

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23570247

研究課題名(和文) 小型魚モデルの利点を駆使した脳形成オーガナイザーの形成制御機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of the development of local organizers in the brain primordium using zebra fish as a model system

研究代表者

弥益 恭 (YAMASU, Kyo)

埼玉大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：60230439

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：ゼブラフィッシュを用いて脊椎動物脳形成制御機構の研究を行った。まず、峡部形成遺伝子 gbx2 と pou2 について機能の詳細を明らかとし、いずれもが神経分化に関与することを示唆した。また、神経板前端形成遺伝子 emx3、峡部形成を制御する pax2a と pou2 について、転写制御機構の詳細を明らかとした。一方、多様な発生異常を示す変異体 kanazutsi 変異体について、神経堤及び体節の形成異常が起きること、原因が globin family 遺伝子の変異であることを示した。さらに、ゼブラフィッシュでの発生遺伝学研究において強力な新規研究技術である GAL4/UAS 系と TALEN 法の導入に成功した。

研究成果の概要(英文)：We studied the regulatory mechanism of vertebrate brain formation in zebrafish. We revealed the details of the function of two isthmus-forming genes, gbx2 and pou2, suggesting that both are involved in neurogenesis. We also extended the analysis on the transcriptional regulation of an ANB-forming gene, emx3, and two isthmus-forming genes, pax2a and pou2. Meanwhile, it was shown that the development of the neural crest and somite is affected in a novel mutation, kanazutsi, and its causative gene encodes a globin-family protein. In addition, we succeeded in introducing two novel experimental techniques, the GAL4/UAS system and TALEN.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：脳形成 脳部域化 遺伝子制御ネットワーク ゼブラフィッシュ 発生遺伝学 局所オーガナイザー 転写制御機構 神経分化

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトの脳が担う各種高次機能、精神活動と生命維持機能を理解し、社会的に深刻化する様々な難治性脳・神経疾患の問題を解決する上で、脊椎動物での脳形成とその機能発達に関する制御機構の解明は必要不可欠である。脳の基本的発生機構は、脊椎動物においては形態・組織的にも分子レベルでも保存されていることが明らかとなりつつあり、特に初期脳の部域化において、神経板内に生じるシグナルセンターが主要な役割を果たすことが多くの動物種で見いだされている。これら2次的(局所的)オーガナイザーの代表的なものとしては、中脳後脳境界(Midbrain-Hindbrain Boundary, MHB)で生じ、中脳と小脳の誘導、パターンニングを行う峡部オーガナイザー、そして終脳と間脳の形成を制御する神経板前縁の前方神経境界(Anterior Neural Boundary, ANB; マウスでは ANR)があり、主としてマウス、ニワトリ、ゼブラフィッシュでこれまで研究が行われた(Kiecker & Lumsden, 2005)。

MHB については、原腸形成期に神経板前方での *Otx2* 発現領域と後方での *Gbx1/2* 発現領域の境界で確立される。この発現境界において、転写因子遺伝子 *Pax2* (ゼブラフィッシュでは *pax2a*) と分泌因子遺伝子の *Fgf8* (ゼブラフィッシュでは *fgf8a*) と *Wnt1* が誘導され、さらに各種峡部形成遺伝子が活性化される結果、峡部、そして周辺で中脳と小脳が形成される。*Pax2* は MHB 形成での中心的な遺伝子と考えられるが、ゼブラフィッシュにおいて、*pax2a* の MHB での発現が、*otx2* と *gbx* の他、*sp5/bts1* (Zn-finger 転写因子遺伝子) や *pou2* (ゼブラフィッシュにおける class V POU 因子遺伝子、マウス *Oct3/4* と相同) 等の転写因子遺伝子に加え、FGF 及び Wnt シグナルの制御を受けることが、遺伝学的解析により推定されていた。また、マウス *Pax2* 及びゼブラフィッシュ *pax2a* の上流に MHB での活性化能を持つ *cis* 領域が報告されていたが (Pfeffer et al., 2002; Picker et al., 2002)、詳細な解析はなかった。

