

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 3 月 20 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23616002

研究課題名(和文) 遺伝学的手法によるゲノムDNA脱メチル化因子の網羅的探索

研究課題名(英文) Genome wide screening of genomic DNA demethylation factors by genetic method.

研究代表者

菊池 裕 (Kikuchi, Yutaka)

広島大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20286438

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：エピジェネティクスは、遺伝子の塩基配列に依存しないに遺伝子発現制御機構である。ゲノムDNAのメチル化は、エピジェネティック機構の1つであるが、動物細胞のDNA脱メチル化機構は未だ解明されていない。そこで私は、動物細胞のDNA脱メチル化機構を遺伝学的に解明する事を目的に、変異体のスクリーニングを行ったが、新規変異体の単離には至らなかった。更に、ゼブラフィッシュ発生・再生過程におけるDNAメチル化・脱メチル化の解析を行った結果、脱メチル化への関与が報告されていたAID、MBD4は脱メチル化に機能しないこと、発生・再生過程においてDNAメチル化度がダイナミックに変化することを、論文発表した。

研究成果の概要(英文)：Epigenetics is a regulatory system for gene expression independent of genomic DNA sequence. Genomic DNA methylation is one of epigenetics system, but the mechanisms of DNA demethylation remain to be elucidated in animal cells. To uncover the DNA demethylation systems in animal cells, I tried to screen new zebrafish mutants that have defects in DNA demethylation, but my research goal was not achieved. In addition to mutant screening, I found that both activation-induced cytidine deaminase and methyl CpG-binding domain protein 4 do not function in DNA demethylation, and the level of DNA methylation is dynamically changed during development and caudal fin regeneration in zebrafish.

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：エピジェネティクス

キーワード：ゼブラフィッシュ 変異体 スクリーニング 脱メチル化 発生 再生

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) DNA 脱メチル化に異常を示す変異体の解析による脱メチル化機構の解明

ゲノム DNA の塩基配列に依存しないエピジェネティクスは、多くの生命現象 (発生・遺伝・遺伝子発現・癌・老化・神経疾患等) に関与する非常に重要なシステムである。この様なエピジェネティック機構の1つであるゲノム DNA のメチル化は、現在まで多くの研究が行われた結果、DNA メチル化機構に関しては明らかにされてきたが、動物細胞の DNA 脱メチル化機構に関しては、未だに不明な点が多く十分解明されていないのが現状である。DNA 脱メチル化に機能する候補因子は数多く報告されてきたが、体細胞において遺伝学的に証明された DNA 脱メチル化因子は、報告が非常に少ない。

### (2) AID, MBD4 によるゲノム DNA 脱メチル化機構の検証

現在まで私は、初期発生過程における細胞分化・器官形成機構 (特に内胚葉細胞分化・器官形成) に関して、ゼブラフィッシュを用いて遺伝学的・分子生物学的解析を行ってきた<sup>1,2)</sup>。発生過程における細胞分化機構の解析には、エピジェネティックな制御を考慮することは必要不可欠であるが、DNA 脱メチル化機構が不明であったため、エピジェネティックな側面からの解析は進んでいなかった。

最近 Rai<sup>3)</sup>らは、ゼブラフィッシュ胚を用いたノックダウン実験により、activation-induced cytidine deaminase (AID) と methyl CpG-binding domain protein 4 (MBD4) による 2 段階修飾と塩基除去修復による DNA 脱メチル化機構を報告した。しかし、AID, MBD4 が真の脱メチル化因子で有るか否かは、十分に検証されていなかった。そこで私の研究室では、AID, MBD4 に対するモルフォリノアンチセンスオリゴ (MO) を用いたノックダウン実験を行い、遺伝子発現に対する影響を調べた。その結果、Rai らの実験結果を全く再現できなかったことから、AID, MBD4 によるゲノム DNA 脱メチル化機構は誤りである可能性が示唆された。

