

平成22年 6月 7日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17018034

研究課題名（和文） 小型魚類変異体に基づく脊椎動物遺伝子の網羅的機能比較解析

研究課題名（英文） Functional genomics using transgenic zebrafish

研究代表者

川上 浩一 (KAWAKAMI KOICHI)

国立遺伝学研究所・個体遺伝研究系・教授

研究者番号：70195048

研究成果の概要（和文）：

モデル脊椎動物ゼブラフィッシュにおいて *To12* トランスポゾン転移システムを用いて、遺伝子トラップ法、エンハンサートラップ法、Gal4-UAS 法、in vivo で転移を誘導する方法などの新しい遺伝学的方法論の開発に成功した。これらの方法を駆使し、組織・細胞・器官特異的に GFP あるいは Gal4 を発現するトランスジェニックフィッシュを 600 系統以上作製した。これら系統を基に、重要な発生関連遺伝子の機能解析を行った。さらにデータベースを構築し国内外の研究者との共同研究を推進した。これらの研究成果を通じて脊椎動物遺伝子機能解明研究の進展に大きく貢献した。

研究成果の概要（英文）：

We successfully developed novel genetic methods by using the *To12* transposon system such as gene trapping, enhancer trapping, the Gal4-UAS system and in vivo transposition system. By utilizing these methods, we created more than 600 of transgenic fish lines that express GFP or Gal4 in specific tissues, cells and organs. By analyzing these transgenic fish, we studied the function of important developmental genes. Further, we constructed a database of the transgenic fish resource and facilitated collaboration with researchers all over the world. Thus, our achievements greatly contributed advances of the study of vertebrate genes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	15,700,000	0	15,700,000
2006年度	13,600,000	0	13,600,000
2007年度	13,700,000	0	13,700,000
2008年度	13,500,000	0	13,500,000
2009年度	13,500,000	0	13,500,000
総計	70,000,000	0	70,000,000

研究分野：ゲノム研究分野

科研費の分科・細目：ゲノム科学・ゲノム生物学

キーワード：動物ゲノム、ゲノム機能発現、遺伝子発現調節、ゲノムデータベース

1. 研究開始当初の背景

複数の脊椎動物においてゲノム塩基配列の解読が完了あるいは完了しつつあり、脊椎

動物ゲノムに2～3万個存在する蛋白質をコードする遺伝子の構造が明らかにされつつある。しかしながら、それらのうちほとん

どは機能未知である。脊椎動物は多くの遺伝子を共通してもち、それらは脊椎動物の体制づくりに重要なはたらきをしていると考えられる。したがって、適切なモデル脊椎動物と方法論を選択し、機能解析することが重要である。

ゼブラフィッシュは、(1) 繁殖及び多数の個体の飼育が容易、(2) 体外受精し胚が透明であるため発生過程の観察・操作が容易、(3) 世代時間が比較的短い(2~3ヶ月)、等の特長をもつため脊椎動物の生命現象を遺伝学的に解析するためのモデル動物として国内外の研究室でさかんに用いられている。しかしながら、比較的新しいモデル動物であるため、解析のための遺伝学的方法論の開発が十分ではなかった。

我々は、ゼブラフィッシュにおいてトランスポゾンを用いた新しい遺伝学的方法論を開発するための研究を行ってきた。本研究開始時点までに、(1) メダカトランスポゾン *To12* は活性がある転移酵素をコードすること、(2) *To12* を用いて開発した転移システムは、ゼブラフィッシュ中で非常に効率よく機能すること、(3) *To12* 転移システムを用いるとゼブラフィッシュで遺伝子トラップ法の実施が可能であること、を明らかにしていた。

2. 研究の目的

本研究は、モデル脊椎動物である小型熱帯魚ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) を用いて、フォワード遺伝学的アプローチにより網羅的に遺伝子機能解析を行い、他の脊椎動物ゲノムに存在する遺伝子の構造、発現、機能と比較解析するための基盤を構築することを目的とする。(1) *To12* トランスポゾンを用いた遺伝子トラップ法、エンハンサートラップ法など遺伝学的方法論を新規開発あるいは改良する。共同研究、技術講習会の開催等を通じてそれら方法論の普及に努める。(2) ゼブラフィッシュにおいてそれら遺伝学的方法論を実施し、発生過程において組織特異的、器官特異的に発現し、形態形成等、高次生命現象を制御する遺伝子群の網羅的な発現解析と機能解析を推進する。(3) 上記の遺伝学的方法論を実施することにより得られる遺伝子発現情報、機能情報のデータベースを構築し、有用なゲノム情報の公開を促進する。