一方、ANB/ANRでは神経板後方化シグナル Wntの阻害因子 (Sfrp等) 及び *Fgf8* が発現し、終脳と間脳の形成を誘導する。その後のマウス胚終脳では、ANRに由来する Commissural Plateからのシグナルと皮質後方の背内側部に由来する Wnt、Bmpシグナルが新皮質の前後パターンニングを行うとされた (O'Leary & Sahara, 2008)。しかし、ANBの形成を理解する上で必要な ANB 遺伝子の領域特異的転写制御機構の研究はほとんどなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では脳発生に関し、特にシグナルセンターの形成機構に焦点を当てつつ、脊椎動物脳形成のモデル系であるゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) を用いて以下の研究を行った。なお、同時に脳形成研究を行う

上で有効な技術の導入も併せて行った。

(1) 峡部の位置決定とその後の発生を制御するとされる *gbx2* の具体的な機能を遺伝子レベルで検討するとともに下流遺伝子の網羅的探索を試みた。

(2) 峡部形成に必要とされるクラス V 型 POU 転写因子 Pou2 の脳形成における役割を検討した。

(3) MHB 領域及び ANB 領域の形成を行う制御遺伝子に関する領域特異的な転写調節機構を解析した。

(4) 脳形成及び多様な発生異常を示す新規突然変異体 *kanazutsi* (*kzt*) / *aa6k* 変異体について表現型を明らかにすると共に、原因遺伝子の同定を進めた。

(5) 発生遺伝学研究における新規技術である GAL4/UAS 系と TALEN 法の導入を進めた。

(6) 最終的には、脳発生とそれに関わるシグナルセンターの形成に関わる遺伝子制御ネットワークを様々な切り口から理解することをめざした。

### 3. 研究の方法

(1) 原腸形成期における MHB 形成遺伝子の機能検討:

原腸形成期に MHB 確立に関わる制御遺伝子の役割について、heat shock promoter (hsp promoter) を利用した時期特異的誘導実験により検討した。*gbx2* については hsp promoter 下流に遺伝子を連結した上でゼブラフィッシュのゲノムに導入した (Tg:hsp-*gbx2* 系統魚) (図1)。Pou2 については、転写抑制領域である ショウジョウバエ Engrailed Repressor Domain (EnR) との融合タンパク質の遺伝子を作製した上で hsp 下流に繋ぎ、やはり魚ゲノムに導入した (Tg:HEP)。これら誘導型遺伝子をゲノムにヘテロで持つ導入魚 (Tg 魚) と野生型魚の交配を行い、得られた胚を加温処理 (37 °C、1 時間) することで時期特異的に遺伝子を誘導した上、直後、あるいは通常温度で培養し、適切な時期において誘導効果を検討した。

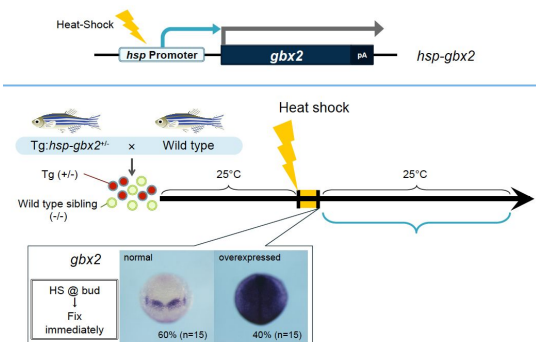


図1. hsp promoter を利用した *gbx2* の時期特異的誘導実験

(2) MHB 確立遺伝子の下流標的遺伝子の網羅的同定:

上述の Tg 魚と野生型胚魚を適切な時期に

加温処理した上、各胚からゲノム DNA と RNA を精製し、導入遺伝子の有無を PCR で決定し、遺伝子保有胚と非保有胚ごとに RNA をプールした。各 RNA プールを用いてマイクロアレイ解析による発現比較を行い (GeneChip, Affymetrix)、各遺伝子ごとに発現変動を網羅的に検討した。

