

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07426

研究課題名(和文) 脳部位ごとの形態の違いを生み出す細胞構築機構の4D解析

研究課題名(英文) 4D developmental mechanism for different morphology in each brain region

研究代表者

堀田 耕司 (Hotta, Kohji)

慶應義塾大学・理工学部(矢上)・准教授

研究者番号：80407147

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：脊椎動物のモデルとなるホヤの神経管形成メカニズム理解のために、神経管が生じていく過程の1細胞レベルイメージングを行い、神経板から神経管が生み出される新たなホヤ神経管形成モデルを提唱した。また、神経管形成過程において神経板期から一部の神経板系譜の細胞においてカルシウムイオン濃度が振動する細胞を発見し、わずか1対の運動神経細胞A10.64であることを突き止めた。この細胞はホヤの遊泳運動を担う重要な細胞であると考えられる。さらに、組織サイズ縮小に伴う各脳領域のスケーリング戦略について理解するために、矮小化尾芽胚の3Dモデリングを行った結果、運動神経節の細胞数、配置は変化しないことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経管閉鎖はこれまで考えられていたように単に神経外胚葉が落ち窪むことで達成されるのではなく、神経板期の各領域の細胞が複雑に異なる細胞のふるまいを経ることが示された。また、これまで運動神経回路は運動神経や介在神経などの複数の神経細胞で構成されており、運動の自発的パターンはこれら複数の細胞の相互作用によって生み出されると考えられてきたが本研究はこの概念を覆す可能性がある。このように本研究により、脊索動物の神経管形成過程や運動神経回路発生の理解は一層深まること、脊索動物運動神経回路の進化的起源に迫ることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：In order to understand the mechanism of the neural tube formation in the ascidian, we performed a single-cell level 3D imaging of the process of neural tube development, and proposed a new model of ascidian neural tube formation from tneural plate to neural tube formation. In addition, in the neural tube formation, we found a cell in which calcium ion concentration oscillates in some cells of the neural plate lineage from the neural plate stage, and found that it is only one pair of motor neurons A10.64. This cell is considered to be an important cell responsible for swimming behavior of ascidian. Furthermore, in order to understand the scaling strategy of each brain region accompanying the reduction of tissue size, 3D modeling of dwarf tailbud embryos revealed that the number and arrangement of motor neurons did not change.

研究分野：発生生物学

キーワード：管腔形成 神経管 カルシウムイメージング 運動神経回路 ホヤ スケーリング 時計遺伝子 scRNA-seq 神経管

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

**スケラリビティーをまたぐ解析の必要性:** 複雑な形をしているヒトの脳は、発生の初期は神経板から作られた単なる一本の管(前方神経管)に由来する。この管の前方は膨らんで前・中・後脳胞の3脳胞を形成し、管の後方はやがて伸長し後方神経管、後に脊髄となる。このように神経管は連続した管であるが、どのようにして領域ごとに異なる形を形成するであろうか? 脳胞形成過程の理解には、まず時間空間的な領域ごとの細胞の振舞いの違いを全体として明らかにする必要があります。しかし、脊椎動物胚を用いた解析では、構成細胞の数は多く、1つ1つの細胞の形態変化を追跡することは可能でも領域ごとの違いを全体的に俯瞰し、比較することは難しい。

**モデル生物としてのホヤ:** 一方、ホヤ神経外胚葉はジッパーを閉じるように進行し (Hashimoto et al., 2015, *DevCell*) 脊椎動物と同様に脳は区画化されており、前脳・中脳・後脳に相当する領域が存在する (Nicol & Meinertzhagen 1988 *DevBiol*) だけでなく、区画化に関わる遺伝子も脊椎動物と同様に保存されており、それらの区画決定の分子メカニズムについても明らかにされつつある (例えば、Imai et al., 2009, *Development*; Wagner et al., 2012 *Development* 等)。このように、遺伝学的・解剖学的にホヤの神経管は脊椎動物の神経管をシンプルにした様相を保持している (図1)。しかし、ホヤ脳胞の形態形成過程までの道筋の情報、つまりそれぞれ細胞が最初(神経板期は76個)から終わり(幼生期約300個)までにどのような過程を経るのか、そのふるまいの全貌や全細胞系譜の情報は不十分である。