3. 研究の方法

(1) *To12* コンストラクトを用いたトランスジェニックフィッシュの作製。

改良型遺伝子トラップコンストラクト及び新規に作製する *To12* コンストラクトをもつプラスミド DNA を試験管内合成した転移酵素 mRNA と共にゼブラフィッシュ受精卵に微量注入する。微量注入した胚を成魚にまで飼

育し、F1 胚を得て蛍光顕微鏡で観察する。初期発生過程において、組織特異的、器官特異的に GFP を発現する F1 胚を同定・分離する。

(2) トランスジェニックゼブラフィッシュの系統化。

時空間特異的に GFP を発現する F1 胚を十分な数回収し、成魚まで育てる。これら系統の維持により、生きた個体において時空間特異的 GFP 発現を必要に応じて再現することを可能にする。それらトランスジェニックフィッシュのイメージを発現情報として取得する。

(3) トランスジェニックゼブラフィッシュのゲノム DNA 解析。

トランスジェニックフィッシュ系統がもつ *To12* 挿入近傍のゲノム DNA をサザンブロット、PCR により解析する。また周辺遺伝子の転写解析を行う。これらにより挿入部位を染色体上へマップし、またコンストラクトがトラップしている遺伝子を同定する。これらを全て挿入に関する遺伝子情報として統合する。

(4) トランスポゾン挿入による劣性致死変異の分離: 遺伝子機能情報の取得。

同定した時空間特異的に発現する遺伝子の機能を明らかにするために、遺伝子トラップベクター挿入ヘテロ 2 倍体どうしをかけたあわせ、ホモ 2 倍体胚を作製する。遺伝子トラップベクターが必須遺伝子に挿入されその遺伝子機能を破壊していたならば、初期発生過程、器官形成過程に欠損の表現型がみられるはずである。その表現型について、種々のマーカーを用いた *in situ* ハイブリダイゼーション、抗体染色等、組織学的解析を行う。これらを、遺伝子機能情報として取得する。(5) これらデータを統合するデータベースを構築する。

4. 研究成果

(1) エンハンサートラップ法の開発

To12 に *hsp70* プロモーターと GFP 遺伝子を組み込んだエンハンサートラップベクターを構築した。このエンハンサートラップベクターをゼブラフィッシュゲノムにランダムに挿入させたところ、挿入部位近傍のエンハンサーにより *hsp70* プロモーターが活性化され、GFP を組織特異的・器官特異的に発現するゼブラフィッシュが非常に効率よく得られることがわかった。さらに、エンハンサートラップコンストラクトは、遺伝子内に挿入し、その遺伝子の機能を破壊することもわかった。この成果に基づいて、このあと我々は遺伝子トラップ法とエンハンサートラップ法を並行して行い、それぞれの長所・短所等を比較検討してきた。

(2) Gal4-UAS システムの開発

To12 に スプライスアクセプターと改良型

酵母転写因子Gal4FF遺伝子、あるいはhsp70プロモーターとGal4FF遺伝子を組み込んだ遺伝子トラップベクター、Gal4エンハンサートラップベクターを構築し、ゲノムにランダムに挿入させた。これとともに、Gal4結合配列UASの下流にGFPをもつUAS-GFPリポーターフィッシュを作製した。Gal4フィッシュとUAS:GFPフィッシュをかけあわせ、Gal4依存的にGFPを組織特異的・器官特異的に発現するゼブラフィッシュを作製することに成功した。

(3) トランスジェニックフィッシュの作製

各年度新たに100系統のトランスジェニックフィッシュを作製することを目指した。我々は、遺伝子トラップスクリーン、エンハンサートラップスクリーンを実施することによって、数値目標を大幅に超えて、これまでに組織・細胞・器官特異的にGFPあるいはGal4を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを600系統以上作製してきた。これらの系統を基にした研究成果を以下にあげる。

