

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26440114

研究課題名(和文) 脳原基の領域化と神経分化を統合的に制御する遺伝子ネットワークの解明

研究課題名(英文) Studies on the genetic network allowing the integrated regulation of brain regionalization and neurogenesis in vertebrate embryos

研究代表者

弥益 恭 (YAMASU, Kyo)

埼玉大学・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) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ゼブラフィッシュをモデルとし、脳原基領域化とニューロン分化の統合的理解をめざした。まず、脳領域化遺伝子であるpou2とgbx2の発現が神経前駆領域と密接に関係すること、これらの遺伝子が多様な神経発生遺伝子の発現制御に関わることを示した。さらに、pou2の機能阻害胚で発現が変動する遺伝子を網羅的に検討し、pou2が多様な神経発生遺伝子を制御することを示した。一方、pou2及びbHLH-0の転写制御を培養細胞系で解析し、神経発生遺伝子間の相互作用を明らかにした。pou2については尾芽多能性幹細胞からの神経分化に関与することも示した。以上から神経発生の統合的制御機構の存在が示された。

研究成果の概要(英文)：We sought to integratively understand the regulation of brain regionalization and neurogenesis, which undergo in parallel in the neural tube of vertebrate embryos, using zebrafish as a model. We first showed that the expression of the two brain regionalization genes, pou2 and gbx2, is closely associated with the neural precursor regions, and these two genes were indeed functionally implicated in the regulation of various neurogenesis genes. Furthermore, we identified the genes whose expression in embryos had been altered by inhibiting pou2 function by the microarray method, showing that pou2 regulates many neurogenesis-related genes. Furthermore, the transcriptional regulation of pou2 and bHLH-0 (her3 and her5) was examined in cultured cells, revealing the interaction among neurogenesis genes. We also found that pou2 is involved in neural differentiation in the caudal neural tube from tailbud stem cells. These findings confirmed the integrated regulation of neural development.

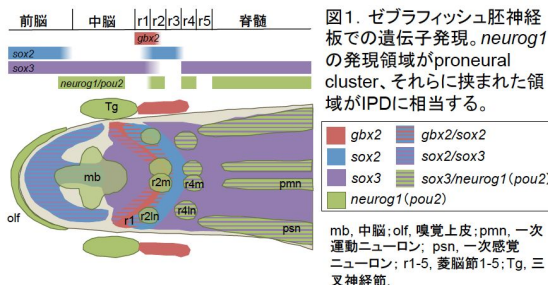
研究分野：発生生物学

 キーワード：ゼブラフィッシュ 脳形成 神経形成 Notchシグナル プロニューラルクラスター 脳領域化 Gbx2ホ
 メオボックス遺伝子 PouV型転写因子

1. 研究開始当初の背景

脊椎動物の中枢神経系原基である神経板では、原腸形成期においてまず前後に沿った極性が確立した後、前脳胞、中脳胞、後脳胞の形成、そして各脳胞の細分化が進行する。脳原基の領域化に関しては、これまでに遺伝子発現境界に生じる局所オーガナイザー(シグナルセンター)の重要性が明らかとなっている。特に *otx2* の発現する神経板前方と *gbx2* が発現する神経板後方の間の境界は、後の中脳-小脳境界 (Midbrain-Hindbrain Boundary, MHB) に相当するのみならず、Fgf8、Wnt1 という拡散性因子を分泌して中脳と小脳の誘導とパターンニングを行う。我々は以前にゼブラフィッシュにおいて *gbx2* を同定し、やはり *otx2* とともに MHB を決定すること、*gbx2* がその後 MHB で形成される峽部の形成にも必要であることを示した (Kikuta et al., 2003)。また、誘導性 *gbx2* を持つ Transgenic (Tg) 魚を利用することで、*gbx2* は体節形成初期における MHB の最終的な決定に関わること、Gbx2 タンパク質が抑制性転写因子として働くことを明らかにしていた (Nakayama et al., 2013)。一方、ゼブラフィッシュ胚での MHB 領域の発生には、PouV 型転写因子遺伝子 *pou2* が神経板で一過的に発現し、MHB での峽部形成及び後脳のパターンニングに関わることも知られる (Belting 2001; Hauptmann 2002)。Pou2 は哺乳類で初期胚細胞の多分化能維持に働く Oct4 と密接に関連しており、Pou2/Oct4 遺伝子の脳形成における役割が注目される。