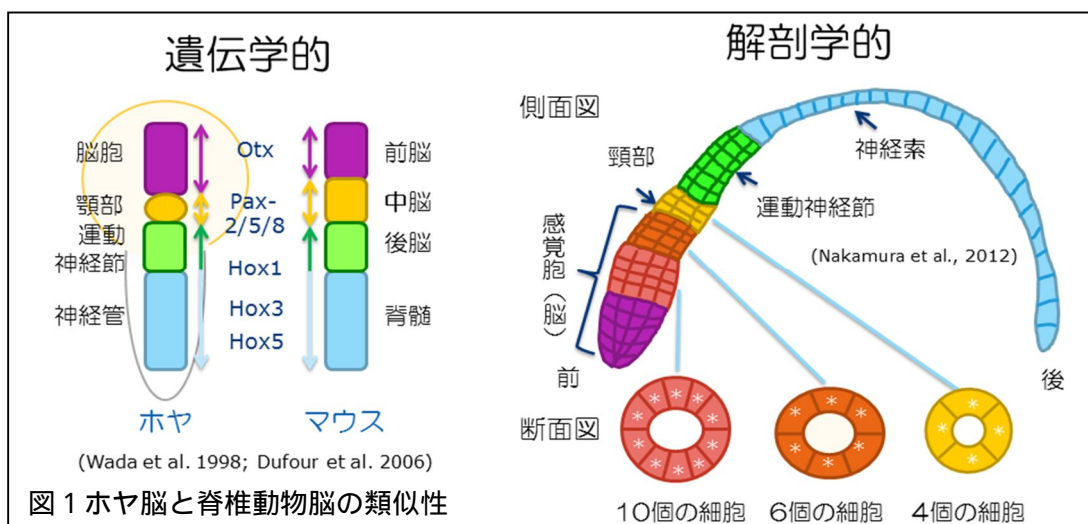


図1 ホヤ脳と脊椎動物脳の類似性

### 2. 研究の目的

脳は一本の管から生じる。発生後間もない胎児は神経管の前方が膨らみ、前脳胞、中脳胞、菱脳胞といった基本的な脳部位の原型を形成する。遺伝子発現による区画決定が明らかにされても、このような脳の“形作り”には解明すべき点が多い。本研究では細胞レベルの定量的な解析が個体まるごと用いて可能であるホヤに注目し、そもそも連続性を保った一本の管が、**脳部位ごとに形の違いを生み出すしくみを解明することを研究の目的**とした。

