

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：32665

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K19931

研究課題名(和文)カエル幼生をモデルにした子宮内ストレスが脳神経系のゲノム構造に与える影響

研究課題名(英文)Effects of fear stress on the development of neural network in tadpoles

研究代表者

森 司(MORI, Tsukasa)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：60241379

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々は胎外で発生の全過程を観察することができ、また幼生時の環境が成体となった後の表現型や行動に影響することが判明しているカエル幼生(Xenopus)を用いて被捕食ストレスによりどのような形態変化が起きるのか？そしてその時に脳内の代謝物の何が変化するのか？を調べた。その結果、X. laevisでは6hの恐怖ストレスでは脳内のほとんどのシグナル伝達が抑制されたが、24hでは多くのシグナル伝達が活性化された。驚くことにこの24hで嗅球からの神経軸索が脳内に伸長している事が明らかになった。また、この時にカエル幼生の記憶や認知を司るCREBシグナリングが活性化していることも明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

周りの仲間が捕食されることを認識することで捕食者から恐怖ストレスを受けたカエル幼生(Xenopus laevis)は10日間の被捕食ストレスにより尾部や尾の高さを高くし、更に筋肉を増強させた。この時の脳内の遺伝子発現解析や、代謝産物解析、そして神経ネットワークの解析により恐怖ストレスが脳内ネットワークにどのような影響を与えているのかを明らかにすることが出来た。

研究成果の概要(英文)：We found that *Xenopus laevis* enhanced their tail muscles and increased their swimming speeds in the presence of larval salamander predators. Herein, we investigated the induced gene expression changes in the brains of tadpoles under the threat of predation using 3'-tag digital gene expression profiling. We found that many muscle genes were expressed after 24 hours of exposure to predation. Ingenuity pathway analysis further showed that after 24 hours of a predation threat, various signal transduction genes were stimulated, such as those affecting the actin cytoskeleton and CREB pathways, and that these might increase microtubule dynamics, axonogenesis, cognition, and memory. Extension of the axons was clearly observed from the nostril to the diencephalon and was significantly increased after 24 hours of exposure to predation. The dynamic changes in the signal transductions appeared to bring about new connections in the neural networks., as suggested by the microtubule dynamics.

研究分野：生理生化学

キーワード：恐怖ストレス 脳神経系 シグナル伝達 Xenopus 捕食者誘導

1. 研究開始当初の背景

子宮内環境が出生後の児の発達や、成人になった後の代謝性疾患に影響を与えるという子宮内プログラム説 (Baker の仮説) は疫学的にその妥当性を示す多くの報告があるが、哺乳類では子宮内環境を直視下に観察してコントロールする適切な実験モデルを欠くため直接的な証明を得ることは困難であった。

我々は胎外で発生の全過程を観察することができ、また幼生時の環境が成体となった後の表現型や行動に影響することが判明しているカエル幼生 (エゾアカガエルと *Xenopus*) を用いて実験してきた。これまでに捕食者によるストレス応答で腎臓での水分代謝や変態速度、そして行動パターンの変化などを誘導することを明らかにしてきた。しかし、恐怖ストレスが脳内にどのような影響を与え、そして神経ネットワークがどのように変化するのは未だに明らかになっていない。

我々はこれまでに以下の様な事柄を明らかにしてきた。オタマジャクシは自然環境のなかでサンショウウオやヤゴなど複数の天敵と共存する。エゾアカガエル (*R. pirica*) の場合、吸血性のヤゴに対しては軽度の形態変化を示すのみであるが、口を開けて捕食するエゾサンショウウオに対しては捕食者の口の大きさを超えるように全身を膨隆させて適応する。また、オタマジャクシはエゾサンショウウオ幼生が飼育環境に入って来た瞬間に行動が抑制的になり、10 日程で膨満形態を示す。我々はこの *R. pirica* の頭胸部で発現している遺伝子解析を行った結果、膨満化のために fibrinolysis の増加による血管系やリンパ管の維持 (Mori et al. 2005. *BBRC*) や ZP ドメインにより水の不透透を引き起こす Uromodulin-like 遺伝子が体表を包むように発現することを明らかにした (Mori et al, 2009. *PLoS One*)。そのメカニズムとして、*R. pirica* が組織中の体液を増加させ、結合織の中にヒアルロン酸を大量に分泌し、ヒアルロン酸の水結合力により、取り込んだ体液をゲル状にして頭胸部の膨満化を安定させること (Mori et al, 2012. *Biology Open*)、また、サンショウウオやヤゴに対して同じ様に尾高を高くするが、その分子システムは全く異なることを明らかにした (Mori et al. 2015. *BMCgenomics*)。そこで、これらの恐怖ストレス下において、脳内でどのようなことが起きるのかを明らかにすることは極めて重要な課題である。その為、本研究では主に *Xenopus* 幼生を用いて捕食者による恐怖ストレスが脳に与える影響を中心に研究を展開した。