1. 体表上にあるミトコンドリアに富んだ細胞は体液のイオン濃度の恒常性の維持に重要な働きをしている。それらの細胞で特異的にGFPを発現する系統を用いて、それらの細胞がナトリウムイオンの取り込みに重要であること、アンモニアトランスポーターがそれらの細胞で特異的に発現していること、およびそれらの細胞の分化に転写因子 *foxi3a* が必須であること、を明らかにした。
2. 心臓で特異的にGFPを発現する遺伝子トラップ系統を用いて、新規ミオシン軽鎖kinase 遺伝子を機能阻害すると、心臓の肥大が引き起こされることを明らかにした。
3. 側線には異なる方向性をもつhair cellが混在している。我々は、hair cellで特異的にGFPを発現する系統を用いて、求心性の感覚神経がhair cellの方向性を認識しながら、軸索をのぼしていくことを発見した。
4. 脊椎動物の目の網膜が形成される際にどのように前後軸が形成されるかはよくわかっていなかった。我々は、網膜の後半分でGFPが発現するエンハンサートラップ系統を用いて、網膜の前後軸がさらに発生の初期段階では背腹軸として形成されること、その際には背側からのFgfシグナルが網膜の領域アイデンティティを決定していることを示した。

(4) トランスポゾン挿入部位の決定

我々が作製した系統について、サザンブロット解析を行い、単一のトランスポゾン挿入をもつ個体を同定した。単一挿入をもつトランスジェニックフィッシュをインバースPCR法などで解析し、トランスポゾン挿入部位近傍のゲノムDNAの塩基配列を決定した。これまでに400系統についてトランスポゾン挿入部位を決定することに成功した。

(5) zTrapデータベースの構築と公開

支援班の支援を得て、トランスジェニックフィッシュから得られた発現パターンイメージ、トランスポゾン挿入部位のDNA塩基配列情報を保存・解析・公開するためのデータベース zTrap (zebrafish gene trap and enhancer trap database) の開発を行った。2006年6月30日に公開を開始し、それ以降、新規に作製されたトランスジェニックフィッシュから得られた情報を追加してきた。このデータベースを基にして、ゼブラフィッシュのさまざまな臓器の器官形成、形態形成に興味をもっている研究者との共同研究を発展させることができた。

(6) トランスポゾン挿入変異体の解析

トランスポゾン挿入をもつヘテロ2倍体のオスマスをかけあわせ、ホモ2倍体胚を作製し、表現型の解析を行った。これまでに13系統の挿入変異体を分離し、それらのうち4系統について論文発表してきた。

1. *tcf7*遺伝子の挿入変異：*tcf7*遺伝子は胸ヒレ、膜ヒレで発現している。エンハンサートラップベクター挿入のホモ2倍体では、胸ヒレ、膜ヒレの形態形成に異常がみられた。Wntの下流ではたらく別の転写因子*lef1*の機能を同時に阻害すると、表現型がさらに増大した。この研究により、ヒレ形成過程におけるWntシグナル経路、*tcf/lef*転写因子の重要性を明らかにした。

2. *synembryn-like* 遺伝子の挿入変異：機能欠損変異を分離した。この変異体においてはアデニンシクラーゼ活性の低下による色素胞形成異常が見られたが、その変異表現型はアデニンシクラーゼ活性を上昇させるforskolinの添加によりレスキューされた。

3. 核孔構成蛋白質遺伝子 *Nup214* の挿入変異：ホモ2倍体胚は、頭部と目の発生に異常を示し、胚性致死となる。この結果から、*nup214* 遺伝子がゼブラフィッシュ初期発生において必須遺伝子であることを明らかにした。

4. 母性効果遺伝子 *misty somite* の挿入変異：*misty somite* 遺伝子の機能阻害胚においては、体節境界が形成されるが維持されなかった。また体節の細胞の極性に異常が生じていた。このように *mys* 遺伝子が、体節境界維持に必須な新規母性効果遺伝子であることを明らかにした。

(7) jump starter システムの開発

熱ショックプロモーターの下流に *Tol2* 転移酵素の cDNA を組み込んだトランスジェニックフィッシュを作製した。このトランスジェニックフィッシュをゲノム上に単一コピーの *Tol2* 挿入をもつトランスジェニックフィッシュとかけあわせ、得られた二重トランスジェニックフィッシュのオスの成魚をお湯につける、という熱ショック処理を施した。