### 3. 研究の方法

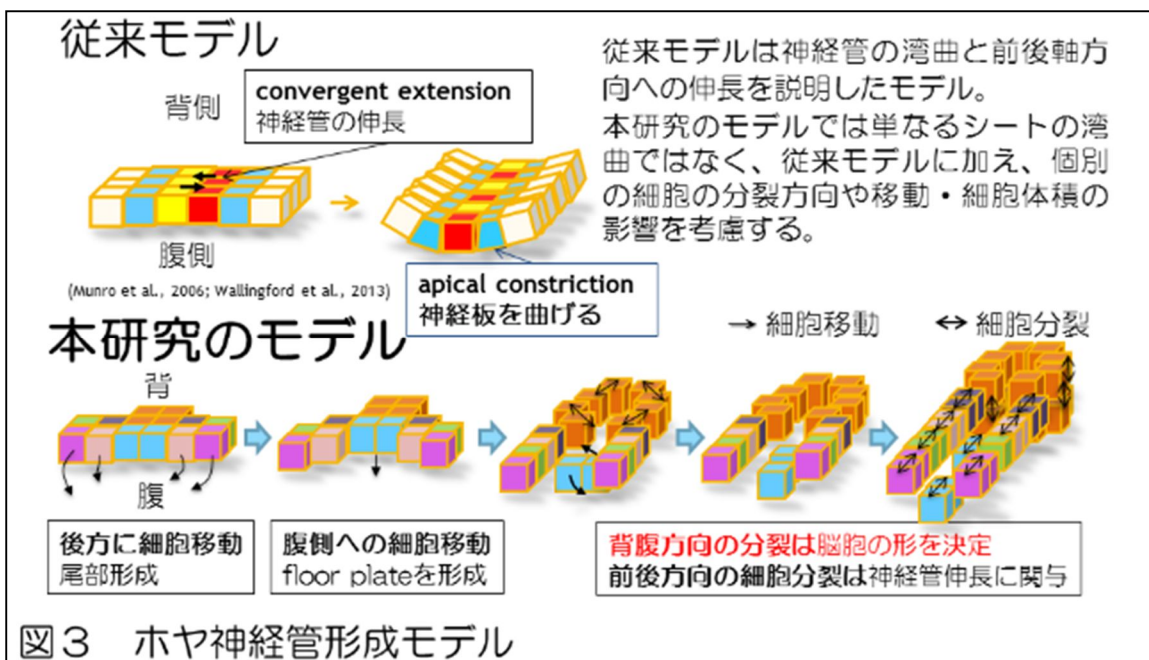
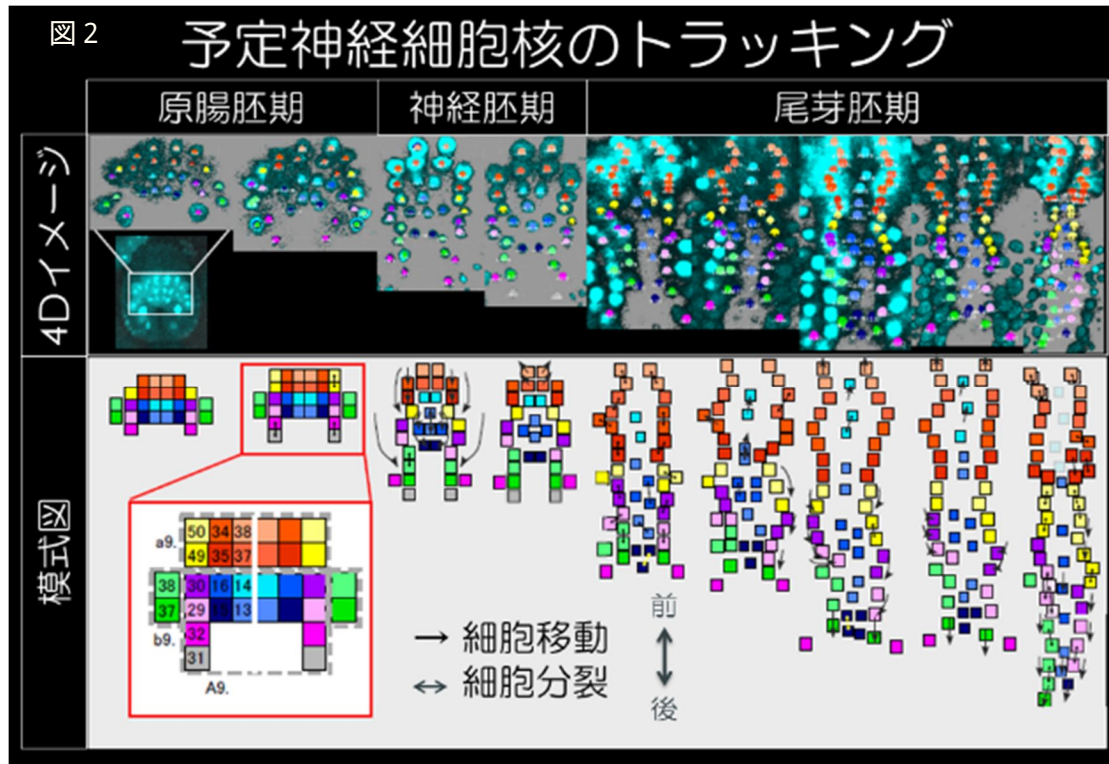
(1) 神経管形成過程の膜・核同時 4D 可視化の試み: いつ・どの程度細胞の形態情報に違いが生じるのかをつきとめるため、神経管を形成する前の神経板期 76 細胞の細胞の核と膜をラベルした 3D イメージングを行った。神経管を形成する前の神経板期 76 細胞の細胞をラベルし追跡するために、神経管特異的に発現を促す FoxB または DMRT 遺伝子プロモーター下に UV 照射によって色を変えることのできる Kaede 蛍光タンパク質を組み込んだ遺伝子発現コンストラクトを作製し、胚へ導入した。

(2) 当初予期していないこととして、神経管形成過程において神経板期から一部の神経板系譜の細胞において一過的なカルシウムイオン濃度上昇が観察された (Akahoshi et al., 2017)。これらの一過的なカルシウムイオン濃度上昇は神経管形成における形態形成過程に参与している可能性があるため、後述の理由もあり、(1)の研究よりも優先的に実験をすすめることとした。

(3) ホヤの未受精卵の一部を人工的に切除し、受精させると矮小化 (Dwarf) 幼生が得られることが知られている (Yamada et al., 1999)。卵サイズの擾乱に対し、個体の形態は維持されるが、組織レベルでは異なる戦略があることが示唆された。そこで、Dwarf 胚における神経管を含む各組織を構成する細胞の数および体積の違いを定量的に調べた。

### 4. 研究成果

(1) 核をラベルした予定神経細胞の神経板期から中期尾芽胚期までの3次元イメージングに成功(図2)し、それぞれの核の振舞いから脳形態形成の仮説モデルを提案した(図3)。



しかしながら、深度の深い部分の細胞系譜決定に関しては共焦点レーザー顕微鏡ではうまく可視化できず、複数個体のデータを得るために時間を要した。この実験を続けている間に米国の研究室から神経管閉鎖過程における3Dライブイメージング結果が報告されてしまった(Navarrete and Levine 2016 *Development*)。このように本研究期間が始まった矢先に先を越された格好になってしまったため、本研究ではよりオリジナリティの高い優れた研究を目指すこととした。