(3) シグナルセンター特異的な転写調節機構の解析:

ゼブラフィッシュ *pax2a*, *emx3*, *pou2* の転写調節領域 DNA について、promoter 制御下にある GFP 遺伝子 (*egfp*) DNA と連結する、あるいは混合した上でゼブラフィッシュ受精卵に微小注入し、適切な発生時期に GFP タンパク質の発現を蛍光実体顕微鏡で観察した。あるいは、転写調節領域 DNA をホタル luciferase 遺伝子につないだ上、神経分化能を持つ未分化胚性がん細胞 P19(C6)に導入し、培養後、細胞溶解液中の Luciferase 活性をルミノメーターにより測定した。必要に応じ、各種脳形成遺伝子を CMV enhancer につないだ上で effector として共導入した。

(4) 脳形成シグナルセンター形成機構を解析する発生遺伝学実験系の確立:

GAL4-UAS 系については、これまでに同定した *fgf8a* の MHB 特異的 enhancer または *emx3* の終脳 enhancer を、改良 GAL4 遺伝子 (GFF または GGFF、国立遺伝研・川上浩一博士より供与) に連結させた。また、脳形成遺伝子 (*ca-R3*, *emx3*, *zic1* など) を UAS 下流に連結した。これらの遺伝子を Tol2 トランスポゾン法によりゼブラフィッシュゲノムに導入し、系統化した。

#### 4. 研究成果

(1) 峡部形成遺伝子 *gbx2* の発生における機能と下流遺伝子の探索:

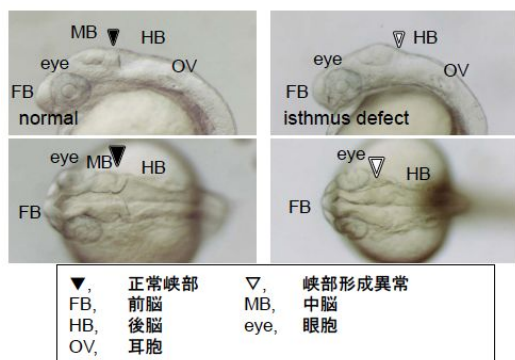


図 2. Tg:hsp-gbx2 魚胚を加温処理を行うことで初期咽頭胚期において見られる峡部異常

中脳、小脳形成を制御する峡部オーガナイザーの形成遺伝子 *gbx2* について、遺伝子内への欠失導入実験によりタンパク質内部の機能領域の存在を明らかとした (前脳形成抑制領域、前・中脳形成抑制領域、背側化活性調節領域など)。また、*gbx2* を hsp promoter につないだ上でゼブラフィッシュゲノムに導入し

た (図1)。得られたトランスジェニック (Tg) 系統の胚において、原腸形成終了期で *gbx2* を誘導した際に峡部欠損が顕著に見られること (図2)、その際に *otx2* 遺伝子の発現が直ちに低下すること等を見出した (Nakayama et al., 2013)。

この誘導系を利用し、原腸形成終了期に *gbx2* 強制発現で直ちに発現が変動する遺伝子群をマイクロアレイ法により網羅的に同定した。これらについて GO 解析、Pathway 解析を行い、発現上昇遺伝子には造血系遺伝子、細胞接着タンパク質遺伝子が多く、発現低下遺伝子には転写調節因子遺伝子、発生制御遺伝子 (脳形成遺伝子) が多いことを見出した。