2. 研究の目的

カエル幼生に与えた恐怖ストレスをヒトのモデルとして、恐怖が脳に与える影響を IPA によるシグナル伝達解析を行う。これにより、恐怖ストレスが脳に与える影響を時間と共に明らかにする。更に、シグナル伝達のカスケードから脳内の神経ネットワークに恐怖ストレスがどのような影響を与えるのかを遺伝子や代謝産物などに焦点を当ててオタマジャクシの表現型との関連を調べることを目的とした。これにより、ストレスと児の脳の発達障害を化学物質との関連で語ることを本研究の最終目標とした。

3. 研究の方法

飼育実験

幼生期のサンショウウオ (*Hynobius lichenatus*) を販売店から購入し、25 リットルの水槽で飼育した。幼生のサンショウウオは、体長約 4cm になるまでアカムシを与えた。*Xenopus laevis* のオタマジャクシ (J 株, Stage 51) は、市販の販売店 (渡辺増殖, 兵庫県) から購入し、実験期間中は 2 日に 1 回、茹でてピューレ状にしたグリーンピースを与えた。実験に使用した水道水は、まず活性炭で 24 時間処理した。実験は、20 の実験室で、自然な昼夜の体制 (約 14/10 時間) で行った。実験には、2.5 リットルの水槽 (表面積 25 × 10cm, 高さ 10cm) を使用し、それぞれに 2 リットルの水道水処理水を入れた。

捕食者暴露は 4 つの実験条件と無曝露群を設定した。捕食者処理は、6 時間、24 時間、10 日間の曝露を行う群と、5 日間捕食者曝露を行うが捕食者を抜いて 5 日間飼育する群を作成した (5day-Out)。各処理グループでは 3 つの水槽が繰り返し実験として設定された。10 日後と 5day-Out には、6 つのバックアップ水槽も設置した。すべての実験は同時に開始し、10 日間実験が行われた。サンショウウオの幼生は、オタマジャクシのサンプリングに先立って、適切な時期に水槽に添加した。すべての実験群は実験期間 10 日目の終わりにサンプリングした。実験途中においては、生き残ったオタマジャクシの数を毎日カウントした。10 日間曝露群と 5day-Out のグループでは、捕食によるオタマジャクシの損失や死滅したオタマジャクシは、予備の水槽から任意に選んだオタマジャクシで補い、1 水槽あたり最低 50 匹のオタマジャクシを維持することで、実験結果に対する密度効果の可能性を排除した。

RNA 抽出

RNA シーケンス (RNA-seq) のために、各水槽から 10 匹のオタマジャクシを採取した (そのため、1 処理群あたり 30 匹のオタマジャクシを採取した)。オタマジャクシの頭部を切り取り、RNA later (Qiagen RNA stabilization reagent) を入れたチューブに入れ、4 °C で一晩保存し

た。脳組織は顕微鏡下で丁寧に解剖し、脳組織のみを RNA 抽出に使用するまで -80 °C で保存した。各サンプルから、RNeasy Midi Kit を用いて、Total RNA を得た。トータル RNA の純度は、A260/A280 吸光度比を測定し、ゲル電気泳動により 18S および 28S リボソーム RNA を可視化することで決定した。A260/A280 比が 1.7 から 2.1 の間で、18S および 28S リボソーム RNA のバンドから RNA の状態を判断し、良好なものを RNA-seq のために用いた。