(2) 当初思いがけないことに、神経管形成過程において神経板期から一部の神経板系譜の細胞においてカルシウムイオン濃度が振動する細胞が観察された(Akahoshi et al., 2017 *Dev. Biol.*)。神経管形成における形態形成過程に関与している可能性があるためこのカルシウムイオン振動する細胞の数、位置、系譜を明らかにすることを試みた。核局在 GCaMP を用いることによりわずか1対の背側運動神経節細胞であることがわかった。細胞系譜をあきらかにするため、Kaede 蛍光タンパク質を神経管細胞系譜で発現するホヤ幼生を作成したが異常発生率が高く現在のところライブイメージングで細胞系譜をあきらかにすることはできていないものの、このカルシウム

ム振動細胞の細胞体の大きさが周辺の細胞より大きいこと、神経管の側方に少しずれて位置するといった解剖学的特徴 (Nakamura et al., 2012) より、A10.64 系譜である可能性を見出した (図 4) *neurogenin* プロモータ (甲南大日下部先生より供与) を用いて再度 Kaede を用いたライブイメージングを試みた結果、わずか 1 対の背側運動神経節細胞 A10.64 細胞であることを同定できた (ホヤ国際学会 2019、分子生物学会 2019) (投稿準備中)。

次に、このホヤ運動神経節における  $Ca^{2+}$  振動細胞が振動を引き起こす分子メカニズムの理解のために、1 細胞由来の転写物を網羅的に同定可能な、1 細胞 RNA-Seq (scRNA-Seq) を試みた。その結果、数十秒周期で  $Ca^{2+}$  振動しつづける細胞を発見し、単離することに成功した。このことは、ホヤ  $Ca^{2+}$  振動細胞は細胞間の相互作用なしに細胞自律的に  $Ca^{2+}$  振動可能であることを意味する。また興味深いことに本細胞は単離後のタイミングによって振動の周期が異なっており、より後期では 20 ~ 30 秒周期へと短くなった。単離された  $Ca^{2+}$  振動細胞から cDNA ライブラリを作製後、約 200 万リード分の転写配列の解

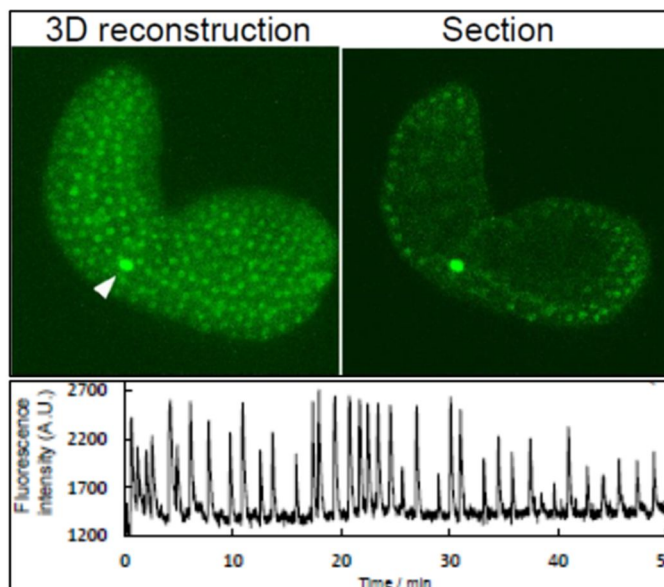
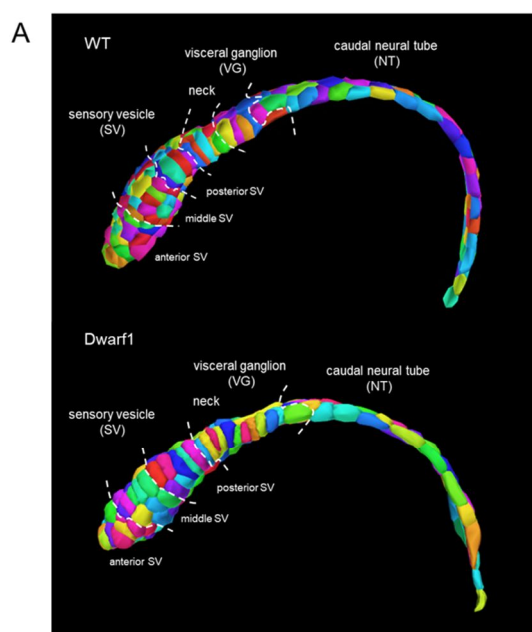


図 4 数十秒周期で  $Ca^{2+}$  振動するホヤ運動神経節 A10.64 細胞

読に成功した。得られた配列データを、カタユレイボヤ遺伝子モデル (KH2012 モデル) と照合し複数のチャネル遺伝子等 A10.64 細胞特異的に発現変化する遺伝子のリストを得た (2019 日本動物学会、投稿準備中)。今後得られた遺伝子の機能を詳細に解析することにより、ホヤ運動神経節における自律振動する運動神経細胞のメカニズムに迫りたい。

(3) 組織サイズ縮小に伴う各脳領域のスケール戦略について理解するために、矮小化尾芽胚の 3D モデリングを行った。カタユレイボヤの Dwarf 尾芽胚の個体全体に対する組織ごとの体積比率は野生型 (WT) 尾芽胚と Dwarf 尾芽胚間で一定である一方、組織ごとの細胞数は WT と比較し、減少する組織と一定である組織があることが明らかとなった。