その結果、単一コピーの *To12* が、オスの生殖細胞において非常に効率よく転移することを見いだした。

(8)UAS エフェクターフィッシュの作製と神経回路機能阻害

Gal4 認識配列 UAS の下流に破傷風毒素遺伝子 (テタヌス毒素) を組み込んだトランスジェニックフィッシュを作製した。この UAS テタヌス毒素エフェクターフィッシュを脊髄内の感覚神経、介在神経特異的に Gal4 を発現するトランスジェニックフィッシュとかけあわせ、二重トランスジェニック稚魚では、それぞれの神経回路の機能が特異的に阻害されることを示した。また特定の嗅覚神経でのみ Gal4 を発現する系統を作製し、UAS テタヌス毒素エフェクターフィッシュ系統とかけあわせ、二重トランスジェニック成魚では、アミノ酸に対する誘因行動に異常が見られることを示した。

(9) *To12* 転移システムの応用および他のモデル動物における *To12* 転移システムの開発

1. 我々は転移に必要な *To12* のシス領域の解析を行った。その結果、*To12* の左端から 200bp、右端から 150bp の DNA が最小必須シス配列であることを決定した。この研究により *To12* ベクターを非常にコンパクトに設計できるようになり、遺伝子導入ベクターとしての有用性が飛躍的に増加した。

2. *To12* 転移システムを用いてトランスジェニック *Xenopus tropicalis* を作製した。

3. *To12* 転移システムが効率の良いニワトリ胚への遺伝子導入法となることを示した。この方法を用いてニワトリ網膜におけるカドヘリン遺伝子機能研究を行った。

4. *To12* がショウジョウバエで転移することを発見し、GFP あるいは網膜色素形成遺伝子 *white* のトランスジェニックショウジョウバエを作製することに成功した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者には下線)

[雑誌論文] (計 51 件から 23 件 (査読有り) を抜粋)

1. Kotani, T., Iemura, S. I., Natsume, T., Kawakami, K., and Yamashita, M.: *Mys Protein Regulates Protein Kinase A Activity by Interacting with Regulatory Type I α Subunit during Vertebrate Development.* The Journal of Biological Chemistry 285, 5106-5116 (2010).

2. Appelbaum, L., Wang, G. X., Maro, G. S., Mori, R., Tovin, A., Marin, W., Yokogawa, T., Kawakami, K., Smith, S. J., Gothilf, Y., Mignot, E., and Mourrain, P.: *Sleep-wake regulation and hypocretin-melatonin interaction in zebrafish.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 21942 - 21947 (2009).

3. Sugiyama, M., Sakaue-Sawano, A., Iimura, T., Fukami, K., Kitaguchi, T., Kawakami, K., Okamoto, H., Higashijima, S. I., and Miyawaki, A.: *Illuminating cell-cycle progression in the developing zebrafish embryo.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 20812 - 20817 (2009).

4. Suster, M. L., Kania, A., Liao, M., Asakawa, K., Charron, F., Kawakami, K., and Drapeau, P.: *A novel conserved *evx1* enhancer links spinal interneuron morphology and cis-regulation from fish to mammals.* Developmental Biology, 325, 422-433 (2009).

5. Faucherre, A., Pujol-Martí J., Kawakami, K., and López-Schier, H.: *Afferent neurons of the zebrafish lateral line are strict selectors of hair-cell orientation.* PLoS One, 4, e4477 (2009).

6. Esaki, M., Hoshijima, K., Nakamura, N., Munakata, K., Tanaka, M., Ookata, K., Asakawa, K., Kawakami, K., Wang, W., Weinberg, E. S., and Hirose, S.: *Mechanism of development of ionocytes rich in vacuolar-type H(+)-ATPase in the skin of zebrafish larvae.* Developmental Biology, 329, 116-129 (2009).

7. Koide, T., Miyasaka, N., Morimoto, K., Asakawa, K., Urasaki, A., Kawakami, K., and Yoshihara, Y.: *Olfactory neural circuitry for attraction to amino acids revealed by transposon-mediated gene trap approach in zebrafish.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106, 9884-9889 (2009).

8. Picker, A., Cavodeassi, F., Machate, A., Bernauer, S., Hans, S., Abe, G., Kawakami, K., Wilson, S. W., Brand, M.: *Dynamic coupling of pattern formation and morphogenesis in the developing vertebrate retina.* PLoS Biology, 7(10), e1000214 (2009).

9. Suster, M. L., Sumiyama, K., and Kawakami, K.: *Transposon-mediated BAC transgenesis in zebrafish and mice.* BMC Genomics, 10, 477 (2009).

10. Asakawa, K., and Kawakami, K.: *The *To12*-mediated Gal4-UAS method for gene and enhancer trapping in zebrafish.* Methods, 49(3), 275-281 (2009).