### (3) 発生過程における DNA メチル化度変化の解析

発生過程における DNA メチル化度の変化、メチル化・脱メチル化関連遺伝子の発現に関しては、多くのモデル生物において十分に解析が進んでいなかった。最近 3~4 年の間に、マウスの ES 細胞を実験系として、DNA 脱メチル化に関与する新規タンパク質として Ten-Eleven-Translocation (Tet) が注目され、盛んに研究が行われた。Tet タンパク質は、5-メチルシトシン (5mC) を 5-ヒドロキシメチルシトシン (5hmC) に変換する酵素であり、5hmC 変換後は更に 5-フォルミルシトシン・5-カルボキシルシトシン等を経て、最終的に塩基除去修復過程により脱メチル化

されるメカニズムが報告された。しかし、DNA 脱メチル化に関与する因子の報告は非常に多く、研究開始当初では DNA 脱メチル化の機構・経路は確定されていなかった。

また、発生過程における DNA メチル化度の変化を明らかにするためには、DNA 脱メチル化だけでなく、メチル化酵素の解析も重要である。しかし、メチル化酵素をコードする遺伝子 (DNA methyltransferase; dnmt) の発現に関しては、多くのモデル生物において十分に解析が進んでいなかった。

### (4) 尾ビレ再生過程における DNA メチル化・脱メチル化の解析

多くの脊椎動物は、外傷や疾患による損傷に対して高い再生能力を有するが、哺乳類等の高等動物は非常に限られた再生能力しか示さない。私の研究室では、再生能力が高いゼブラフィッシュを用い、尾ビレ再生を実験系として研究を行っている。尾ビレ再生においては主に 3 つの過程 [1. 分化細胞から増殖可能な未分化細胞への変換 (脱分化)、2. 脱分化細胞が集合した再生芽の形成、3. 再分化による組織・器官の再構築] を経て再生が進行する。しかし、現在までの再生研究では、「どのようにして再生芽の細胞から組織・器官が元の状態に再構築されるのか」という点に研究の力点がおかれていた。そのため、「なぜ分化細胞が増殖可能な未分化細胞に変換されるのか? 或いは、なぜ再生能力が低い動物では脱分化が起こらないのか?」という視点からの研究は、非常に少ないのが現状である。このような現状を踏まえ、私達は脱分化には遺伝子発現制御に関与するエピジェネティックな変化が重要であると考え、再生過程における DNA メチル化の詳細な解析を行った。再生過程における DNA メチル化の変化や脱メチル化関連遺伝子の発現に関しては、多くのモデル生物において十分に解析が進んでいなかった。

## 2. 研究の目的

### (1) DNA 脱メチル化に異常を示す変異体の解析による脱メチル化機構の解明

動物細胞における DNA 脱メチル化は、様々なメカニズムが提唱されているが、未だ確定された機構の証明はなされていない。私は、動物細胞における DNA 脱メチル化機構を解明するため、ゲノム DNA 脱メチル化が異常になる新規変異体の単離を考えた。ゼブラフィッシュは、体外発生で数多くの受精卵を得ることが容易であり、遺伝学的解析が可能な実験動物である。形態形成・器官形成過程に異常を示す数多くのゼブラフィッシュ変異体が単離され、原因遺伝子の解析が行われてきたが、ゲノム DNA 脱メチル化に着目した変異体のスクリーニングは行われていなかった。理由としてはゲノム DNA 脱メチル化度を簡便に調べる指標が無かったことが原因と考えられる。そこで私は、DNA 脱メチ

ル化機構を遺伝学的に明らかにする事を研究目的に変異体のスクリーニングを行った。

(2) AID, MBD4 によるゲノム DNA 脱メチル化機構の検証

ゼブラフィッシュの初期発生過程においては、AID, MBD4 を介した DNA 脱メチル化機構が報告されたが、私達の研究では報告された論文<sup>3)</sup>の結果を再現出来ないことが明らかになった。そこで私は、AID, MBD4 によるゲノム DNA 脱メチル化機構の検証を目的に実験を行った。本実験は、「DNA 脱メチル化に異常を示す変異体の解析」と同様に、動物細胞における DNA 脱メチル化機構の解明に必要不可欠であると考えている。