神経管に関してそれぞれの脳領域ごとの細胞数・体積に注目し計測した結果、興味深いことに感覚胞や神経管の細胞数は減少する一方、運動神経節の細胞数、細胞配置は個体サイズ縮小に伴っても変化しないことがわかった (図 5; Matsumura et al., 2020 *Dev. Biol.*)。このことは個体サイズ変化に伴うスケール戦略が脳領域ごとに異なることを示している。神経管を構成する細胞のうち運動神経回路を担う細胞のみ構成細胞数が減少しないことは運動神経回路のロバスト性を示していると考えられる。



B

|        | anterior SV | middle SV | posterior SV | neck | VG | caudal NT |
|--------|-------------|-----------|--------------|------|----|-----------|
| WT     | 60          | 39        | 23           | 14   | 19 | 73        |
| Dwarf1 | 30          | 28        | 19           | 37   |    | 50        |

図 5 WT と Dwarf の神経管構造比較

A 3D モデリングした WT および Dwarf 尾芽胚の神経管  
B 各神経管領域ごとの構成細胞数

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

|  |                                 |
|--|---------------------------------|
| 1. 著者名<br>Matsumura Kaoru D., Nakamura Mitsuru J., Koizumi Wataru C., Hotta Kohji, Oka Kotaro  | 4. 巻<br>460                     |
| 2. 論文標題<br>Different strategies for tissue scaling in dwarf tailbud embryos revealed by single-cell analysis   | 5. 発行年<br>2020年                 |
| 3. 雑誌名<br>Developmental Biology  | 6. 最初と最後の頁<br>215 ~ 223         |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.ydbio.2020.01.008  | 査読の有無<br>無                      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                       |
| 1. 著者名<br>Hirai Shinobu, Hotta Kohji, Okado Haruo  | 4. 巻<br>40                      |
| 2. 論文標題<br>Developmental Roles and Evolutionary Significance of AMPA-Type Glutamate Receptors  | 5. 発行年<br>2018年                 |
| 3. 雑誌名<br>BioEssays  | 6. 最初と最後の頁<br>1800028 ~ 1800028 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1002/bies.201800028   | 査読の有無<br>有                      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                       |
| 1. 著者名<br>Mizotani Yuji, Suzuki Mayu, Hotta Kohji, Watanabe Hidenori, Shiba Kogiku, Inaba Kazuo, Tashiro Etsu, Oka Kotaro, Imoto Masaya                              | 4. 巻<br>115                     |
| 2. 論文標題<br>14-3-3 a directs the pulsatile transport of basal factors toward the apical domain for lumen growth in tubulogenesis                                      | 5. 発行年<br>2018年                 |
| 3. 雑誌名<br>Proceedings of the National Academy of Sciences  | 6. 最初と最後の頁<br>E8873 ~ E8881     |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1073/pnas.1808756115  | 査読の有無<br>有                      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                       |
| 1. 著者名<br>Yamanaka Ryu, Shindo Yutaka, Hotta Kohji, Suzuki Koji, Oka Kotaro  | 4. 巻<br>28                      |
| 2. 論文標題<br>GABA-Induced Intracellular Mg <sup>2+</sup> Mobilization Integrates and Coordinates Cellular Information Processing for the Maturation of Neural Networks | 5. 発行年<br>2018年                 |
| 3. 雑誌名<br>Current Biology  | 6. 最初と最後の頁<br>3984 ~ 3991.e5    |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.cub.2018.10.044  | 査読の有無<br>有                      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                       |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Hirai Shinobu, Hotta Kohji, Kubo Yoshihiro, Nishino Atsuo, Okabe Shigeo, Okamura Yasushi, Okado Haruo      | 4. 巻<br>114               |
| 2. 論文標題<br>AMPA glutamate receptors are required for sensory-organ formation and morphogenesis in the basal chordate | 5. 発行年<br>2017年           |
| 3. 雑誌名<br>Proceedings of the National Academy of Sciences  | 6. 最初と最後の頁<br>3939 ~ 3944 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1073/pnas.1612943114  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                 |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Akahoshi Taichi, Hotta Kohji, Oka Kotaro   | 4. 巻<br>431             |
| 2. 論文標題<br>Characterization of calcium transients during early embryogenesis in ascidians <i>Ciona robusta</i> ( <i>Ciona intestinalis</i> type A) and <i>Ciona savignyi</i> | 5. 発行年<br>2017年         |
| 3. 雑誌名<br>Developmental Biology  | 6. 最初と最後の頁<br>205 ~ 214 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.ydbio.2017.09.019  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Shinobu Hirai, Kohji Hotta, Yoshihiro Kubo, Atsuo Nishino, Shigeo Okabe, Yasushi Okamura, and Haruo Okado   | 4. 巻<br>114             |
| 2. 論文標題<br>AMPA glutamate receptors are required for sensory-organ formation and morphogenesis in the basal chordate. | 5. 発行年<br>2017年         |
| 3. 雑誌名<br>PNAS  | 6. 最初と最後の頁<br>3939-3944 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1073/pnas.1612943114   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