RNA-seq 用ライブラリ構築と遺伝子発現プロファイリング

オタマジャクシから採取した脳組織のトータル RNA (10 µg) を用いて、3' -region タグを用いた Illumina シーケンス用ライブラリを構築した。まずは、オリゴ dT 磁気ビーズを用いて total RNA から mRNA を分離した。二本鎖 cDNA を NlaIII (CATG 部位を認識) で処理し、3' -領域を含む配列をビーズで回収した。これらの配列をアダプター-1 にライゲーションした。アダプター-1 にライゲーションした 3' -領域を EcoP15I で消化し、アダプター-1 の EcoP15I サイトの下流に 22~24bp の断片を得た。これらの断片をエタノール沈殿により精製し、EcoP15I で消化した後、アダプター-2 にライゲーションした。アダプター-1 および 2 にライゲーションした断片を、NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (E7335, New England Biolabs, Ipswich, MA) を用いて PCR 増幅し、生成物を PAGE ゲルで精製した。約 85bp のバンドの DNA を集めて精製し、ライブラリーとして使用した。これらの DNA ライブラリーをイルミナ GA IIx シーケンサーを用いて配列決定し、1 サンプルあたり 1 レーンから 38bp のリードを得た (InfoBio, Tokyo, Japan)。

コンピュータによる解析

CATG (NlaIII サイト) をリードの 5' 端に加えた。アダプター-2 の配列の一部である 3' 末端に 6 ヌクレオチド以上の配列をリードから削除した。これらの修飾されたリードの長さは、4 (NlaIII サイトのみを含む) から 42 ヌクレオチド (NlaIII サイトに 38bp の長さを加えたもの) まで様々で、26~28 ヌクレオチドにピークがあった。この 26~28 ヌクレオチドが遺伝子タグであり、BLAST 2.2.23 ツールを用いてデータベース内の参照遺伝子にアライメントするためのクエリとして解析した。遺伝子タグを揃えるために、5' 端の CATG は配列の違いがない遺伝子にマッピングし、遺伝子タグの残りのヌクレオチドはエラーがないか、1 つのミスマッチでマッピングした。参考資料として、*Xenopus tropicalis* の遺伝子配列を National Center for Biotechnology Information のヌクレオチドデータベース (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) から入手した。遺伝子タグは、3' 端の CATG サイトのみに由来すると予想されたが、一部は他の CATG サイトに由来するものであった。遺伝子の発現量は、同一遺伝子にマッピングされた遺伝子タグをすべて合計して算出した。

IPA 解析で選ばれた遺伝子のパスウェイ解析

Ingenuity Pathway Analysis (IPA, Qiagen) を用いて、ゼブラフィッシュのデータベースから ID を特定できない機能的ネットワークを特定し、後者のデータベースで最も類似性の高い遺伝子を tblastx で検索した。RNA-Seq の Tag を用いてコントロールに対する遺伝子発現比を、 $\log_2(\text{Tag countSAMPLE}+1) - \log_2(\text{Tag countCONTROL}+1)$ として算出した。発現量を「average」とし、重複を解消するための測定方法を「Ex Log Ratio」として ID を統合した。合計 2821 個の ID が得られ、2053 個がマップされ、1966 個の遺伝子 (重複遺伝子を排除) を対象に IPA を用いてシグナル伝達経路を同定した。各潜在的な転写調節因子について、オーバーラップ p 値と活性化 z スコアの 2 つの統計的尺度を計算した。シグナル伝達のアップレギュレーションまたはダウンレギュレーションは、上流の転写調節因子が「活性化された」予測 ($z > 0$) が「阻害された」予測 ($z < 0$) よりも有意に多いかどうかを判断する z スコアによって決定された。overlap p-value は、データセット遺伝子と転写制御因子によって制御されている遺伝子との間に、統計的に有意な重複があるかどうかを測定する。フィッシャーの正確検定を用いて算出される。活性化 z-score は、ランダムな制御方向を割り当てたモデルとの比較から、上流のレギュレーターの状態の可能性を推測するために用いられる (IPA の Ingenuity Upstream Regulator Analysis のマニュアルを参照)。