(3) 発生過程における DNA メチル化度変化の解析

新規 DNA 脱メチル化因子として報告された Tet タンパク質の発生過程における機能を明らかにする事を目的に、ノックダウン実験を行った。Tet タンパク質の機能解明は、「DNA 脱メチル化に異常を示す変異体の解析」と同様に、動物細胞における DNA 脱メチル化機構の解明に必要不可欠であると考えている。更に解析が十分ではない、発生過程におけるメチル化度の変化を明らかにする事を目的とした実験を行った。

(4) 尾ビレ再生過程における DNA メチル化・脱メチル化の解析

尾ビレ再生過程においては、脱分化により分化細胞において細胞分裂や未分化マーカー遺伝子の発現が開始される。この様な脱分化における DNA メチル化・脱メチル化の関与を明らかにする事を研究目的とする。本実験は、「DNA 脱メチル化に異常を示す変異体の解析」と同様に、動物細胞における DNA 脱メチル化機構の解明に必要不可欠であると考えている。

### 3. 研究の方法

(1) DNA 脱メチル化に異常を示す変異体の解析による脱メチル化機構の解明

DNA 脱メチル化因子をコードする遺伝子を遺伝学的手法により同定するため、当初の計画では化学変異原 N-ethyl-N-nitrosourea を用いた 3 世代スクリーニング法を想定していた。しかし、変異体の作製・スクリーニング・原因遺伝子のクローニングに多大な時間・労力を必要とすること、近年国立遺伝学研究所川上浩一博士らにより開発されたトランスポゾン Tol2 を用いた遺伝子トラップ法(挿入変異法)が利用可能になったことから、この遺伝子トラップ法を用いた変異体の作製を行った。遺伝子トラップ法は、変異体の作製が容易なだけでなく、変異体の原因遺伝子を非常に短期間に決定することが可能である。

(2) AID, MBD4 によるゲノム DNA 脱メチル化機構の検証

Rai らの実験結果を検証するため以下の実験を行う。

(a) メチル化 DNA をゼブラフィッシュ受精卵へ微量注入することにより引き起こされるメチル化度の変化を、メチル化感受性制限酵素による切断・バイサルファイトシークエンシング法により検出する。

(b) メチル化 DNA をゼブラフィッシュ受精卵へ微量注入することにより引き起こされる *aid, mbd4, growth arrest and DNA damage 45 (gadd45)* 遺伝子の発現を、Real-time PCR により定量する。

(c) AID, MBD4 によるゲノム DNA 脱メチル化を検証するため、それぞれに特異的な MO によるノックダウン実験を行い、メチル化度の変化をバイサルファイトシークエンシング法により検出する。

(3) 発生過程における DNA メチル化度変化の解析

様々な発生段階のゼブラフィッシュ胚から cDNA を作製し、部分的にクローニングされている *Tet1,2,3* 遺伝子情報を基にプライマーを合成し、RT-PCR により全長のクローニングを行う。更にそれぞれの遺伝子に特異的な MO を作製し、ノックダウン実験を行う。

更に、様々な発生段階での DNA メチル化度の変化を調べるため、メチル化感受性制限酵素によるゲノム DNA の切断・バイサルファイトシークエンシング解析や *dnmt* の発現解析を行う。

(4) 尾ビレ再生過程における DNA メチル化・脱メチル化の解析

尾ビレ再生過程における DNA メチル化・脱メチル化を解析するため、再生過程での DNA メチル化をドットプロット法・免疫抗体染色法・バイサルファイトシークエンシング法を行う。