〔学会発表〕 計37件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 21件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Akahoshi T, Hotta K, Oka K  |
| 2. 発表標題<br>Relationship between swimming behavior and Ca <sup>2+</sup> oscillation in the visceral ganglion of developing ascidian embryo. |
| 3. 学会等名<br>GfE school Imaging and Modeling Development (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Yuki Fujii, Taichi, Imai, Wataru Koizumi, Kohji Hotta, Kotaro Oka, Takaharu Okajima                         |
| 2. 発表標題<br>SPATIOTEMPORAL CHANGE IN CELL STIFFNESS DURING EARLY EMBRYOGENESIS INVESTIGATED BY ATOMIC FORCE MICROSCOPY. |
| 3. 学会等名<br>62nd Annual Meeting Biophysical Society (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>藤井 裕紀, 今井 太一, 小泉 航, 堀田 耕司, 岡 浩太郎, 岡嶋 孝治  |
| 2. 発表標題<br>原子間力顕微鏡による発生胚の弾性率のタイムラプス測定Time-lapse measurements of embryonic cell stiffness by atomic force microscopy |
| 3. 学会等名<br>第79回応用物理学会秋季学術講演会  |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>松村薫, 堀田耕司, 岡浩太郎                |
| 2. 発表標題<br>カタコウレイボヤの卵体積の変化による尾芽胚形態形成への影響. |
| 3. 学会等名<br>Evo-Devo青年の会                   |
| 4. 発表年<br>2018年                           |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松村薫, 堀田耕司, 岡浩太郎               |
| 2. 発表標題<br>カタコウレイボヤの卵体積変化による尾芽胚形態形成への影響. |
| 3. 学会等名<br>日本進化学会 第20回大会                 |
| 4. 発表年<br>2018年                          |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>赤星太一, 堀田耕司, 岡浩太郎                         |
| 2. 発表標題<br>ホヤ運動神経節におけるCa <sup>2+</sup> + 振動と筋運動との関係 |
| 3. 学会等名<br>第89回日本動物学会                               |
| 4. 発表年<br>2018年                                     |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松村薫, 堀田耕司, 岡浩太郎                 |
| 2. 発表標題<br>カタコウレイボヤの卵サイズの変化による尾芽胚形態形成への影響. |
| 3. 学会等名<br>第89回日本動物学会                      |
| 4. 発表年<br>2018年                            |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>赤星太一, 堀田耕司, 岡浩太郎                        |
| 2. 発表標題<br>ホヤ運動神経節におけるCa <sup>2+</sup> 振動と遊泳運動との関係 |
| 3. 学会等名<br>ホヤ研究会2018                               |
| 4. 発表年<br>2018年                                    |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松村薫, 堀田耕司, 岡浩太郎               |
| 2. 発表標題<br>カタコウレイボヤの卵体積の変化による尾芽胚形態形成への影響 |
| 3. 学会等名<br>ホヤ研究会2018                     |
| 4. 発表年<br>2018年                          |



