

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06242

研究課題名(和文)脊椎動物胚の尾芽に存在する多分化能幹細胞の分化と脊髄発生の制御機構

研究課題名(英文)Regulatory mechanism of the differentiation of multipotent stem cells in the tailbud and spinal cord development 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) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では真骨魚ゼブラフィッシュ(Danio rerio)を用い、Oct4の相同遺伝子 pou5f3の体軸伸長への関与を検討した。まず、pou5f3が伸長中の神経管後端特異的に発現することを示した。また、機能阻害・活性化実験と変異体解析により、pou5f3が実際に神経管の伸長と神経発生遺伝子の活性化を行うことを示唆した。一方、pou5f3の発現が各種分泌シグナルによって調節されることを、胚を用いた薬剤処理実験により見出した。以上は、pou5f3が各種シグナルの制御下で発現し、尾芽からの神経発生と脊髄伸長を推進することを示すものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊椎動物胚の体軸伸長が胚後端組織での組織新生によることは多くの動物種で知られており、様々な転写因子、分泌因子の関与が明らかになりつつある。一方で、POU型転写因子Oct4の哺乳類初期発生や多能性維持における重要性は広く知られる。本研究は、Oct4型遺伝子が脊髄の伸長を制御することを初めて明らかにしたものであり、学術的に重要な貢献と言える。なお、ヒトの脊髄については二分脊椎、神経管閉鎖不全など、様々な先天性異常が知られる。事故などによる脊髄損傷の結果、麻痺などの後遺症が残ることもあり、日常生活に大きな支障をきたす。本研究の成果は、これらの疾患の発症機構理解や再生医療に貢献しうるものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the involvement of pou5f3, the homologue of mouse Oct4, in body axis elongation in the teleost fish, zebrafish (Danio rerio). First, we showed that pou5f3 is expressed at the posterior end of the elongating neural tube. In addition, functional inhibition/activation and mutant analyses suggested that pou5f3 actually promotes elongation of the neural tube and activates neurogenic genes. It was further shown that pou5f3 expression in the tail bud is regulated by various secreted signals. These data show that pou5f3 is expressed under the control of various signals in the posterior neural tube and promotes neural development of immature cells migrating from the tail bud.

研究分野：発生生物学

キーワード：ゼブラフィッシュ 多分化能細胞 尾芽 体軸伸長 脊髄形成 神経発生 Oct4型POU転写因子 pou5f3

## 1. 研究開始当初の背景

脊椎動物の胚発生において体軸の後方への伸長は個体形成での重要な基本過程である。この際には、胚後方に存在する多分化能細胞集団から体幹部や尾部の中軸構造を構成する細胞群が新たに産生されており、これが結果的に体軸の後方伸長に貢献する。この過程はマウスやゼブラフィッシュなどで研究が進んでいる。細胞追跡実験により、マウスでは初期胚の胚盤葉後方領域とその後の胚後端領域たる尾芽、魚類では発生初期から尾芽において、実際に脊髄神経細胞や中軸、沿軸中胚葉組織を形成する多分化能細胞が報告されていた（神経中胚葉前駆細胞・NMPs など）。これらの動物では、尾芽領域では2種の転写因子遺伝子 *sox2* や *tbxt/tbxta* により多分化能が維持され、その後、体軸伸長とともに前駆細胞の分化運命の選択が行われ、背側では *soxB1* や proneural 遺伝子の働きで神経分化が進行し、腹側では *tbx6/16* 遺伝子などの働きで中胚葉への分化が決定すると考えられている。神経分化には加えてレチノイン酸 (RA) シグナルが関わり、中胚葉分化には分泌因子である Wnt、FGF、BMP のシグナルが関わるとされる。しかしながら、幹細胞の維持、神経・中胚葉組織への分化決定のしくみは未だ不明の点が多かった。

関連して、ゼブラフィッシュにおいて以前に、哺乳類で多能性を担うとされる *Oct4* の co-paralogue とされる *pou5f3* が胚後端で発現すること、この遺伝子の変異体では尾部伸長が異常となることが観察されていた (Burgess et al, 2002)。また、研究代表者の研究室では *pou5f3* の胚での発現が RA で制御されること (Parvin et al., 2008)、この遺伝子が *soxB1* と強調して遺伝子発現を制御し (Kobayashi et al., 2018)、後脳において神経分化を制御することを明らかにしていた (Inomata et al., 2020)。これらのことは、*Oct4/pou5f3* が脊椎動物胚の体軸伸長、特に脊髄の発生において、尾芽幹細胞の維持と分化に関わりを持つことを示唆していた。