### 4. 研究成果

(1) DNA 脱メチル化に異常を示す変異体の解析による脱メチル化機構の解明

遺伝子トラップベクターは、トランスポゾン内部にスプライスアクセプターとプロモーターを持たない *GAL4* 遺伝子が組み込まれているため、遺伝子トラップベクターが遺伝子のコーディング内に挿入された場合に遺伝子破壊が生じる。

遺伝子トラップベクターが挿入された約 80 匹の成魚(ゲノム中には複数の遺伝子トラップベクターが挿入されている)を UAS-GFP ラインと掛け合わせ、遺伝子トラップラインの同定を行った。その結果、現在まで GFP 蛍光を発するトラップラインを見出すことは出来なかった。今後スクリーニング数を増やす事により、トラップラインの単離を目指す予定である。

## (2) AID, MBD4 によるゲノム DNA 脱メチル化機構の検証

動物における DNA 脱メチル化機構は、多くのモデルが提唱されてきたが、未だ確定したメカニズムは報告されていない状態である。この様な状況において、2008 年 Rai らはゼブラフィッシュ胚を用いる事により、AID, MBD4, GADD45 による脱メチル化機構を報告し<sup>3)</sup>、哺乳類における脱メチル化機構を考察する上で参考にされてきた。しかし、私達は AID と MBD4 による能動的脱メチル化の検証実験を試みたが、再現性を得ることが出来なかった。第一に、メチル化 DNA をゼブラフィッシュ胚に注入しても、ゲノムの脱メチル化や *aid* の発現が誘導されなかった。更に、*aid* あるいは *mbd4* をノックダウンしても、メチル化の異常は見られないことや、ゼブラフィッシュの MBD4 には脱メチル化に必要なメチル化 DNA 結合ドメインが無いことを見出した。以上の結果より我々は、ゼブラフィッシュにおいては AID と MBD4 が協調した脱メチル化システムを支持する証拠がない、と結論付けた (Shimoda et al., PLoS One, 2014)。

## (3) 発生過程における DNA メチル化変化の解析

ゼブラフィッシュ *Tet2, 3* 遺伝子をクローニングし、*in situ* hybridization 法により発生過程における発現を解析した。その結果、*Tet2, 3* 遺伝子は発現が神経系に局在していたため、MO によるノックダウン実験を行った。しかし、神経発生・形成に明確な異常を見出すことは出来なかった。今後 *Tet2, 3* 遺伝子の機能に関して、更に詳細な解析を行う予定である。なお、*Tet1* 遺伝子はスプライシングバリエーションが多く、MO の設計が困難であった。

また、ゼブラフィッシュの発生・加齢における DNA メチル化度の変化を調べた結果、CpG アイランドショアと呼ばれる CpG アイランド周辺領域において、受精後 2 日目から明確なメチル化の減少が起こることを明らかにした (Shimoda et al., Age, 2014)。

更に、発生過程における新規メチル化遺伝子 (*dnmt3aa, dnmt3ab, dnmt4*) の発現解析を行った。その結果、*dnmt3aa* は頭部神経系・消化管・前腎管、*dnmt3ab* は頭部神経系・消化管、*dnmt4* は網膜・中脳後脳境界部・消化管・造血及び血球細胞で発現していた。また再生過程における再生芽では、*dnmt3aa* が再分化領域で強く発現していることを見出した (Takayama et al, *Gene Expression Pattern*, 2014)。

## (4) 尾ビレ再生過程における DNA メチル化・脱メチル化の解析

私達は脱分化には遺伝子発現制御に関与するエピジェネティックな変化が重要であ

ると考え、再生過程における DNA メチル化の詳細な解析を行った。その結果、再生芽が形成されるより早い段階 (切断後 12~24 時間) で、切断面より離れた細胞で、5mC, 5hmC レベルが大幅に減少することを見出した。また再生が進行すると 5mC は素早く元のレベルまで戻るのに対し、5hmC レベルは再生完了までに徐々に戻ることを報告した (Hirose et al, *Epigenetics*, 2013) (図 1 参照)。更に、DNA メチル化レベルの低下は、能動的脱メチル化と協調的に起こること、再生芽では DNA 脱メチル化関連遺伝子である *thymine-DNA glycosylase* の発現が上昇することを明らかにした (Hirose et al, *Epigenetics*, 2013)。