また、*gbx2* で抑制される遺伝子として同定された中で、中脳で発現する神経形成阻害因子 *her5* に注目し、その発現を再現する上流 3.4 kb DNA の転写活性化能が HEK293T 細胞において *gbx2* により抑制されること、*her5* と *gbx2* の発現が脳原基の MHB で接することを示した。以上は、*gbx2* が *her5* を抑制することで脳原基内の MHB に *gbx2-her5* 境界ができることを示唆する。さらに、*gbx2* が中脳・後脳領域でプロニューラル遺伝子 *neurog1* の発現をまず抑制し、その後活性化すること、MHB 領域の発生を制御する *pou2* (マウス *Oct3/4* の相同遺伝子) の発現が *gbx2* で抑制されること、*pou2*, *neurog1*, *her4* の発現が中脳から後脳にある proneural cluster で密接な関係を持つこと、などを明らかとした。

(2) クラス V 型 POU 転写因子 Pou2 の脳形成における機能の解析:

*pou2* は、変異体を用いた研究から峡部形成に必要なことがわかってきたため、内在 Pou2 機能を加温処理で時期特異的に抑制可能な Tg:HEP 魚系統を作製し、各発生段階での HEP 誘導実験を行った結果、胞胚期には中内胚葉の分化、背腹パターンニング、収縮伸長運動に関わることを明らかとした (Khan et al., 2012a; Khan et al., 2012b)。一方、原腸形成終了の直前 (90% epiboly) では峡部の決定、直後 (3-somite 期) では峡部形態形成に *pou2* が関与すること、いずれの時期も *pax2a* の発現に *pou2* が必要であることを示した。Pou2 により転写調節を受ける遺伝子を網羅的に明らかとするため、Tg:HEP 魚を用いて HEP 誘導-非誘導胚での発現比較をマイクロアレイ法で行った結果、多数の脳領域化遺伝子が *pou2* により活性化されていることを見出した。さらに、神経分化抑制に関わる様々な *her* 遺伝子が *pou2* の制御を受けることも明らかにした。

(3) MHB 領域と ANB 領域の形成を制御する遺伝子の領域特異的な転写制御機構:

前脳形成オーガナイザーである ANB の形成制御機構を明らかにするために、ANB 形成遺伝子 *emx3* の転写調節機構を検討した。すでに上流 -2.9 kb から -2.0 kb まで ([-2.9/-2.0] 領域) が終脳特異的 enhancer であることを示していたが、今回、

[-2.2/-2.1]領域に転写調節活性を絞り込むことに成功した。また、P19 細胞での reporter アッセイにより、[-2.9/-2.0]領域の enhancer 活性が *emx3*, *foxd1a* により抑制され、*otx2* で活性化されること、従来基本 promoter と見なしていた上流 2.0 kb も同様に *otx2* による活性化、*emx3* による抑制を受けることを見出した。

*pax2a* については上流 5.3 kb の領域が MHB での発現を再現することが胚でのレポーター解析により報告されていた (Picker et al., 2002)。そこで、この領域を含む上流 6.6 kb 領域をクローン化し、これらについて GFP を使ったレポーターアッセイで転写調節能を検討した。遠位部領域 (-6.3 kb から -4 kb; [-6.3/-4]) の制御下に置いた GFP 遺伝子をゲノム内に導入した Transgenic (Tg: [-6.3/-4]-egfp) 魚を作製し、stable 発現を観察したところ、MHB を含む *pax2a* の内在の発現が再現された。この Tg 魚と Tg:HEP 魚を交配し、子孫胚を加温処理すると峡部の欠損、そして GFP レポーターの MHB での発現が消失した。遠位部領域及び近位部領域 ([-4/-1]) をホタル luciferase 遺伝子につなぎ、P19 細胞に導入したところ、いずれの領域についても *pax2a* により転写が活性化され、*pou2* で抑制された。したがって、*pou2* は *pax2a* とともに *pax2a* 上流 DNA に協調的に働くことにより MHB の形成に関与すると推定された。