11. Komisarczuk, A. Z., Kawakami, K., and Becker, T. S.: *Cis-regulation and chromosomal rearrangement of the *fgf8* locus after the teleost/tetrapod split.* Developmental Biology, 336(2), 301-312 (2009).

12. Nagayoshi, S., Hayashi, E., Abe, G., Osato, N., Asakawa, K., Urasaki, A.,

- Horikawa, K., Ikeo, K., Takeda, H., and Kawakami, K.: Insertional mutagenesis by the Tol2 transposon-mediated enhancer trap approach generated mutations in two developmental genes: *tcf7* and *synembryn-like*. *Development*, 135, 159-169 (2008).
13. Asakawa, K., Suster, M. L., Mizusawa, K., Nagayoshi, S., Kotani, T., Urasaki, A., Kishimoto, Y., Hibi, M., and Kawakami, K.: Genetic dissection of neural circuits by Tol2 transposon-mediated Gal4 gene and enhancer trapping in zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 1255-1260 (2008).
14. Kotani, T., and Kawakami, K.: misty somites, a maternal effect gene identified by transposon-mediated insertional mutagenesis in zebrafish that is essential for the somite boundary maintenance. *Developmental Biology*, 316, 383-396 (2008).
15. Asakawa, K., and Kawakami, K.: Targeted gene expression by the Gal4-UAS system in zebrafish. *Development Growth & Differentiation*, 50, 391-399 (2008).
16. Urasaki, A., Asakawa, K., and Kawakami, K.: Efficient transposition of the Tol2 transposable element from a single-copy donor in zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 19827-19832 (2008).
17. Jeong, J.-Y., Einhorn, Z., Mathur, P., Chen, L., Lee, S., Kawakami, K., and Guo, S.: Patterning the zebrafish diencephalon by the conserved zinc-finger protein Fez1. *Development*, 134, 127-136 (2007).
18. Scott, E.K., Mason, L., Arrenberg, A.B., Ziv, L., Gosse, N.J., Xiao, T., Chi, N.C., Asakawa, K., Kawakami, K., and Baier, H.: Targeting neural circuitry in zebrafish using GAL4 enhancer trapping. *Nature Methods*, 4, 323-326 (2007).
19. Kawakami, K., Tol2: a versatile gene transfer vector in vertebrates. *Genome Biology*, 8 (Suppl 1), S7 (2007).
20. Kotani, T., Nagayoshi, S., Urasaki, A., and Kawakami, K.: Transposon-mediated gene trapping in zebrafish. *Methods*, 39, 199-206 (2006).
21. Urasaki, A., Morvan, G., and Kawakami, K.: Functional dissection of the Tol2 transposable element identified the minimal cis-sequence and a highly repetitive sequence in the subterminal region essential for transposition. *Genetics*, 174, 639-649 (2006).
22. Fisher, S., Grice, E.A., Vinton, R.M., Bessling, S.L., Urasaki, A., Kawakami, K., and McCallion, A.S.: Evaluating the biological relevance of putative enhancers using Tol2 transposon-mediated transgenesis in zebrafish. *Nature protocols*, 1, 1297-1305 (2006).
23. Kawakami, K.: Transposon tools and methods in zebrafish. *Developmental Dynamics*, 234, 244-254 (2005).
- [学会発表] (計 141 件から国外での口頭発表 17 件を抜粋)
1. Kawakami, K.: From gene to function: a quest with a transposon. Zebrafish 2010: 11th Australia & New Zealand Workshop. 2010.2.3-5, Sydney, Australia.
2. Kawakami, K.: Transposon-mediated gene trapping, enhancer trapping and insertional mutagenesis. The 4th Asia-Oceania Zebrafish Meeting. 2009.8.31-9.2, Jeju, Korea.
3. Kawakami, K.: Tol2-mediated transgenesis in zebrafish and mice. Conference on Genome Engineering. 2009.6.25-27, Minneapolis, Minnesota.
4. Kawakami, K.: Transposon-mediated insertional mutagenesis: an overview. Zebrafish Knockout Project: Organization & Strategy Meeting, 2009.3.7-9, Cambridge, UK.
5. Kawakami, K.: Recent advances in the Tol2 transposon technology in zebrafish. 3rd Strategic Conference of Zebrafish Investigators. 2009.1.24-28, Asilomar, California.
6. Asakawa, K., Suster, M.L., Mizusawa, K., Nagayoshi, S., Kotani, T., Urasaki, A., Kishimoto, Y., Hibi, M., and Kawakami, K.: Targeted Gene Expression by Tol2 Transposon-mediated Gal4 Gene and Enhancer Trap Approaches in Zebrafish. 8th International Conference on Zebrafish Development and Genetics, 2008.6.25-29, Madison, Wisconsin.
7. Kawakami, K.: Transposon-mediated gene trapping and enhancer trapping in zebrafish. 6th Annual International Conference on Transposition and Animal Biotechnology, 2008.6.19-21, Berlin, Germany.
8. Kawakami, K.: Genetic dissection of neural circuits by Tol2 transposon-mediated Gal4 gene and enhancer trapping in zebrafish. Asia Pacific zebrafish network meeting, 2008.2.17-20, Auckland, New Zealand.
9. Kawakami, K.: Transposon-mediated gene trapping and enhancer trapping in