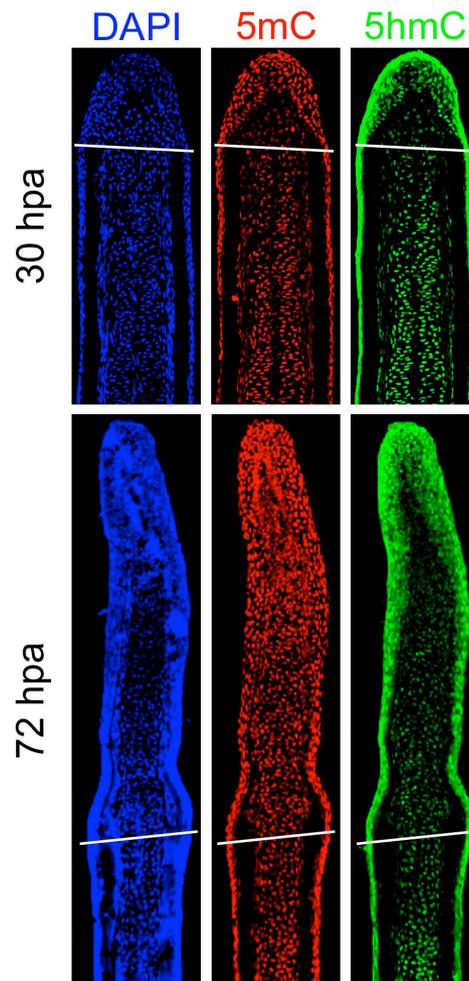


図1 再生過程における5mC, 5hmC量の变化

(hpa: hours post amputation)

### <参考文献>

- 1) Kikuchi, Y., et al., 2000, *Genes & Development*, **14**: 1279-1289.
- 2) Kikuchi, Y., et al., 2001, *Genes & Development*, **15**: 1493-1505.
- 3) Rai, K., et al., 2008, *Cell*, **135**:1201-1212.

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 9 件)