|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Lucia Manni, Delphine Dauga and Kohji Hotta  |
| 2. 発表標題<br>The complete annotation of Ciona development and anatomy: the larval and metamorphosis stages. |
| 3. 学会等名<br>The Italian Embryology Group Meeting (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Ayelet Voskoboynik, Mark Kowarsky, Benyamin Rosental, Aaron M. Newman, Kohji Hotta, Katherine J. Ishizuka, Karla J. Palmeri, Norma F. Neff, Stephen R. Quake & Irving L. Weissman |
| 2. 発表標題<br>BHF MEDIATES INDUCTION AND LOSS OF TOLERANCE IN <i>Botryllus schlosseri</i> CHIMERAS.   |
| 3. 学会等名<br>North America Comparative Immunology Workshop (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kohji Hotta   |
| 2. 発表標題<br>The ontology of larval and metamorphosis stages in Ciona. I. Development. |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)                             |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Benoit G. Godard, Kohji Hotta, Nicolas Minc and Carl-Philipp Heisenberg |
| 2. 発表標題<br>Cleavage plane positioning in early ascidian embryos.                   |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)                           |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Taichi Akahoshi, Kohji Hotta and Kotaro Oka  |
| 2. 発表標題<br>Comprehensive characterization of Ca <sup>2+</sup> transients in early Ascidian development. |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Lucia Manni, Delphine Dauga and Kohji Hotta                                    |
| 2. 発表標題<br>The ontology of larval and metamorphosis stages in <i>Ciona</i> . II. Anatomy. |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)                                  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Chiara Anselmi, Kohji Hotta, Mark Kowarsky, Lucia Manni, Katherine J. Ishizuka, Karla J. Palmeri, Stephen R. Quake, Irving L. Weissman and Ayelet Voskoboinik |
| 2. 発表標題<br>The <i>Botryllus schlosseri</i> embryogenesis timeline reveals heterochrony between solitary and colonial ascidian embryogenesis.                             |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Raphael Gelin-Alessi, Hiromochi Muraoka, Kohji Hotta and Kotaro Oka  |
| 2. 発表標題<br>TailbudProfiler: developing an automatic image analysis software for quantifying Ascidian tailbud morphogenesis. |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Taichi Imai, Wataru Koizumi, Yuki Fujii, Kohji Hotta, Takaharu Okajima and Kotaro Oka  |
| 2. 発表標題<br>Spatio-Temporal Relationship between Dynamics of Actin Cytoskeleton and Cell Stiffness in Early Ascidian Embryo Development. |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Mark Kowarsky, Kohji Hotta, Lucia Manni, Chiara Anselmi, Norma F. Neff, Katherine J. Ishizuka, Karla J. Palmeri, Jennifer Okamoto, Stephen R. Quake, Irving L. Weissman and Ayelet Voskoboynik |
| 2. 発表標題<br>The molecular signatures of development in Botryllus schlosseri.   |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Yuji Mizotani, Mayu Suzuki, Hidenori Watanabe, Kogiku Shiba, Kazuo Inaba, Kohji Hotta, Kotaro Oka, Etsu Tashiro and Masaya Imoto |
| 2. 発表標題<br>Chemical genetics reveal the role of 14-3-3 ea in Ciona notochord tubulogenesis.   |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Hiromochi Muraoka, Wataru Koizumi, Benoit Godard, Kohji Hotta, Carl Philipp-Heisenberg and Kotaro Oka   |
| 2. 発表標題<br>Morphometry of Tailbud Embryo for Revealed Distinct Role on Tail Curving by Myosin-Dependent Mechanical Tension at Ventral Midline Epidermis. |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Shinobu Hirai, Kohji Hotta, Yoshihiro Kubo, Atsuo Nishino, Shigeo Okabe, Yasushi Okamura and Haruo Okado    |
| 2. 発表標題<br>AMPA glutamate receptors are essential for sensory-organ formation and morphogenesis in the basal chordate. |
| 3. 学会等名<br>The 9th International Tunicate Meeting (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>赤星太一、堀田耕司、岡浩太郎   |
| 2. 発表標題<br>ホヤ胚形成過程におけるCa <sup>2+</sup> 濃度上昇の網羅的特徴づけ<br>Comprehensive characterization of Ca <sup>2+</sup> transients in early Ascidian development. |
| 3. 学会等名<br>日本動物学会第88回大会   |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>堀田耕司、Delphine Dauga、Lucia Manni  |
| 2. 発表標題<br>単体ボヤ <i>Ciona robusta</i> ( <i>Ciona intestinalis</i> typeA) における解剖学および発生に関する包括的オントロジー |
| 3. 学会等名<br>2017年度生命科学系学会合同年次大会  |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>赤星太一、堀田耕司、岡浩太郎                            |
| 2. 発表標題<br>ホヤ胚形成過程におけるCa <sup>2+</sup> 濃度上昇の網羅的特徴づけ. |
| 3. 学会等名<br>2017年度生命科学系学会合同年次大会                       |
| 4. 発表年<br>2017年                                      |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Taichi Akahoshi, Kohji Hotta, Kotaro Oka  |
| 2. 発表標題<br>In vivo-Imaging Analysis of Calcium Transients in Early Development of Ascidian Embryo.                             |
| 3. 学会等名<br>The 22nd International Congress of Zoology, The 87th Meeting of The Zoological Society of Japan Joint Events (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2016年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Muraoka Hiromochi, Koizumi Wataru, Oka Kotaro, Hotta Kohji  |
| 2. 発表標題<br>Morphometry of tailbud embryo for understanding mechanism of conserved chordate phylotypic embryo shape.            |
| 3. 学会等名<br>The 22nd International Congress of Zoology, The 87th Meeting of The Zoological Society of Japan Joint Events (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2016年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Imai T, Koizumi W, Fujii Y, Okajima T, Oka K, Hotta K   |
| 2. 発表標題<br>Relationship between dynamics of cytoskeleton and cell stiffness in early ascidian embryo development.              |
| 3. 学会等名<br>The 22nd International Congress of Zoology, The 87th Meeting of The Zoological Society of Japan Joint Events (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2016年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Maiki Wakai, Kohji Hotta, and Kotaro Oka   |
| 2. 発表標題<br>Ca <sup>2+</sup> signaling contributes the beginning of metamorphosis via mechanical stimuli in palps. |
| 3. 学会等名<br>10th International Tunicate Meeting (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Taichi Akahoshi, Kohji Hotta, and Kotaro Oka  |
| 2. 発表標題<br>Relationship between Tail Beating and Ca <sup>2+</sup> Oscillation in the Motor Ganglion of Developing Ascidian Embryo. |
| 3. 学会等名<br>10th International Tunicate Meeting (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Kaoru Matsumura, Mitsuru J. Nakamura, Wataru Koizumi, Kohji Hotta and Kotaro Oka |
| 2. 発表標題<br>Comparative Anatomy of Ascidian Miniature Tailbud.                               |
| 3. 学会等名<br>10th International Tunicate Meeting (国際学会)                                       |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>松村薫, 中村允、小泉航、堀田耕司, 岡浩太郎       |
| 2. 発表標題<br>ホヤの卵体積変化に伴う尾芽胚サイズ制御の1細胞レベル解析. |
| 3. 学会等名<br>日本発生物学会52                     |
| 4. 発表年<br>2019年                          |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>堀田耕司、赤星太一、岡浩太郎   |
| 2. 発表標題<br>scRNA Seqによるホヤ運動神経節に位置するCa <sup>2+</sup> 振動細胞の遺伝子発現解析scRNA-Seq of Ca <sup>2+</sup> -oscillating cell located in the ascidian motor ganglion. |
| 3. 学会等名<br>第90回日本動物学会   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kohji Hotta, Hiromochi Muraoka, Benoit Godard, Wataru Koizumi, Carl-Philipp Heisenberg, Kotaro Oka  |
| 2. 発表標題<br>Phosphorylation of myosin at the intercalating ventral midline epidermis is essential for ventrally curved-shape of tailbud embryo in a chordate ascidian embryo. |
| 3. 学会等名<br>脊索動物ホヤ尾芽胚の腹側への湾曲した形は細胞挿入時の腹側正中表皮におけるミオシンリン酸化が必須である.   |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Maiki Wakai, Mitsuru J. Nakamura, Satoshi Sawai, Kohji Hotta, and Kotaro Oka  |
| 2. 発表標題<br>ホヤ付着器に対する機械刺激は2段階のCa <sup>2+</sup> 濃度上昇を介し変態を誘導する. Two-step Ca <sup>2+</sup> transients of ascidian palps responding to mechanical stimuli induce metamorphosis |
| 3. 学会等名<br>第42回分子生物学会年会  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Taichi Akahoshi, Kohei Oonuma, Makoto Murakami, Takeo Horie, Takehiro G. Kusakabe, Kohji Hotta and Kotaro Oka  |
| 2. 発表標題<br>A single pair of A10.64 motor neuron showing Ca oscillation is an essential component of central pattern generator for ascidian swimming locomotion. カルシウム振動を示す単一運動ニューロンA10.64細胞はホヤ遊泳運動における中枢パターン生成器に不可欠である. |
| 3. 学会等名<br>第42回分子生物学会年会   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>松村薫、中村允、小泉航、堀田耕司、岡浩太郎              |
| 2. 発表標題<br>カタコウレイボヤ卵体積変化による尾芽胚の組織ごとのスケーリング戦略. |
| 3. 学会等名<br>動物学会関東支部会第72回大会                    |
| 4. 発表年<br>2019年                               |