神経板では、こうした領域化と並行して、ニューロンに分化しうる神経前駆細胞領域が形成され、発生の初期から後期にかけて、多様かつ適切なニューロンが特定の時期、部域で供給される。魚類や両生類の胚では、神経板の中脳領域、後脳前方領域、脊髄領域などで proneural cluster が形成され、ここに一次ニューロンが生じるが、proneural cluster の間には、ニューロン分化の抑制された神経前駆細胞プール (Inter-Proneural Domain, IPD) となる (図1)。



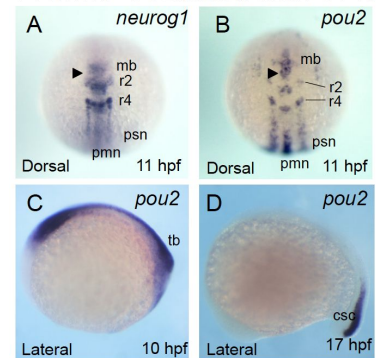
ニューロン分化の制御においては、proneural 遺伝子によるニューロン分化能の付与、そして Notch シグナル及びその下流の bHLH-0 型転写因子遺伝子 (ゼブラフィッシュでは *her*) による分化抑制が重要とされる。まず、proneural cluster 内では Notch シグナルと *her4* などによるニューロン分化の側

方抑制が起きる。一方、IPD 領域での未分化状態の維持は異なる機構に依っており、MHB 領域では *her5/her11*、その他の神経板では *her3/her9* が、Notch シグナルとは独立して神経分化を抑制的に制御する (Stigloher et al., 2008)。

脳原基の領域化とニューロン分化という二つの重要なプロセスは、脊椎動物の脳原基において並行して進行するが、それにも関わらず、これまで多くの研究において、別個の現象、独立の研究対象として論じられてきた。しかし、我々は、脳領域化遺伝子の *gbx2* が、MHB 決定のみならず、小脳分化を推進すること (Nakayama et al., 2013)、中脳領域でニューロン分化を抑制する *her5* の発現後端を決定すること、proneural 遺伝子 (*neurog1* など) の IPD における発現を活性化することを見出していた。

一方、我々は誘導性の dominant-negative *pou2* (*dn-pou2*) を用いて時期特異的 *pou2* 機能阻害を行うことにより、*pou2* の峽部形成における役割を検討していたが (Khan et al., 2012) その過程で

図2. *pou2* のゼブラフィッシュ胚における発現。(A,B)3体節期においてproneural遺伝子 (*neurog1*, A)と*pou2*(B)の発現は一致する。(C,D)*pou2*は、原腸形成終了期では尾芽で広く(C)、体節期になると脊髄後端で発現する(D)。



mb, 中脳; r2/r4, 後脳第2/4菱脳節; pmm, 一次運動ニューロン; psn, 一次感覚ニューロン; tb, 尾芽; 黒矢じり, 中脳後脳境界; csc, 脊髄後端。neurog1領域がPrC領域、その間の領域がIPDに対応する。

pou2 が原腸胚後期神経板でドット状に発現することを見出していた (未発表、図2)。このドット状の発現パターンは proneural cluster に酷似しており、*pou2* もニューロン分化を時空間的に制御することが示唆されていた。

2. 研究の目的

上述したように、初期の脳原基 (神経板) 内では、前後極性の確立と領域化と並行して神経前駆領域が出現し、ニューロン分化制御が行われる。本研究では、ゼブラフィッシュをモデルとし、*gbx2* や *pou2* などの脳領域化遺伝子、Proneural 遺伝子、Notch シグナル関連遺伝子 (*notch*, *delta* など)、bHLH-0 遺伝子、そして初期神経発生遺伝子の *soxB1* (*sox2*, *sox3*) に注目し、脳原基における領域化とニューロン分化を統一的に説明する機構を明らかにすることをめざした。

具体的には、(1) 神経板における各種脳・神経発生制御遺伝子の発現の時期と領域・細胞の詳細、(2) *pou2* および *gbx2* の神経発生、ニューロン分化における役割、(3) *pou2* 下流