原腸胚期に神経板で発現して峡部形成を制御する *pou2* についても、以前に胚への遺伝子導入法で同定していた転写調節領域 (上流 2.3 kb) の働きを P19 細胞で検討し、この領域が *pou2* で自己活性化を受けること、これがオクタマー配列に依存することを確認した。また、この際に *pou2* は *sox3* 遺伝子と協調的に働くこと、この調節領域 DNA の調節能は後方形成遺伝子 *cdx* 及び *gbx2* により抑制されることを示した。さらに、この reporter 発現が *her4*, *neurog1* 等で抑制、Notch シグナルで活性化されることを見出した。この結果は *pou2* が峡部形成及び中脳-後脳領域での神経分化を制御する遺伝子ネットワークの一部であることを示唆する。また、*sox* 遺伝子との協調作用においては、*Pou2* の N 末領域 (N3) が不可欠であることを示唆した。

(4) 脳形成及び多様な発生異常を示す新規変異体 *kanazutsi* (*kzt*)/*aa6k* 変異体についての表現型解析と原因遺伝子の同定: 我々が以前に同定した *kzt* 変異体では、神経堤細胞の初期分化は正常だが、その後の移動や後期分化に異常が生じ、特に顎軟骨、脳構造の扁平化、色素細胞分化、心臓発生などの形成不全、頭部でのアポトーシスの増加が見られる。また、血管形成と筋節由来組織の発生も異常となる。そこで、*kzt* 変異と密接に連鎖する遺伝子として *cygb1* を同定した。この遺伝子は体節形成期から体

節で発現し、その後、神経堤由来組織に発現が限局する。また、これらの発現部位は *kzt* で異常の見られる部位と一致していた。*cygb1* のノックダウンは *kzt* の表現型を再現し、発現プラスミドの導入による強制発現は *kzt* 変異体をレスキューすることから、*cygb1* が *kzt* 変異の原因遺伝子と考えられる。*Cygb1* は酸素代謝、酸素ストレスへの適応に関わるとされる Globin family タンパク質であり、本研究結果はこの family タンパク質の発生における役割を明らかにしたものである。

(5) 新規研究技術である GAL4/UAS 系と TALEN 法の導入:

脳形成の遺伝子制御機構を明らかにするため、GAL4-UAS 系の導入を進めた。まず、*fgf8a* の MHB enhancer、*emx3* の終脳 enhancer を利用した GAL4 系統魚の作製を行った。また、視床下部外側野で発現する hypocretin の promoter を同定した上、これについても GAL4 系統魚を樹立した。UAS-RFP 魚との交配により、実際にこれらの GAL4 魚が MHB、終脳、hypocretin ニューロンでの遺伝子強制発現に有効であることを確認した。

一方、以前に作製した活性型 FGF 受容体遺伝子 ca-R3 に UAS を連結した上でゲノムに導入し、得られた Tg 系統魚と GAL4 を全身的に発現させる系統魚を交配することで、子孫胚において実際に ca-R3 が誘導されること、主として頭部形成の異常を誘発できることを示した。また、前脳形成遺伝子 (*emx3* と *zic1*) に UAS 配列をつなぎ (UAS-*emx3*, UAS-*zic1*)、魚ゲノムへ導入した。得られた Tg 魚系統を適切な GAL4 系統魚と交配することで、子孫胚において実際に領域、細胞特異的な遺伝子強制発現に成功した。*emx3* と *zic1* のいずれについても全身的に強制発現させると様々な発生異常が起きることを確認している。

一方、以前に峡部の決定と形態形成への関与が示唆されていた *sp5* 及び *grhl2b* 遺伝子 (Tallafuβ et al., 2001; Dworkin et al., 2012) について、新規技術 TALEN 法による遺伝子破壊に着手し、これらの遺伝子に特異的な TALEN 遺伝子の作製に成功した。現在、その発生に及ぼす効果の検討を進めている。

(6) 結語

峡部形成への関与は知られるものの、実際の機能が不明であった峡部形成遺伝子 *gbx2* について、実際に機能する発生時期、内部構造を明らかにした。さらに、下流遺伝子候補を多数見出すとともに、*gbx2* が峡部形成のみならず、その後の神経分化にも関与することを示唆した。