## 2. 研究の目的

本研究では、*pou5f3* 遺伝子を中心にすえて体軸伸長、特に脊髄伸長の分子的制御機構に取り組んだ。具体的には、(1) 尾芽発生への関与が予想される各種制御遺伝子の発現と *pou5f3* の発現の詳細な比較を行い、(2) *pou5f3* の時期特異的な機能阻害と活性化、そして *pou5f3* の遺伝子破壊が体軸伸長に及ぼす影響を検討した。さらに、同様の機能阻害実験、機能活性化実験において、尾芽周辺での多能性維持遺伝子、神経分化遺伝子、中胚葉形成遺伝子の発現を調べた。一方、尾芽発生への関与が予想される分泌シグナルの役割について、阻害剤処理実験を試みた。これらの研究を通して、脊椎動物胚の尾芽領域における多分化能細胞からの脊髄の発生機構を *pou5f3* の役割を中心として明らかにすることをめざした。

## 3. 研究の方法

(1) 本研究を通じてゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) RW 系統を用いた。

(2) 遺伝子発現については whole-mount in situ hybridization (WISH) を行った。詳細な遺伝子発現の比較のためには、2-color fluorescence ISH と共焦点レーザー顕微鏡による観察 (FISH) を行った。

(3) 所属研究室では、Pou5f3 に Engrailed repressor を繋いだ dominant negative *pou5f3* 遺伝子 (*en-pou5f3*) に heat shock promoter を連結させた上でゼブラフィッシュに導入して系統化しており (Khan et al., 2012)、この系統を機能阻害実験に用いた。具体的には、*en-pou5f3* をヘテロで持つ個体と野生型魚の交配で得られた胚に特定の発生時期で 37°C、1 時間の heat shock を行い、24 hours post-fertilization (hpf) での形態観察、3 体節期もしくは 18 体節期での遺伝子発現解析を行った。これらの解析を行った胚については各々 PCR による genotyping を行った。

(4) *pou5f3* および *soxB1* の破壊には TALEN 法及び CRISPR/Cas9 法を用いたフレームシフト変異の導入を行った。

(5) Pou5f3-ERT2 融合タンパク質遺伝子 (*pou5f3-ERT2*) を作製し、mRNA を胚に顕微注入した上、tamoxifen 処理により特定時期に Pou5f3 の活性化を行った。

(6) 各種シグナルの体軸伸長における役割を検討するため、シグナル阻害剤を胚に投与し、その効果を WISH により検討した (Wnt シグナル阻害、IWR-1 ; Wnt シグナル活性化、BIO ; FGF シグナル阻害、SU5402 ; BMP シグナル阻害、Dorsomorphin ; RA 合成阻害、DEAB ; 対照としては溶剤とした dimethyl sulfoxide) 。

## 4. 研究成果

(1) 尾芽周辺での *pou5f3* の発現を詳細に検討した。まず、3 体節期の胚で神経発生に関わる遺

伝子 (*soxB1*, *neurog1*, *notch1a*) の発現と比較し、*pou5f3* がこれらの神経発生遺伝子と同様、尾芽の予定脊髄領域で強く発現することを示した。また、分泌因子遺伝子 (*bmp2b*, *fgf8a*, *wnt3a*, *chordin*) の発現がこの時期、尾芽で広く観察され、*pou5f3* の発現と重なることを確認した。一方、18 体節期になると、*pou5f3* の発現は神経管後端に局限し、尾芽における *tbxta* の発現と接するようになった。*soxB1* 遺伝子の中で、*sox19a* の発現は神経管後端を含む神経管全体で観察されるのに対し、*sox3* は *pou5f3* 領域を除く神経管で発現していた。*neurog1* も *sox3* と同様に *pou5f3* 領域を除く神経管で広く見られた。また、この時期、*wnt3a*, *fgf8a*, *bmp2b* はいずれも尾芽領域で発現することを確認した。ただし、*wnt3a* 領域は神経管後端での *pou5f3* 発現領域と明瞭な境界を作るのに対し、*fgf8a* 発現領域は *pou5f3* の発現と部分的重なりを示した。一方、*bmp2b* については尾芽の表層外胚葉で発現が見られており、マウス胚では尾芽で発現する *gdf11* がゼブラフィッシュ胚でも尾芽後方領域で発現することを確認した。さらに、BMP シグナルを阻害する *chordin* の発現が *pou5f3* と同様に神経管後端で特異的に見られた。これらの結果から、Wnt/FGF/BMP シグナルはいずれも尾芽幹細胞の維持や分化に関わることが示唆された。