遺伝子の全体像、(4) *her3* および *soxB1* による神経発生制御、(5) 神経管後端での神経発生における *pou2* の役割、(6) *pou2* の脳形成遺伝子による転写制御機構、について明らかとすることをめざした。また、(7) ゲノム編集技術の導入により、脳発生制御遺伝子の遺伝学的な機能解析を試みた。以上の研究の最終目的は、脳原基形成において進行する領域化と神経形成の総合的理解である。

3. 研究の方法

(1) 神経板における脳領域化遺伝子の機能の検討：

ゼブラフィッシュ胚神経板での脳領域化遺伝子の役割について、heat shock promoter (hsp promoter) を利用した発現誘導が脳形成に及ぼす効果を見ることにより検討した。*gbx2* については、以前に hsp promoter に連結した上でゼブラフィッシュの生殖系列に導入しており (*Tg(hsp701:gbx2)* 系統) (Nakayama et al., 2013)、これを用いた。これとは別に、Gbx2 と人工 estrogen 受容体の融合タンパク質をコードするキメラ遺伝子 (*gbx2-ERT2*) を mRNA 注入で胚に発現させ、tamoxifen (4-OHT) で注入胚を処理することにより Gbx2 を活性化した。Gbx2 の作用におけるタンパク質合成の必要性を検討するためには、4-OHT 処理に 30 分先だて胚飼育液にタンパク質合成阻害剤 cycloheximide を添加して発生させた。

また、Engrailed Repressor Domain (EnR) と Pou2 の融合タンパク質をコードする遺伝子 (*en-pou2*) を hsp promoter 制御下において *Tg* 魚 (*Tg(hsp701:en-pou2)* 系統) が以前に作製されており (Khan et al., 2012)、本研究では、この *Tg* 系統胚を加温処理することで内在 Pou2 の機能を dominant-negative に抑制した。

Tg 魚での導入遺伝子の誘導については、野生型魚との交配で得られた胚を加温処理 (37 °C、1 時間) して行った。処理の直後、あるいは一定期間培養後の適切な時期において、誘導効果を検討した。こうした処理が脳発生に及ぼす効果については、脳形成遺伝子の発現を、whole-mount *in situ* hybridization (WISH)、定量的 PCR (qPCR) などで検討した。

(2) *pou2* の下流標的遺伝子の網羅的同定：

Tg(hsp701:en-pou2) 系統魚の胚と野生型胚を原腸形成後期 (90% epiboly)、あるいは初期体節期 (3 体節期) で加温処理した上、各胚から個別にゲノム DNA と RNA を精製し、ゲノム DNA での PCR により各胚ごとに導入遺伝子の有無を決定した上、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を行い (GeneChip, Affymetrix)、多数の遺伝子について発現変動を網羅的に検討した。

(3) 脳形成遺伝子の転写調節機構の解析：

転写制御を検討する遺伝子の上流 DNA をヒト胎児腎臓細胞の HEK293T、あるいは神経分化能を持つマウス胚性がん細胞 P19(C6) に導入し、培養後、発現した luciferase 活性をルミノメーターで測定した。必要に応じ、各種脳形成遺伝子を CMV enhancer につないだ上で effector 遺伝子として共導入した。

(4) ゲノム編集技術による脳形成遺伝子の機能解析：

脳領域化遺伝子の発現制御、そして機能解析のため、CRISPR/Cas9 法の導入を試みた。まず、MHB 領域の形成に関わる遺伝子 (*pou2*, *grhl2b*, *sox3*) を標的とした gRNA を合成し、Cas9 mRNA と胚に共導入した。*gbx2* の峡部特異的発現の制御については、以前に同定していた上流 MHB エンハンサー (AMH1) の欠失を行うため、その上流と下流の部位を標的とした 2 種の gRNA を合成し、これらを Cas9 mRNA と胚に共導入した。これらによる標的配列切断活性は heteroduplex mobility assay (HMA) により検討した。

4. 研究成果

(1) 神経板における脳形成関連遺伝子の発現の検討：

ゼブラフィッシュ初期体節期胚の神経板における *pou2* の発現を、各種神経分化制御遺伝子の発現と 2 色 WISH などにより比較した結果、*pou2* の発現には、proneural 遺伝子 (*neurog1*, *ebf2*) 及びその他の神経分化制御遺伝子 (*her4.1*, *deltaA* など) の発現と、密接な対応が見られた。まず、*pou2* の発現領域は、各 proneural cluster とその近接周辺部で観察された。一方、IPD における *her3/her5* の発現を他の脳形成遺伝子と比較検討した結果、これらの *her* 遺伝子の発現は、*soxB1* (*sox2*, *sox3*) の発現とは重なるが、*pou2* の発現とは入れ子であった。

