

- larva: implications for a role of Hedgehog signaling in postembryonic development and chordate evolution. *Zool Sci.* 27, 84-90 (2010)
- II-3 Horie T (筑波大 下田臨海), Nakagawa M, Sasakura Y (筑波大 下田臨海), Kusakabe TG (甲南大) : Cell type and function of neurons in the ascidian nervous system. *Dev Growth Differ.* 51, 207-20 (2009)
- II-4 中川将司・堀江健生 (筑波大 下田臨海) : ホヤ幼生の光受容器 -脊椎動物との比較- 比較生理生化学誌 総説 Vol.26, No.3, 101-109 (2009)
- II-5 Nishitsuji, K., Horie, T., Suzuki, T., Morimoto, Y. (甲南大), Miyamamoto, Y. (甲南大), Terashima, Y. (甲南大), Sasakura, Y. (筑波大 下田臨海), and Kusakabe, T. G. (甲南大) : cis-Regulatory modules and transcription factors that control gene expression in glutamatergic and GABAergic/glycinergic neurons in the *Ciona intestinalis* larva. The 5th International Tunicate meeting Okinawa Japan June 21-25 2009
- II-6 Tariqul, I. A. F., Moly, P. K., Miyamoto, Y. (甲南大), and Kusakabe, T. G. (甲南大) : Distinct expression patterns of hedgehog signaling pathway genes during larval development of *Ciona intestinalis*. The 5th International Tunicate meeting Okinawa Japan June 21-25 2009
- II-7 Horie, T. (筑波大 下田臨海), Tashima, K., Toda, Y., Isoda, E., Yamamoto, T., Nishitsuji, K., Matsunaga, M, Kusakabe, T. (甲南大), Nakagawa, M., Sasakura, Y. (筑波大 下田臨海), and Hatta, K. : Optogenetic Analysis with NpHR and ChR2 on Neural Basis to Control Motor Behaviors in Ascidian Tadpoles, Close Relatives of Vertebrates. The 5th International Tunicate meeting Okinawa Japan June 21-25 2009
- II-8 中川将司・中島千乃・勝本真平・菅智 博 : 原始的脊索動物ホヤ幼生の視細胞信号伝達系. 日本動物学会第 80 回大会、(静岡県コンベンションアーツセンターグランシップ) 2009 年 9 月 19 日
- II-9 中川将司・深野 天 (理研 BSI) ・堀江健生(筑波大 下田臨海)・笹倉靖徳(筑波大 下田臨海)、宮脇敦史 (理研 BSI) : ホヤ幼生筋肉の興奮収縮連関機構. 日本比較生理生化学会第 31 回大会、(千里ライフサイエンスセンター豊中) 2009 年 10 月 23 日
- II-10 中川将司 : Ca^{2+} 指示タンパク質カメレオンを用いたホヤ幼生の Ca^{2+} イメージング、甲南大学モレキュラーサイエンスワークショップ「ホヤ遺伝子機能制御の最新知見」(神戸) 2010 年 3 月 4 日
- II-11 A. F. M. Tariqul Islam : Localization of Hedgehog signaling in the ascidian larva、甲南大学モレキュラーサイエンスワークショップ「ホヤ遺伝子機能制御の最新知見」(神戸) 2010 年 3 月 4 日
- II-12 西辻光希 : ホヤ幼生におけるニューロンサブタイプ特異的転写制御機構、甲南大学モレキュラーサイエンスワークショップ「ホヤ遺伝子機能制御の最新知見」(神戸) 2010 年 3 月 4 日
- II-13 勝本真平・松永 誠・田島一剛・菅智 博・中川将司・八田公平 : ホヤから学ぶ、脊椎動物の神経回路&左右非対称性メカニズム. 第 2 回サイエンスフェア in 兵庫、(神戸) 2010 年 1 月 24 日

大学院生命理学研究科

博士後期課程

A. F. M. Tariqul Islam : 神経系におけるパターン形成機構の解析

中山創平 : 魚類咽頭歯の発生メカニズムの解析

Moly Pricila Khan : ゼブラフィッシュの運動を制御する神経回路の形成機構の解析

博士前期課程

西辻光希 : ニューロン型特異的転写制御機構の解析

伊藤真理子 : トランスジェニックゼブラフィッシュを用いた睡眠とストレスの研究

山本珠美 : 脳の機能と構造を解析するための新しい技術の開発

磯田恵里佳 : 左右の脳を移動する特殊な神経細胞群の研究

勝本真平 : ホヤ幼生の左右非対称性

松永 誠 : ホヤ幼生神経における小胞型トランスポータのシナプス小胞移行

田島一剛 : 光遺伝学的手法を用いたホヤ幼生におけるマウスナー様細胞の探索

松下淑恵 : ゼブラフィッシュのマウスナー細胞における遺伝子発現の解析

科学研究費補助金等

1 ブレインサイエンス振興財団研究助成金 (平成 21 年度)

研究課題 脊椎動物の脳の高解像度立体構造解析

研究代表者 八田公平

2 兵庫県立大学特別教育研究助成金 (平成 21 年度) 奨励研究

研究課題 マウスナー細胞の Axon Cap への入力経路の解析

研究代表者 池永隆徳