以上の発現解析により、尾芽での未分化幹細胞から神経系細胞に特異化される際には、まず *pou5f3* が発現し、これらの *pou5f3* 発現細胞はその後、神経分化に関わる *sox3* を発現すると予想されたため、尾芽幹細胞から神経細胞への分化過渡領域といえる神経管後端の *pou5f3* 発現領域を transition zone、その前方の *sox3* 発現領域を maturation zone と命名した。

(2) 次に、*pou5f3* の胴尾部伸張における役割を内在 *pou5f3* の機能阻害により検討した。まず、体節形成期の異なる時期で heat shock による *en-pou5f3* 誘導を行ったところ、原腸形成終了期での誘導では胚体の前方で体軸の伸張異常が見られるが、誘導時期が遅くなると、体軸異常を示す位置が後方へ移動した。このことから、*pou5f3* は体軸の維持ではなく、新たな伸張に必要であることが示唆された。これらの *pou5f3* 機能阻害胚では神経管、体節、脊索の伸長が異常となっていることが遺伝子レベルで確認されており、内在 *pou5f3* は体軸の正常な形成に必要であるといえる。

引きつづき、3 体節期と 18 体節期において同様に *pou5f3* の機能阻害を行った上、神経分化及び中胚葉分化に関わる遺伝子の発現を WISH で検討した (Fig. 1)。神経前駆細胞の形成に関わる *soxB1* 遺伝子についてはいずれの時期でも抑制が観察された。神経分化に関わる proneural 遺伝子 (*neurog1*, *ebf2*) についてもやはり発現が抑制された。このことから、内在 *pou5f3* は神経発生遺伝子の発現を基本的に活性化するといえる。なお、神経分化の抑制に関わる Notch 関連遺伝子 (*notch1a*, *deltaA*) の発現も内在 *pou5f3* により抑制されることが示唆された。

一方、尾芽維持遺伝子 *tbxta* と中胚葉前駆細胞の形成遺伝子 *tbx6* の発現を *pou5f3* 機能阻害胚で検討したところ、*tbxta* の発現低下が見られる一方、*tbx6* の発現は胚体全域で活性化された。これらの結果から、内在 *pou5f3* は尾芽維持遺伝子の発現は活性化する一方、中胚葉形成遺伝子の発現は抑制するといえる。分泌因子遺伝子について検討した結果、内在 *pou5f3* は *fgf8a* の発現を活性化すること、尾芽での *wnt3a* の発現には抑制的であることが示された。また、*pou5f3* が *bmp2b* の発現を抑制する一方で BMP シグナルを阻害する *chordin* の発現は活性化することを示唆する結果を得ており、*pou5f3* は BMP シグナルには抑制的であると結論した。さらに、神経分化に関わるとされる RA シグナル伝達での *pou5f3* の役割を調べるため、RA 分解酵素遺伝子 *cyp26a1* と RA 合成酵素遺伝子 *aldh1a2* の発現を検討したところ、内在 *pou5f3* は *cyp26a1* の発現は活性化する一方、*aldh1a2* の発現を抑制し、結果的に RA の分解を促進することが示された。

なお、これらの機能阻害の結果の一部は Pou5f3-ERT2 の tamoxifen による誘導を利用した機能活性化実験でも確認されている。

(3) 本研究では *pou5f3* の尾芽での役割をさらに検討するために *pou5f3* 遺伝子に CRISPR/Cas9 法を用いてフレームシフト変異を導入した。系統化を行った上、変異をヘテロで持つ個体どうしの交配で得られた胚について、形態観察を行ったところ、ホモ変異体において尾部異常が見られており、*pou5f3* は正常な体軸伸長に必要であることが確認された。*pou5f3* 変異体での遺伝子発現を 18 体節期において WISH によって検討したところ、ホモ変異体において、*sox19a* と *neurog1*、そして *pou5f3* と同様に神経管後端で発現する *nkx1.2la* についても発現の低下が見られた。これらの結果は、*pou5f3* が神経管後端での神経発生に必要なであるとした *en-pou5f3* 誘導実験の結果と一致する。