1. Shimoda N, Hirose K, Kaneto R, Izawa T, Yokoi H, Hashimoto N, and **Kikuchi, Y.** 2014, No evidence for AID/MBD4-coupled DNA demethylation in zebrafish embryos. *PLoS One* **9(12)**: e114816. (DOI: 10.1371/journal.pone.0114816) 査読有り
2. Takayama, K., Shimoda, N., Takanaga, S., **Hozumi, S.** and **Kikuchi, Y.** 2014, Expression patterns of *dnmt3aa*, *dnmt3ab*, and *dnmt4* during development and fin regeneration in zebrafish. *Gene Expression Patterns* **14**: 105-110. (DOI: 10.1016/j.gep.2014.01.005) 査読有り
3. Shimoda, N., Izawa, T., Yoshizawa, A., Yokoi, H., **Kikuchi, Y.**, and Hashimoto, N. 2014, Decrease in cytosine methylation at CpG island shores and increase in DNA fragmentation during zebrafish aging. *Age* **36**:103-115. (DOI: 10.1007/s11357-013-9548-5) 査読有り
4. Hirose, K., Shimoda, N., and **Kikuchi, Y.** 2013, Transient reduction of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine is associated with active DNA demethylation during regeneration of zebrafish fin. *Epigenetics* **9**: 899-906. (DOI: 10.4161/epi.25653) 査読有り
5. Hirabayashi, R., **Hozumi, S.**, Higashijima, S. and **Kikuchi, Y.** 2013, Ddx46 is required for multi-lineage differentiation of hematopoietic stem cells in zebrafish. *Stem Cells and Development* **22**: 2532-2542. (DOI: 10.1089/scd.2012.0623) 査読有り
6. **Hozumi, S.**, Hirabayashi, R., Yoshizawa, A., Ogata, M., Ishitani, T., Tsutsumi, M., Kuroiwa, A., Itoh, M. and **Kikuchi, Y.** 2012, DEAD-Box Protein Ddx46 is required for the development of the digestive organs and brain in zebrafish. *PLoS One* **7(3)**: e33675. (DOI: 10.1371/journal.pone.0033675) 査読有り
7. Yoshizawa, A., Nakahara, Y., Izawa, T., Ishitani, T., Tsutsumi, M., Kuroiwa, A., Itoh, M. and **Kikuchi, Y.** 2011, Zebrafish *Dmrta2* regulates neurogenesis in the telencephalon. *Genes to Cells* **16**: 1097-109. (DOI: 10.1111/j.1365-2443.2011.01555.x) 査読有り
8. Hirose, K., Shimoda, N. and **Kikuchi, Y.** 2011, Expression patterns of *lgr4* and *lgr6* during zebrafish development. *Gene Expression Patterns* **11**: 378-383. (DOI: 10.1016/j.gep.2011.04.002) 査読有り
9. Taniguchi, K., Maeda, R., Ando, T., Okumura, T., Nakazawa, N., Hatori, R., Nakamura, M., **Hozumi, S.**, Fujiwara, H., Matsuno, K. 2011, Chirality in planar cell shape contributes to left-right asymmetric epithelial morphogenesis.

*Science* **333**: 339-341. (DOI:

10.1126/science.1200940) 査読有り

[学会発表] (計 20 件)

1. **菊池 裕**、廣瀬健太郎、下田修義、高山和也、塩見太志、**穂積俊矢**  
ゼブラフィッシュ尾ビレ再生における脱分化機構の解析  
2014年3月27日、日本解剖学会、栃木県下野市(自治医科大学) (招待講演)
2. 高山 和也、高永 俊佑、下田 修義、**穂積俊矢**、**菊池 裕**  
ゼブラフィッシュにおける *Dnmt4*, *Dnmt3aa*, *Dnmt3ab* の発現解析  
2013年12月5日、日本分子生物学会、兵庫県神戸市
3. 中原 良成、武藤 彰彦、桑 昭苑、**菊池 裕**  
Notch-Hey1経路はゼブラフィッシュ脳下垂体においてホルモン分泌細胞の分化を制御している  
2013年12月3日、日本分子生物学会、兵庫県神戸市
4. **穂積俊矢**、平林諒、東島眞一、**菊池 裕**  
mRNAスプライシング因子Ddx46は造血幹細胞の維持や血球分化に必要である  
2013年9月19日、日本遺伝学会、東京都港区
5. Hirose, K., Shimoda, N. and **Kikuchi, Y.**  
Transient reduction of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine is caused by active DNA demethylation during regeneration of zebrafish fin.  
2013年6月17日、International Society of Developmental Biologists, Cancun, Mexico
6. 廣瀬健太郎、下田修義、**菊池 裕**  
ゼブラフィッシュ尾ビレ再生過程における 5-メチルシトシンと5-ヒドロキシメチルシトシンの一過的減少  
2013年5月30日、日本エピジェネティクス研究会年会、奈良県奈良市
7. 下田修義、廣瀬健太郎、**菊池 裕**、橋本有弘  
ゼブラフィッシュの再生ヒレに見られた CpG アイランドショアの低メチル化  
2013年5月30日、日本エピジェネティクス研究会年会、奈良県奈良市
8. Hirabayashi, R., **Hozumi, S.**, Higashijima, S. and **Kikuchi, Y.**  
Ddx46 is required for multi-lineage differentiation of hematopoietic stem cells in zebrafish.  
2013年5月29日、日本発生生物学会、島根県松江市
9. Takayama, K., Takanaga, S., Shimoda, N. and **Kikuchi, Y.**  
Expression patterns of *dnmt3aa*, *dnmt3ab*, and *dnmt4* in zebrafish development.  
2013年5月29日、日本発生生物学会、島根県松江市
10. Hirose, K., Shimoda, N. and **Kikuchi, Y.**  
Transient reduction of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine is caused by active DNA demethylation during regeneration of zebrafish fin.  
2013年5月28日、日本発生生物学会、島根