クラス V 型 POU 転写因子 *Pou2* の機能については、峡部形成のみならず、発生において、中内胚葉の分化、背腹パターンニング、収縮伸長運動など、多様な機能を持つことを示した。

また、原腸形成終了の前後においては、峡部の分化、あるいは形態形成に關与することを示した。また、マイクロアレイにより、*pou2*が*gbx2*と同様、峡部形成のみならず、その後の神経分化制御にも關与することを示した。

培養細胞系でのreporter解析により、ANB形成遺伝子*emx3*の転写調節領域を従来よりさらに狭めた。また、少なくとも調節領域が複数あることを示した。MHB決定の主役である*pax2a*についても、胚及び培養細胞でのreporter解析により、*pax2a*の内在の発現を再現する領域を狭めることに成功した。いずれの遺伝子についても、培養系での解析から、これらの領域を転写制御しうる遺伝子を部分的に明らかにした。さらに、*pou2*についても発現調節に關与することが遺伝子導入魚で示されていた上流DNAについて、培養系で発現調節因子の詳細を明らかとした。

これらの結果は、脳形成においてシグナルセンターの形成に關与する3遺伝子(*emx3*, *pax2a*, *pou2*)が形成する遺伝子ネットワークの理解に貢献すると考える。

脳形成及び多様な発生異常を示す新規変異体*kzt*については、神経堤及び体節の形成異常で説明できること、この原因がglobin family 遺伝子の変異であることを示した。このように、順遺伝学的手法をとることで脊椎動物の発生を制御する新たな機構を明らかにしつつある。

ゼブラフィッシュを用いた発生遺伝学研究において強力な新規研究技術であるGAL4/UAS系とTALEN法の導入を進めた。これにより、ゼブラフィッシュというモデルで今後さらに脳形成機構を解析する上での実験系の幅を大幅に広げることができたと見える。

#### (7) 謝辞

最後に、本研究の遂行にご協力いただいた中山由紀子博士、アラム・カーン博士、黒柳友里さん、竹本一政君、伊藤佑貴君、志村恭介君、平一志君、篠藤綾乃さん、鹿毛大地君、小林加奈さん、高橋一樹君、その他の研究室メンバーに感謝いたします。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

##### [雑誌論文](計 5 件)

Y. Nakayama, H. Kikuta, M. Kanai, K. Yoshikawa, A. Kawamura, K. Kobayashi, Z. Wang, A. Khan, K. Kawakami, K. Yamasu. Gbx2 functions as a transcriptional repressor to regulate the specification and morphogenesis of the mid-hindbrain junction in a dosage- and stage-dependent manner. *Mech. Dev.*, 査読有, 130, 532-552 (2013)

doi: 10.1016/j.mod.2013.07.004

A. Khan, A. Nakamoto, S. Okamoto, M. Tai, Y. Nakayama, K. Kobayashi, A. Kawamura, H. Takeda, K. Yamasu. Pou2, a class V POU-type transcription factor in zebrafish, regulates dorsoventral patterning and convergent extension movement at different blastula stages. *Mech. Dev.*, 査読有, 129, 219-235 (2012a)

doi: 10.1016/j.mod.2012.07.007

Khan, A. Nakamoto, M. Tai, S. Saito, Y. Nakayama, A. Kawamura, H. Takeda, K. Yamasu. Mesendoderm specification depends on the function of Pou2, the class V POU-type transcription factor, during zebrafish embryogenesis. *Develop. Growth Differ.*, 査読有, 54, 686-701 (2012b)

doi:10.1111/j.1440-169X.2012.01369.x

M. Saito, K. Yamasu, T. Suyemitsu. Binding properties of thyroxine to nuclear extract from sea urchin larvae. *Zool.*, 査読有, *Sci.*29, 79-82 (2012)

doi: 10.2108/zsj.29.79

A. Ishioka, T. Jindo, T. Kawanabe, K. Hatta, M. S. Parvin, M. Nikaido, Y. Kuroyanagi, H. Takeda, K. Yamasu. Retinoic acid-dependent establishment of positional information in the hindbrain was conserved during vertebrate evolution. *Dev. Biol.*, 査読有, 350, 154-168 (2011)

doi: 10.1016/j.ydbio.2010.10.011

##### [学会発表](計 24 件)

(以下には代表的なものについて発表者と責任者を示す)