尾芽でのシグナル分泌因子遺伝子の発現についても同様に調べたところ、内在 *pou5f3* は *fgf8a*,

*chordin*, *cyp26a1* の発現をすべて活性化することを示唆する結果が得られており、この結果も *en-pou5f3* 誘導での結果と一致している。

本研究で得られたこれらの結果から、*pou5f3* は中胚葉形成遺伝子の発現は基本的に抑制し、神経前駆細胞への分化は促進すると推定された。ただし、本研究において、*en-pou5f3* 誘導実験と変異体解析には結果が食い違っている部分があり、これについては今後さらに検討していく必要がある。

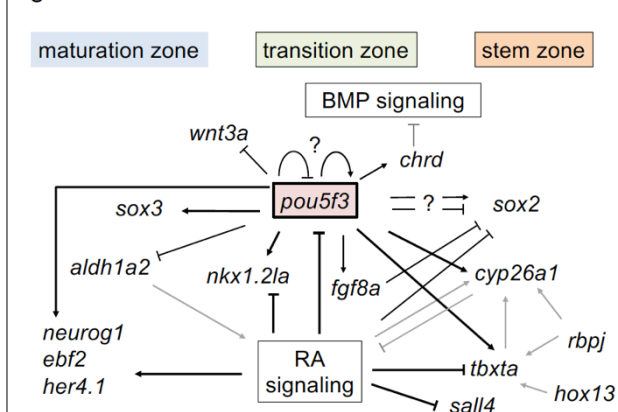
(4) 本研究では、所属研究室の先行研究において *pou5f3* と協調して働くことが示唆され

(Kobayashi et al., 2018)、神経特異化に関わると考えられる *soxB1* について、体軸伸長、脊髄伸長での機能を調べるために、ゲノム編集技術を用いた遺伝子破壊を行い、作製した変異体を用いた解析を行った。まず、*sox2* については N 末端部位に CRISPR/Cas9 法によりフレームシフト欠失変異の導入と系統化に成功しており、ホモ変異体のみで眼胞異常と体軸の屈曲が観察された。*sox3* の HMG ドメイン内 N 末領域に対しては TALEN の作製を行い、標的部位へのフレームシフト欠失変異導入と変異体の系統化を行った。*sox19a* については HMG ドメイン

の N 末領域に CRISPR/Cas9 法によりフレームシフト欠失変異を導入して系統化した。これら *sox3* 及び *sox19a* の単独変異体ではこれまで顕著な表現型は観察されていないが、*sox3/sox19a* 二重ホモ変異体のみで浮袋および体軸伸張で異常が見られた。

次に、この *sox3/sox19a* 変異体での *neurog1* の発現を bud 期で検討したところ、*sox19a* ホモ変異体、*sox3* ホモ-*sox19a* ヘテロ変異体、*sox3* ヘテロ-*sox19a* ホモ変異体、そして *sox3-sox19a* の 2 重ホモ変異体で低下が観察された。特に、二重ホモ変異体では *neurog1* の発現がほぼ消失していた。

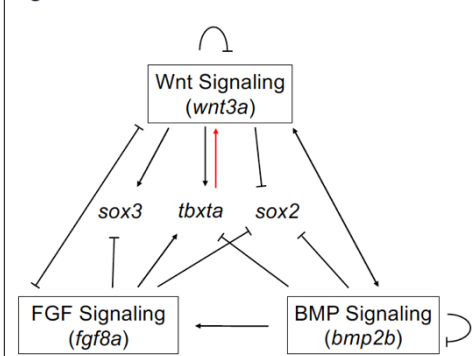
Figure 1



以上の結果から、*soxB1* は尾部発生、そして神経管での神経発生に重要であることが確認された。また、*sox2* は単独で尾芽伸長に不可欠であるが、*sox3* と *sox19a* では機能的相補性があることが示唆された。今後、体軸・脊髄伸長における *soxB1* 各々の役割と相互作用、そして *pou5f3* 等との機能的関連性が課題である。