〔図書〕 計1件

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>堀田耕司  | 4. 発行年<br>2019年 |
| 2. 出版社<br>慶應義塾大学出版会   | 5. 総ページ数<br>240 |
| 3. 書名<br>1章「細胞から個体へつなぐ組織としてのルール」p.3 - 21担当、組織としての生命（編）荒金 直人 |                 |

〔産業財産権〕

〔その他〕

|   |
|---|
| Four-dimensional Ascidian Body Atlas<br><a href="https://www.bpni.bio.keio.ac.jp/chordate/faba/1.4/top.html">https://www.bpni.bio.keio.ac.jp/chordate/faba/1.4/top.html</a><br><br>Tunicate Anatomical and Developmental Ontology<br><a href="http://www.bpni.bio.keio.ac.jp/tunicanato/">http://www.bpni.bio.keio.ac.jp/tunicanato/</a><br><br>グルタミン酸受容体の新たな機能の発見 ~ 松果体様器官形成にAMPA型グルタミン酸受容体が必須 ~<br><a href="https://www.keio.ac.jp/ja/press-releases/2017/3/28/28-20205/">https://www.keio.ac.jp/ja/press-releases/2017/3/28/28-20205/</a><br><br>体内の管組織の新たな形成メカニズムを解明<br><a href="https://www.keio.ac.jp/ja/press-releases/files/2018/9/3/180903-1.pdf">https://www.keio.ac.jp/ja/press-releases/files/2018/9/3/180903-1.pdf</a> |
|---|

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|