In situ ハイブリダイゼーション

オタマジャクシを O.C.T. コンパウンドに包埋し、包埋した各オタマジャクシをドライアイシングした n-ヘキサンに浸した後、ライカ CM1950 クライオスタット (ライカ) を用いて 5 µm の切片を作成した。この切片を川本法フィルムに貼り付けた。切片を 4% パラホルムアルデヒドで処理した。プロテインアーゼ K 処理後、DIG システム (Nacalai Tesque) を用いて、前述のように in situ ハイブリダイゼーションを行った。

Neuron-Dil を用いた微小管ダイナミクスの観察

今回の実験では、幼生のサンショウウオである *H. lichenatus* が入手できなかったため、同種のサンショウウオである *Hynobius retardatus* を使用した。*Hynobius retardatus* の卵は、北海道の池から採取し、実験まで飼育した。この実験では、24 時間捕食の脅威と対照に用いたのと

同じ実験計画を用い、オタマジャクシを4%パラホルムアルデヒドで固定し、Neuron-Dil (1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate) の注入まで4℃で保存した。3mgのNeuron-Dil (アルドリッチ化学) をDMSO (400 µL) に溶解し、毛細管現象により色素を取り込んだ。溶解した同量のNeuron-Dil をFemtojet 4i (Eppendorf, Hamburg, Germany) により毛細管現象を利用して左鼻孔に注入した。注入条件は、圧力20hPa、時間0.20秒、維持圧5hPaとした。Neuron-Dil を注入した後、鼻孔を溶かしたゼラチン (8% with water w/v) で覆い、35℃で7日間、2% paraformaldehyde と一緒に暗条件でインキュベートした。各キャピラリーグラスは、一定量のNeuron-Dil を注入するために、各サンプルに1回だけ使用した。インキュベーション後、脳を実体顕微鏡 (Leica MZ16) で注意深く取り出し、共焦点顕微鏡 (Olympus) で観察した。観察条件はすべてのサンプルで一定とした。

4. 研究成果

3 -tag digital 遺伝子発現プロファイリングによる脳内発現遺伝子の同定

本実験では、恐怖ストレスに晒された4つの実験条件とコントロールを設定し、10日間の実験後の脳を用いて、発現遺伝子のプロファイリングを行った。約2,200~2,500万個のタグを読み取り、7~9万種類の遺伝子を予測した。予測された遺伝子のうち、4万1,000~4万3,000種類の遺伝子がXenopus Blast Xでヒットした。これらの遺伝子は、その発現タグの数が1000以上であることから、脳内の主要な生理反応を予測していると考えられ、選択された。

6時間投与群では、最も発現量が増加したチトクロームP450、タンパク質プリオン、カニン酸受容体をコードする非N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) グルタミン酸遺伝子が、対照群よりも高い発現量を示した。24時間投与群では、カルシウムATPase 遺伝子 (ATPase, Ca²⁺ transporting, cardiac muscle, slow twitch 2) が対照群に比べて10倍以上の高い発現レベルを示した。意外だったのは、24時間の捕食暴露後の脳内で発現した遺伝子のほとんどが、アクチン、トロポニン、ミオシンなどの筋肉関連のものだったことだ。これらの遺伝子は、コントロールに比べて発現量が増加し、その最高発現量はコントロールの約8倍であった。これらの筋肉関連の遺伝子は、6時間群では発現が低下したが、5日間の外出群では増加した。10日後のグループでは、低酸素誘導因子遺伝子の発現量が最も大きく (6倍以上) 増加し、6時間後から10日後までの曝露時間に応じて増加した。5日後のグループでは、低酸素誘導因子遺伝子の発現は、6時間後のグループで見られた発現レベルまで低下した。5日後の遺伝子発現プロファイルは、6時間後のグループと同様の傾向を示し、最も高い発現を示した遺伝子はアクチンであった。

捕食の脅威にさらされた後に脳内で発現する遺伝子のパスウェイ解析

オタマジャクシが捕食者に直面したときの脳のダイナミズムを理解するには、そのシグナル伝達系を解析するのが最適である。合計1996個の遺伝子について、対応するゼブラフィッシュの遺伝子を用いてIPAパスウェイ解析を行い、シグナル伝達パターンを分析した。発現パターンが上昇または下降したシグナル伝達経路は、そのzスコアから決定した。