(5) 本研究では尾芽における細胞間シグナルの役割を検証するため、体節形成期のゼブラフィッシュ胚 (14-18 hpf) を各種シグナル阻害剤で処理し、胚における尾芽形成制御遺伝子の発現への影響を検討した (Fig. 2)。まず、*pou5f3* の発現はこれら阻害剤では影響されなかった。これに対し、*sox2* の発現は Wnt シグナル阻害剤で増加、活性化剤で減少し、FGF シグナル阻害剤で増加、BMP シグナル阻害剤で増加した。*sox3* の発現は Wnt シグナル活性化剤で増加、FGF シグナル阻害剤で増加したが、BMP シグナル阻害剤では特に影響されていない。これらの結果から、*sox2* の発現は Wnt/FGF/BMP シグナルにより抑制され、*sox3* の発現は Wnt シグナルにより活性化され、FGF シグナルにより抑制されると結論した。

Figure 2



尾芽維持遺伝子 *tbxta* についても調べたところ、発現は Wnt シグナル阻害剤で低下、BMP シグナル阻害剤で増加した。なお、中胚葉形成遺伝子 *tbx16* の発現はいずれのシグナル阻害剤処理でも特に変化は見られていない。これらの結果から、*tbxta* の発現は Wnt シグナルにより活性化され、BMP シグナルにより抑制されるのに対し、*tbx16* の発現は今回検討した時期では Wnt/FGF/BMP シグナルによる制御を受けないといえる。シグナル分泌因子遺伝子の発現についても同様に検討したところ、*wnt3a* の発現は FGF シグナルにより尾芽で抑制され、BMP シグナルにより活性

化されるのに対し、*fgf8a*の発現は Wnt シグナルにより抑制され、BMP シグナルにより活性化されることを示唆する結果を得た。

以上の結果から、Wnt/FGF/BMP シグナルは尾芽形成遺伝子の発現制御を通してそれぞれ尾芽の発生に関わることが示された (Fig. 2)。注目すべきこととして、*pou5f3* の発現は Wnt/FGF/BMP シグナルからは独立しているか、その上位で働くと考えられる。

(6) 本研究では、神経分化に関わるとされる RA シグナルの尾芽での遺伝子発現制御の役割を調べるために、体節形成期のゼブラフィッシュ胚を RA で処理し、胚における尾芽形成制御遺伝子の発現への影響を検討した。まず、神経発生に関わる *sox2*、*neurog1*、*ebf2*、*her4.1* の神経管での発現は全て増大したのに対し、神経管後端での *pou5f3* と *nkx1.2la* の発現、尾芽での *sall4* 及び *tbxta* の発現が RA 処理胚で低下した。以上の結果から、RA シグナルは神経管での神経発生を促進するが、神経管後端と尾芽での遺伝子発現には抑制的に働くと推定される。また、前述した *pou5f3* 機能阻害実験の結果から、神経管後端での RA シグナルは *pou5f3* によって抑制されていると考えられるため、RA と *pou5f3* は相互抑制の関係にあると推測される (Fig. 1)。

#### (7) 結論

胚後端での各種制御遺伝子の発現解析から、尾芽未分化幹細胞が神経系細胞に特異化される際に、*pou5f3* が重要であることが推測された。さらに、時期特異的な *pou5f3* 機能阻害実験から、*pou5f3* は尾芽からの胴尾部の新生に必要である一方、既存の体軸の維持には不要であることが示された。*pou5f3* 機能阻害胚での遺伝子レベルの解析などからは、*pou5f3* は中胚葉形成遺伝子を抑制する一方、神経前駆細胞への分化は基本的に促進すると推定された。また、*soxB1* 遺伝子の変異体の作製とその表現型解析から、*soxB1* 遺伝子は体軸の伸長と神経分化に必要であることが確認された。薬剤処理実験からは、Wnt/FGF/BMP/RA シグナルは尾芽周辺で遺伝子発現を制御しており、尾芽の発生に関与することが示された。

以上のように、本研究は、*Oct4* 型遺伝子が脊髄の伸長を制御することを初めて明らかにしたものであり、学術的に重要な貢献と言える。ヒトでは二分脊椎、神経管閉鎖不全など、様々な先天性脊髄異常が知られる。また、事故などによる脊髄損傷の結果、麻痺などの後遺症が残ることもあり、日常生活に大きな支障をきたす。本研究の成果は、将来的にはこれらの疾患の発症機構理解や再生医療に貢献できるものと考えられる。

#### (8) 謝辞

本研究は主として大学院生だった結川達也博士により遂行された。また、津田佐知子博士、齊藤 慎二博士、池田真彬君、佐藤武寿君、安田楓君、石倉愛悠さんにも深く感謝いたします。