一方、*gbx2* の後脳前端 (第 1 菱脳節/r1) での発現を検討した結果、神経前駆細胞の維持を行う *sox2* や *sox3* proneural 遺伝子の *neurog1*、そして *pou2* の発現と基本的には入れ子の関係であるが、発現が非常に近接する結果、境界が明瞭であり、さらに r1-r2 境界領域で一部重複することを示した。以上より、*gbx2* は神経発生遺伝子と密接な相互作用があると予想される。

(2) *pou2* と *gbx2* の神経発生における役割：

Tg(hsp701:en-pou2) 胚の加温処理により、内在 *pou2* の機能を阻害し、これが神経発生に及ぼす効果を検討した。その結果、proneural 遺伝子、*soxB1*、Delta/Notch シグナル関連遺伝子、脳領域化遺伝子の発現が顕著に変動した。これらの遺伝子発現の変動は、qPCR 解析においても確認された。*en-pou2* の作用が dominant-negative であることを考慮すると、

*pou2*は、proneural clusterでの初期 proneural 遺伝子 (*neurog1*, *ebf2*) の発現を活性化する一方、後期に働く proneural 遺伝子 *atoh1a*, *ascl1b* の発現は抑制すると推定された。*bHLH-0* 遺伝子については、*pou2* は proneural cluster で発現する *her4.1* を抑制する一方、神経前駆細胞プールにおける *her3* と *her5* の発現、そして神経前駆細胞誘導遺伝子である *soxB1* の発現は活性化することが示唆された。従って、*pou2* は、神経前駆細胞プールにおいて、神経前駆状態を *soxB1* の誘導により維持するが、神経分化自体は *her3/5* の誘導により抑制し、proneural cluster では *her4.1* の抑制を介して神経分化を促進すると考えられる。

一方、MHB 決定の中心的遺伝子である *gbx2* が脳原基での神経分化にどのように関わるかを知るため、*Tg(hsp701:gbx2)* 魚胚において、加温処理により *gbx2* の強制発現を行い、各種神経分化制御遺伝子の発現を検討した。初期体節期に *gbx2* を誘導したところ、WISH では proneural 遺伝子 (*ascl1a/b*) の発現上昇、神経分化抑制遺伝子 *her5* の発現低下が見られ、qPCR 解析では、*ebf2* や *deltaA* の発現上昇、*her5*, *notch1a* の発現低下が確認された。

さらに、*gbx2-ERT2* を mRNA 注入で胚に発現させ、原腸形成終了期に 4-OHT 処理で活性化したところ、*her5*, *otx2*, *pax2a*, *six3b* の発現がタンパク質合成に依存せずに低下した。この結果は、*gbx2* が転写レベルでこれらの遺伝子の発現を直接抑制することを示す。しかし、*Tg(hsp701:gbx2)* 胚の細胞を野生型胚に移植し、加温誘導で *gbx2* を移植細胞において誘導したところ、移植細胞とその周辺細胞の両方で *otx2* の発現低下が観察されており、*gbx2* は発現細胞のみならず、分泌因子などを介して周辺細胞にも作用すると推定された。

以上の結果は、これまで中脳から後脳にかけて脳の領域化を行うとされてきた *pou2* と *gbx2* のいずれもが神経分化を制御することを示唆する。上述した結果に加え、今回の研究で *pou2* と *gbx2* が相互に発現抑制することも見出ししており、両遺伝子の神経板での発現はほぼ入れ子であることから、これらの遺伝子は神経分化制御の異なる局面に関与すると考えられる。

(3) *pou2* 下流遺伝子の網羅的解析：

pou2 の脳発生における機能を総合的に検討するため、*Tg(hsp701:en-pou2)* 胚を加温処理して *pou2* 機能を阻害し、この際に発現が変動する遺伝子について、マイクロアレイ法による網羅的同定を行った。

まず、原腸形成終了期と体節形成初期の各々について、*en-pou2* を誘導した胚で発現が変動する遺伝子を検討したところ、2 つの誘導時期で、発現上昇遺伝子は各々145 個と173 個、低下遺伝子は276 個と203 個だった。このことは、胚発生において、*pou2* は