zebrafish. Indian Society of Developmental Biologists, 2007.10.18-19, Agra, India.

10. Kawakami, K.: Transposon-mediated gene and enhancer trapping in zebrafish. The 16th Korea Genome Organization Conference, 2007.9.13-14, Seoul, Korea.

11. Asakawa, K., Mizusawa, K., Urasaki, A., Kotani, T., Nagayoshi, S., Kishimoto, Y., Hibi, M., and Kawakami, K.: Development of the Gal4-enhancer trap system using the *Tol2* transposable element and its application to inhibition of synaptic transmission in zebrafish. 7th International Conference on Zebrafish Development & Genetics, 2006.6.14-18, Madison, Wisconsin.

12. Urasaki, A., Asakawa, K., and Kawakami, K.: Remobilization of integrated transposons: the jump starter system in zebrafish. 7th International Conference on Zebrafish Development & Genetics, 2006.6.14-18, Madison, Wisconsin.

13. Kawakami, K.: The *Tol2* transposable element: minimum *cis*-requirements and remobilization. ASM conferences: Mobile DNA, 2006.2.24-3.1, Banff, Canada.

14. Kawakami, K.: Gene and enhancer trapping using the *Tol2* transposon system. Strategic Conference of Zebrafish Investigators, 2005.9.15-17, Salisbury Cove, Maine.

15. Asakawa, K., Ito, A., Urasaki, A., Kotani, T., Nagayoshi, S., Kishimoto, Y., Hibi, M., and Kawakami, K.: Development of the Gal4-enhancer trap system using the *Tol2* transposable element in zebrafish. 2005 West Coast Zebrafish Meeting, 2005.9.9-10, Eugene, Oregon.

16. Urasaki, A., Asakawa, K., Kotani, T., Nagayoshi, S., Kishimoto, Y., and Kawakami, K.: The *Tol2*-mediated genetic methodologies in zebrafish: gene trapping, enhancer trapping and remobilization. 4th European Zebrafish Genetics and Development Meeting, 2005.7.13-16, Dresden, Germany.

17. Kawakami, K.: The *Tol2* transposable element: efficient gene and enhancer trapping in vertebrate. FASEB Summer Research Conferences "Mammalian Mobile Elements", 2005.6.4-9, Tucson, Arizona.

〔図書〕(計5件から2件を抜粋)

1. Kawakami, K.: The transgenesis and gene and enhancer trap methods in zebrafish by using the *Tol2* transposable element. Essential zebrafish methods: genetics and genomics, Academic Press, 153-173 (2009).

2. Lieschke, G. J., Oates, A. C., Kawakami, K.: Zebrafish: methods and protocols, Methods in Molecular Biology, Humana Press, 335 (2009).

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

1. ボツリヌス毒素遺伝子トランスジェニックフィッシュ、発明者: 川上浩一, サスター, マキシミアノー、権利者: 大学共同利用機関法人情報・システム研究機構、特許、特願2009-211821、2009年9月14日出願、国内

〔その他〕

1. ホームページ

<http://kawakami.lab.nig.ac.jp/>

2. データベース

zTrap: zebrafish gene trap and enhancer trap database

<http://kawakami.lab.nig.ac.jp/zTrap/>

3. 毎日新聞 2008年1月15日掲載

「魚の神経回路を制御」

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川上 浩一 (KAWAKAMI KOICHI)

国立遺伝学研究所・個体遺伝研究系・教授

研究者番号: 70195048