県松江市 (招待講演)

11. 高山和也、菊池 裕、高永俊祐、下田修義

発生過程におけるゼブラフィッシュ *Dnmt4*, *Dnmt6*, *Dnmt8* の発現パターン

2012年12月13日、日本分子生物学会、福岡県福岡市

12. Hirabayashi, R., Hozumi, S. and Kikuchi, Y. The DEAD-box protein Ddx46 is required for differentiation of definitive hematopoietic stem cells in zebrafish.

2012年12月12日、日本分子生物学会、福岡県福岡市

13. 廣瀬健太郎、下田修義、菊池 裕 ゼブラフィッシュ尾ビレ再生における DNA メチル化の変化

2012年9月14日、日本動物学会、大阪府豊中市 (招待講演)

14. Hirabayashi, R., Hozumi, S. and Kikuchi, Y. DEAD-box protein Ddx46 is required for the maintenance of hematopoietic stem cells in zebrafish definitive hematopoiesis.

2012年5月28日、Joint meeting of the 45<sup>th</sup> JSDB and the 64<sup>th</sup> JSCB、兵庫県神戸市 (招待講演)

15. 下田修義、井澤俊明、吉澤明生、菊池 裕、橋本有弘 ゼブラフィッシュの加齢はゲノミックとエピゲノミックな変化を伴う

2011年12月14日、日本分子生物学会、神奈川県横浜市 (招待講演)

16. Hozumi, S., Hirabayashi, R., Yoshizawa, A., Ogata, M., Ishitani, T., Tsutsumi, M., Kuroiwa, A., Itoh, M. and Kikuchi, Y. The DEAD-box protein Ddx46 is involved in pre-mRNA splicing for development of digestive organs and brain in zebrafish.

2011年12月13日、日本分子生物学会、神奈川県横浜市 (招待講演)

17. 菊池 裕 ゼブラフィッシュ原腸陥入期における内胚葉細胞の移動機構

2011年9月23日、日本動物学会、北海道旭川市 (招待講演)

18. Nakahara, Y., Yoshizawa, A., Izawa, T., Ishitani, T., Tsutsumi, M., Kuroiwa, A., Itoh, M., and Kikuchi, Y. Zebrafish Kuririn is a critical factor for the telencephalic neurogenesis by repressing *Hes*-related gene, *her6*.

2011年5月19日、日本発生生物学会、沖縄県宜野湾市

19. Hozumi, S., Hirabayashi, R., Yoshizawa, A., Ogata, M., Ishitani, T., Tsutsumi, M., Kuroiwa, A., Itoh, M. and Kikuchi, Y. DEAD-box RNA helicase is required for development of the digestive organs and brain.

2011年5月19日、日本発生生物学会、沖縄県宜野湾市

20. Hirose, K., Hirabayashi, R., Mizoguchi, T., Izawa, T., Kuroiwa, A., and Kikuchi, Y. Phenotypic analyses of zebrafish *shippo-saki-marumari* mutant that shows the defects in skeletal muscle formatin.

2011年5月20日、日本発生生物学会、沖縄県宜野湾市

[その他]

ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/~zebra/index.html>

広島大学大学院 理学研究科生物科学専攻 菊池研究室

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊池 裕 (KIKUCHI Yutaka)

広島大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：20286438

(2) 研究分担者

穂積 俊矢 (HOZUMI Shunya)

広島大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：10597222