多数の遺伝子の発現制御に関わることを示唆する。得られたマイクロアレイデータの妥当性については、発現変動が顕著とされた遺伝子について、WISH と qPCR により確認した。

GO 解析の結果、*pou2* 下流遺伝子には転写制御、形態形成、クロマチンに関連する遺伝子が顕著に見られたほか、一般に神経分化を抑制する bHLH-0 遺伝子 (*her*) が多数含まれていた。この中で、発現が Notch 依存的な *her* (*her4.1* など) は *en-pou2* により活性化、Notch 非依存的な *her* (*her3*, *her5* など) は抑制される傾向があり、この結果は qPCR で確認された。従って、内在 *pou2* は、Notch 依存的、非依存的 *her* を各々抑制、活性化すると推定され、Notch 依存性には依らず、神経分化制御に関わるといえる。この網羅的解析で推定された *pou2* の *her* 発現制御は、(2) で述べた実験結果とも対応する。

(4) *her3* 遺伝子の *soxB1* による発現制御：

Notch 非依存的 *her* の中で、*pou2* により活性化されることが示唆された *her3* の上流 4.0 kb 領域には、魚類の種間で保存された非翻訳配列が2カ所存在する。これらの保存領域では Pou2 結合配列 (Octamer 配列) に加え、神経前駆細胞の維持にかかわる Sox 転写因子、多能性維持転写因子 Nanog の結合配列が予想された。そこで、*her3* 上流 DNA による転写調節能を、細胞培養系を用いた luciferase assay で検討したところ、*soxB1* によって強く活性化された。さらに、この *soxB1* 依存的な転写活性化は、*pou2* により逆に抑制された。加えて、*her3* 上流領域の2つの保存領域のいずれもが *pou2* による *her3* の転写抑制に関わることが示唆された。同様の reporter assay により、*soxB1* の一つである *sox3* が *her5* の転写も活性化すること、*sox3* による *her5* の活性化もやはり *pou2* により阻害されることを見出した。

上述したように、神経前駆細胞プールにおける *her3/her5* の発現は *pou2* の proneural cluster での発現と入れ子の関係にあり、神経前駆細胞プールでは *soxB1* が *her3/5* の活性化により神経分化を抑制するが、proneural cluster では *pou2* が *her3/5* の活性化を抑制することで神経分化を可能としていると推定された。

さらに、胚における *sox3* の強制発現と機能阻害により、この遺伝子が MHB 周辺および後脳領域での *her3*, *her4*, *her5*, *her9* の発現、そして *neurog1*, *sox2*, *pou2* の発現を制御する可能性が示唆された。

なお、上述したように *en-pou2* の効果は *pou2* が胚において *her3* を活性化することを示しており、*pou2* の機能は状況により異なると考えられる。いずれにしろ、*pou2* は、神経板において *soxB1* と協調的に働き、*her* の発現制御などを通して神経分化を制御すると考えられる。

(5) 神経管後端における神経発生の制御：

pou2 は、原腸形成終了期には尾芽、その後は神経管の後端で発現が見られる(図2C, D)。この部位では多能性幹細胞、あるいは神経幹細胞が存在することから、これら幹細胞からの神経分化制御に *pou2* が関与すると予想された。そこで、上述のように *en-pou2* を加温誘導して Pou2 の機能阻害を行い、誘導胚の尾芽における神経形成遺伝子の発現を検討した結果、*myca*、*klf4*、*nanog*、*pou2* など、多能性維持遺伝子の発現が上昇した。神経前駆細胞誘導遺伝子の *sox2*、後期神経分化誘導遺伝子である *lhx5*、*ascl1a*、Notch シグナル関連遺伝子 (*notch1a*、*deltaA*) の発現も上昇した。一方、*sox3* および初期 proneural 遺伝子 (*neurog1*、*ebf2*) の発現は低下した。なお、同様の誘導胚で中胚葉細胞の初期分化マーカーである *tbx6*、*tbx16* の発現は促進された。こうした結果から、*pou2* は本来、*sox3* や初期 proneural 遺伝子の発現を活性化する一方で、多能性維持遺伝子、中胚葉形成遺伝子、後期 proneural 遺伝子、Notch 関連遺伝子の発現を抑制すると推定された。さらに、体節形成期胚の後端において、*pou2* の発現は *no tail* を発現する中胚葉領域からは排除され、神経管領域後端に限定されることを見いだした。これらの結果は、尾芽の多能性細胞が神経管に入って神経分化を行う際に *pou2* が関与することを示唆するものである。