EIF2 やコルチコトロフィン放出ホルモンなど、これらの経路に関与する遺伝子の多くは、6時間処理でも5日放置でも発現が低下していた。一方、HIPPO、ILK、RhoGDI、eIF4、p70S6K、ハンチントン病などの11のシグナル伝達遺伝子だけは、6時間処理と5日放置の両方で発現が増加した。しかし、mTOR、ATM、細胞周期、上皮の接合部のリモデリングのシグナル伝達遺伝子では、そのような傾向は見られなかった。24時間処理では、アクチン細胞骨格やCREBシグナルなど、さまざまなシグナル伝達経路が増加した。アクチン細胞骨格シグナルのアップレギュレーションは、前述のように様々な筋肉関連遺伝子の発現を誘導した。しかし、これらのアップレギュレートされたシグナル伝達経路の多くは、10日間の処理でダウンレギュレートされ、4つのシグナル伝達経路 (EIF2、IGF-1、AMPK、EGFシグナル) のみが10日間の処理でアップレギュレートされた。また、厳選された疾患や機能も治療群間で変化する事が予測された。6時間投与群では、生物学的死亡、罹患率または死亡率、成長不全、および神経細胞のアポトーシスとアポトーシスの増加が予測された。

一方、24時間群では、細胞骨格の構成、微小管の動態、神経細胞の増殖、軸索形成などで発現量の増加が予測された。10日後のグループでは、アポトーシス、運動障害、ユビキチン化、さまざまながん関連イベントなどが増加することが予測された。5日後のグループでは、サンプリング前に捕食者を除去したにもかかわらず、様々な疾患関連事象に変化が見られ、これはPTSDを彷彿とさせる効果である。

下流のシグナル伝達経路の変化の予測

捕食ストレス24時間後には、様々なシグナル伝達経路に変化が見られた。最も影響を受けた下流経路は、アクチン細胞骨格とCREBシグナルの2つであった。24時間群では、アクチン細胞骨格シグナル、アクチン重合、焦点接着アセンブリ、細胞骨格再編成のすべてが増加し、発現遺伝子のネットワークは、微小管ダイナミクスのアップレギュレーションを示していた。予測では、6時間後と5日後のグループでは微小管ダイナミクスのダウンレギュレーションが示され、10日後のグループでは変化がないか、わずかに増加していた。合計で242個の微小管ダイ

ナミクスに関わる遺伝子のうち 108 個が発現変化を示し、24 時間グループで微小管ダイナミクスが増加したと一致した。また、CREB シグナルは、記憶や認知に大きく関与しており、24 時間群では発現が増加したが、6 時間群、10 日群、5 日後退出群では発現が減少した。

In situ ハイブリダイゼーション

オタマジャクシから冠状切片を切り出し、3'-tag digital 遺伝子発現プロファイリング実験で各捕食者処理から得られたいくつかの主要遺伝子を用いて in situ ハイブリダイゼーションを行い、RNA 保存の質を確認した。非 NMDA グルタミン酸受容体（カイニン酸受容体）のアンチセンスプローブを用いると、6 時間処理群のオタマジャクシでは、終脳の比較的広い範囲で強いシグナルが得られ、後脳では弱いシグナルが得られた。一方、同じオタマジャクシの隣接した部分をセンス RNA プローブで調べても、これらの領域ではシグナルは得られなかった。コントロールのオタマジャクシは、アンチセンス RNA プローブを用いた場合、6 時間投与群と比較して、終脳では非常に弱いシグナルを示し、後脳ではやや強いシグナルを示した。コントロールのオタマジャクシでは、終脳、間脳、後脳におけるセンス RNA プローブのシグナル強度がアンチセンスプローブを用いた場合よりもはるかに弱く、異なる染色パターンを示した。