K. Kobayashi, K. Yamasu. In vitro analysis of the transcriptional regulatory mechanism of zebrafish *pou2* that encodes a class V POU transcription factor. 第36回日本分子生物学会年会(神戸, 2013年12月3日)

K. Takahashi, K. Yamasu. A novel mutation involved in the development neural crest cells and somites in zebrafish embryos. 第36回日本分子生物学会年会(神戸, 2013年12月4日)

Y. Nakayama, K. Yamasu. Gbx2 regulates neurogenesis in the cerebellum during early vertebrate development. 第36回日本分子生物学会年会(神戸, 2013年12月4日)

K. Takahashi, K. Yamasu. A novel mutation involved in neural crest

differentiation in zebrafish embryos. 8th European Zebrafish Meeting (Barcelona, Spain, 2013年7月10日) Y. Nakayama, K. Yamasu. Studies on the gene network with a focus on Gbx2 transcription factor at the midbrain-hindbrain boundary. 8th European Zebrafish Meeting (Barcelona, Spain, 2013年7月10日) A. Khan, K. Yamasu. Repeated utilization of Pou2, a class V POU-type transcription factor in zebrafish, in regulation of multiple aspects of early development. 8th European Zebrafish Meeting (Barcelona, Spain, 2013年7月11日) H. Taira, K. Yamasu. Functional analysis of the forebrain-forming genes in zebrafish embryos by the GAL4-UAS system. 第35回日本分子生物学会年会 (福岡, 2012年12月14日) K. Shimura, K. Yamasu. Identification of the telencephalon enhancer of emx3 that functions in zebrafish embryos. 第35回日本分子生物学会年会 (福岡, 2012年12月11日) Y. Nakayama, K. Yamasu. Functional analysis of zebrafish Gbx2 as a transcriptional regulator in embryos and cell culture system. 第35回日本分子生物学会年会 (福岡, 2012年12月11日) Y. Nakayama, K. Yamasu. Functional analysis of Gbx2 in brain development using the heat shock induction system. 10th International Conference on Zebrafish Development & Genetics (Madison, USA, 2012年6月23日) A. Khan, K. Yamasu. Analysis of the roles played by a zebrafish class V POU protein, Pou2/Pou5f1, in mesendodermal specification. 45th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists (Kobe, 2012年5月31日) Y. Nakayama, K. Yamasu. The Gbx2 homeodomain protein functions as a transcriptional repressor in zebrafish embryos and embryonal carcinoma cells. 45th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists (Kobe, 2012年5月29日) Y. Nakayama, K. Yamasu. Comprehensive analysis of the regulatory gene network initiated by gbx2 at the midbrain-hindbrain boundary. 第34回日本分子生物学会年会 (横浜, 2011年12月13日) A. Khan, K. Yamasu. Requirements of a

Class V POU transcription factor Pou2/Pou5f1 in different aspects of zebrafish development. The 5th Asia-Oceania Zebrafish Meeting (Beijing, China, 2011年8月26日) Y. Nakayama, K. Yamasu. Functional alteration of the Gbx2 transcription factor during zebrafish brain development. 44th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists (Ginowan, 2011年5月19日)

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://devbiol.seitai.saitama-u.ac.jp>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

弥益 恭 (YAMASU, Kyo)  
埼玉大学・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号：60230439

### (2) 研究分担者

川村 哲規 (KAWAMURA, Akinori)  
埼玉大学・大学院理工学研究科・講師  
研究者番号：10466691