(6) *pou2* の発現制御に関する培養細胞系での解析：

pou2 遺伝子は、初期発生過程でダイナミックな発現パターンをとり、様々な発生制御に関与する。我々は以前、胚を用いた GFP レポーター解析により、*pou2* の上流 2.4 kb 領域に領域特異的な転写調節領域があることを明らかにしていた。本研究では、培養細胞系における luciferase 解析により、*pou2* の転写制御機構の詳細を検討した。

まず、*pou2* 上流 2.4 kb の制御下にある luciferase 遺伝子(Luc-2.2)の発現に対し、*pou2* が活性化、*en-pou2* が抑制に働くことを示した。これらの *pou2* 関連遺伝子による Luc-2.2 制御能は 2.4 kb 内の 4 つのオクタマー配列(Pou2 結合配列)に依存した。以上より、*pou2* は自己活性化機構により制御されると結論した。また、*sox3* を *pou2* とともに細胞に導入して Luc-2.2 の発現への効果を検討したところ、相乗的な転写活性化が見られた。Pou2 と Sox3 が 2.4 kb 領域内の隣接部位に特異的に結合することは EMSA 法により確認した。SoxB1 との相乗作用はマウス *Oct4* で知られており、PouV 遺伝子の転写制御機構、そして PouV と SoxB1 の相乗作用が脊椎動物で広く保存されているといえる。この他、内部欠失を持つ Pou2 の Luc-2.2 発現への効果を比較することで、N 末領域が転写活性化を行うこと、などを明らかにした。

また、中脳、そして菱脳 r2/r4 における *pou2*

発現の調節を理解するため、様々な脳形成遺伝子について、*pou2/sox3* 相乗作用に依存した Luc-2.2 の発現への効果を検討したところ、胚後方で発現する *cdx1a*、r1 で発現する *gbx2*、r3 と r5 に発現する *egr2b* のいずれもが抑制作用を示した。従って、これらの遺伝子の抑制効果が *pou2* の脳領域特異的な発現に関与すると考えられる。また、*pou2/sox3* 依存的 Luc-2.2 発現に対する神経分化制御因子の効果を検討し、*her9* が活性化、*neurog1* が抑制に働くことを示した。

以上の結果は、*pou2* の複雑かつダイナミックな脳領域特異的転写の制御機構を明らかにし、さらに、*pou2* が神経分化にも関わることを支持するものである。

(7) ゲノム編集技術の導入による脳発生制御遺伝子の機能解析：

脳領域化と神経発生における *pou2* および *sox3* の役割を loss-of-function アプローチで検討するため、これらを標的とした遺伝子破壊を CRISPR/Cas9 法により試み、いずれについても HMA 法で欠失・挿入を確認した。これらと別に、以前の研究で峡部形成への関与が示唆されたが、その後は詳細の研究がない *sp5a* 及び *grhl2b* についても同様の手法で遺伝子破壊に成功した。現在変異体系の樹立を進めており、*sox3* については F2 世代で神経堤細胞の分化異常を観察している。

一方、*gbx2* の峡部特異的発現に関わるエンハンサーとして、本研究者は以前に少なくとも 3 種あることを見出している(AMH1、AMH2、AMH3)。これらの一見重複したエンハンサーの存在の意味を検討するため、各々の欠失導入をめざしており、すでに AMH1 の欠失を示唆する結果を得ている。現在、残りのエンハンサーの除去もめざしており、脳形成遺伝子の発現制御に関する多重エンハンサーの協同作用の可能性を検討する予定である。

(8) 結語：

本研究では、ゼブラフィッシュを用いることで、脳原基の領域化と神経発生を統一的に理解することをめざした。その結果、脳領域化遺伝子とされる *pou2* と *gbx2* の発現が神経前駆領域と密接な関係にあること、両遺伝子が多様な神経発生遺伝子の発現制御に関わること、*pou2* 及び *bHLH-0* の転写制御機構が多様な神経発生遺伝子間の相互作用により制御されること、などを明らかにした。これらの成果は当初の目的に迫るとともに、今後の研究の基盤となるものである。