24 時間群では、脳内で発現している筋肉関連遺伝子を検出するためにミオシンのアンチセンス RNA プローブを用いた。その結果、哺乳類の大脳皮質に相当する部位でシグナルを得た。間脳では、後交連の腹側の領域で明瞭なシグナルが得られており、これは小脳下器官に相当すると考えられる。また、間脳の視床と視床下部でもシグナルが認められたが、対照群の対応する領域ではシグナルが認められなかった。したがって、24 時間投与群と対照群では、ミオシン遺伝子の発現が異なっていた。

10 日処理を受けたオタマジャクシでは、アンチセンス Hif1 プローブが、最終的に内側、背側、外側の球体を形成する終脳の領域で明確なシグナルを示したが、対照群では弱いシグナルが観察された。アンチセンスのエリスロポエチン受容体プローブは、視床の背側部分に明瞭なシグナルを示し、そのシグナル強度は対照群よりも強かった。Hif1 とエリスロポエチン受容体のセンスプローブではシグナルは観察されなかった。

5 日目以降のグループでは、セルピン 1 mRNA 結合タンパク質（SERBP1）のアンチセンスプローブは、終脳で強いシグナルを示し、間脳と後脳では弱いシグナルを示した；コントロールでは弱いシグナルが見られた。興味深いことに、センスプローブは中脳と後脳にハイブリダイズした。しかし、シグナルの強さやパターンは、アンチセンスプローブで得られたものとは異なっていた。

Neuron-Dil を用いた微小管ダイナミクスの評価

アクチン細胞骨格シグナルの活性化が、24 時間の捕食にさらされたオタマジャクシの微小管ダイナミクスにどのような影響を与えたかを評価するために、オタマジャクシの鼻孔に Dil を挿入し、オタマジャクシの脳内の軸索伸長部を調べた。Dil は神経細胞内に拡散し、終脳に対する長さの比が有意に増加していた（ $P < 0.0001$ ）。捕食の脅威にさらされたオタマジャクシの神経軸索の伸長パターンは他のサンプルと同様であり、嗅球の染色面積はコントロールと比較して増加した。軸索の伸長は間脳に向けられていた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tsukasa Mori, Yukio Yanagisawa, Yoichiro Kitani, Goshi Yamamoto, Naoko Goto-Inoue, Tadashi Kimura, Keiko Kashiwagi and Akihiko Kashiwagi	4. 巻 6
2. 論文標題 The constant threat from a non-native predator increases tail muscle and fast-start swimming performance in <i>Xenopus</i> tadpoles	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biology Open	6. 最初と最後の頁 1726-1733
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/bio.029926	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsukasa Mori, Yoichiro Kitani, Den Hatakeyama, Kazumasa Machida, Naoko Goto-Inoue, Satoshi Hayakawa, Naoyuki Yamamoto, Keiko Kashiwagi, Akihiko Kashiwagi	4. 巻 10
2. 論文標題 Predation threats for a 24-h period activated the extension of axons in the brains of <i>Xenopus</i> tadpoles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-67975-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森 司、柳澤 幸雄、木谷 洋一郎、畠山 田、町田 和優、五十嵐 結香、井上 菜穂子、山本 直之、柏木 昭彦、柏木 啓子
2. 発表標題 エゾアカガエルと <i>Xenopus laevis</i> 幼生における捕食者誘導による表現型の可塑性
3. 学会等名 日本動物学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 町田和優、五十嵐結香、森笹瑞季、小倉淳、嶺井隆平、柏木昭彦、柏木啓子、柳澤幸雄、井上菜穂、森 司
2. 発表標題 捕食者曝露による <i>Xenopus Tropicalis</i> の脳内変化に関する解析
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 町田 和優, 杉山 チャヌポーン, 森笹 瑞季, 佐藤 友彦, 渡部 真澄, 山口 永裕, 井上 菜穂子, 森 司
2. 発表標題 Rana pirica における骨格筋遺伝子のクローニング
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 司, 井上 菜穂子, 町田 和優, 森笹 瑞季, 柏木 昭彦, 柏木 啓子
2. 発表標題 イメージング MS を用いた代謝産物解析によるネツタイツメガエル幼生 の組織同定
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	早川 智 (HAYAKAWA Satoshi) (30238084)	日本大学・医学部・教授 (32665)	
研究 分担者	鍵和田 晴美 (KAGIWADA Harumi) (40443204)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任 研究員 (82626)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------