(9) 謝辞：

最後に、本研究の遂行にご協力いただいた津田佐知子博士、中山由紀子博士、鹿毛大地君、小林加奈さん、池田真彬君、猪股千尋さん、佐藤武寿君、結川達也君、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 2 件)

T. Taminato, D. Yokota, S. Araki, H. Ovara, K. Yamasu, A. Kawamura. Enhancer activity-based identification of functional enhancers using zebrafish embryos. *Genomics*, 査読有, 108, 102-107 (2016)
doi: 10.1016/j.ygeno.2016.05.005.
A. Kawamura, H. Ovara, Y. Ooka, H. Kinoshita, M. Hoshikawa, K. Nakajo, D. Yokota, Y. Fujino, S. Higashijima, S. Takada, Kyo Yamasu. *Dev. Biol.* 査読有, 409, 543-554 (2016)
doi: 10.1016/j.ydbio.2015.11.010.

[学会発表](計 30 件)

結川 達也, 池田 真彬, 弥益 恭. ゼブラフィッシュ胚の尾芽における多能性細胞の分化制御機構. 第39回日本分子生物学会年会. 2016年12月1日. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).
佐藤武寿, 鹿毛大地, 弥益 恭. 峡部領域での局所オーガナイザー形成機構についてのゲノム編集技術を用いた検討. 第39回日本分子生物学会年会. 2016年11月30日. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).
前川 雅人, 三浦 祐平, 沖山 綾菜, 志村 恭介, 弥益 恭. ゼブラフィッシュ *emx3* の終脳エンハンサーによる転写調節機構の培養系での解析. 第39回日本分子生物学会年会. 2016年11月30日. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).
T. Yuikawa & K. Yamasu. Regulation of cell differentiation in the tail bud by the Oct4-type POU transcription factor Pou2 in zebrafish embryos. 22nd Japanese Medaka Zebrafish Meeting. 2016年8月20日. 岡崎カンファレンスセンター(愛知県岡崎市).
M. Ikeda, Y. Nakayama, C. Inomata, & K. Yamasu. Developmental and genetic study of the role of the class V POU transcription factor Pou2 during vertebrate embryogenesis. 22nd Japanese Medaka Zebrafish Meeting. 2016年8月20日. 岡崎カンファレンスセンター(愛知県岡崎市).
C. Inomata, Y. Nakayama, S. Tsuda, & K. Yamasu. Involvement of *gbx2* in neurogenesis in vertebrate embryos. 22nd Japanese Medaka Zebrafish Meeting. 2016年8月20日. 岡崎カンファレンスセンター(愛知県岡崎市).

H. Ohnuki, M. Takahashi, S. Tsuda, K. Kawakami, and K. Yamasu. Development of the cholinergic neuron system and its regulation in the embryonic zebrafish brain. 第38回日本分子生物学会年会. 2015年12月1日. 神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市).
Z. Wang, D. Kage, C. Moens, K. Yamasu. Studies on the roles of *gbx* genes in brain formation at early and late stages of zebrafish embryogenesis. 第37回日本分子生物学会年会. 2014年11月26日. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).
K. Kobayashi, K. Yamasu. Cooperative transcriptional regulation of zebrafish *pou2/pou5f3* that encodes a class V POU transcription factor. 第37回日本分子生物学会年会. 2014年11月25日. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).
A. Shinoto, H. Taira, Y. Ito, G. Abe, K. Asakawa, K. Kawakami, K. Yamasu. Analysis of the regulatory mechanism of brain regionalization in zebrafish embryos using the GAL4/UAS system. 20th Japanese Medaka Zebrafish Meeting. 2014年9月20日. 慶応大学薬学部(東京都港区).
高橋一樹, 伊藤佑貴, 吉村麻美, 二階堂昌孝, 川村哲規, 弥益恭. ゼブラフィッシュ胚における神経堤由来組織の発生に関する酸素代謝関連遺伝子の遺伝学的同定. 日本動物学会第85回大会. 2014年9月11日. 東北大学川内北キャンパス(宮城県仙台市).

[図書](計 1 件)

弥益 恭. 裳華房. ゼブラフィッシュの発生遺伝学(2015). 194ページ.

[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・准教授
研究者番号: 10466691