#### (9) 引用文献

- Burgess et al., 2002, Development 129, 905-916.  
Parvin et al., 2008, Dev. Dyn.237, 1373-1388.  
Khan et al., 2012, Mech. Dev., 129, 219-235.  
Kobayashi et al., 2018, Exp. Cell Res., 364, 28-41.  
Inomata et al, 2020, Dev. Biol., 457, 30-42.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Akama Kagari, Ebata Kanami, Maeno Akiteru, Taminato Tomohito, Otosaka Shiori, Gengyo Ando Keiko, Nakai Junichi, Yamasu Kyo, Kawamura Akinori	4. 巻 236
2. 論文標題 Role of somite patterning in the formation of Weberian apparatus and pleural rib in zebrafish	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Anatomy	6. 最初と最後の頁 622 ~ 629
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/joa.13135	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Inomata Chihiro, Yuikawa Tatsuya, Nakayama-Sadakiyo Yukiko, Kobayashi Kana, Ikeda Masaaki, Chiba Mizuki, Konishi Chihiro, Ishioka Akiko, Tsuda Sachiko, Yamasu Kyo	4. 巻 457
2. 論文標題 Involvement of an Oct4-related PouV gene, pou5f3/pou2, in neurogenesis in the early neural plate of zebrafish embryos	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 30 ~ 42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2019.09.002	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Ban Hiroyuki, Yokota Daisuke, Otosaka Shiori, Kikuchi Morimichi, Kinoshita Hirofumi, Fujino Yuuri, Yabe Taijiro, Ovara Hiroki, Izuka Ayaka, Akama Kagari, Yamasu Kyo, Takada Shinji, Kawamura Akinori	4. 巻 146
2. 論文標題 Transcriptional autoregulation of zebrafish tbx6 is required for somite segmentation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev177063
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.177063	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Fujino Yuuri, Yamada Kazuya, Sugaya Chihiro, Ooka Yuko, Ovara Hiroki, Ban Hiroyuki, Akama Kagari, Otosaka Shiori, Kinoshita Hirofumi, Yamasu Kyo, Mishima Yuichiro, Kawamura Akinori	4. 巻 592
2. 論文標題 Deadenylation by the CCR4-NOT complex contributes to the turnover of hairy-related mRNAs in the zebrafish segmentation clock	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 3388 ~ 3398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13261	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Tsuda Sachiko, Hiyoshi Kanae, Miyazawa Hiroaki, Kinno Risa, Yamasu Kyo	4. 巻 690
2. 論文標題 4D imaging identifies dynamic migration and the fate of gbx2-expressing cells in the brain primordium of zebrafish	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 112 ~ 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2018.09.027	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Okumura Kanoko, Kakinuma Hisaya, Amo Ryunosuke, Okamoto Hitoshi, Yamasu Kyo, Tsuda Sachiko	4. 巻 29
2. 論文標題 Optical measurement of neuronal activity in the developing cerebellum of zebrafish using voltage-sensitive dye imaging	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 NeuroReport	6. 最初と最後の頁 1349 ~ 1354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/WNR.0000000000001113	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Kinoshita Hirofumi, Ohgane Nanae, Fujino Yuuri, Yabe Taijiro, Ovara Hiroki, Yokota Daisuke, Izuka Ayaka, Kage Daichi, Yamasu Kyo, Takada Shinji, Kawamura Akinori	4. 巻 152
2. 論文標題 Functional roles of the Ripply-mediated suppression of segmentation gene expression at the anterior presomitic mesoderm in zebrafish	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mechanisms of Development	6. 最初と最後の頁 21 ~ 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mod.2018.06.001	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Miyazawa Hiroaki, Okumura Kanoko, Hiyoshi Kanae, Maruyama Kazuhiro, Kakinuma Hisaya, Amo Ryunosuke, Okamoto Hitoshi, Yamasu Kyo, Tsuda Sachiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Optical interrogation of neuronal circuitry in zebrafish using genetically encoded voltage indicators	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6048
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-23906-1	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Nikaido Masataka, Izumi Saki, Ohnuki Honoka, Takigawa Yuki, Yamasu Kyo, Hatta Kohei	4. 巻 28
2. 論文標題 Early development of the enteric nervous system visualized by using a new transgenic zebrafish line harboring a regulatory region for choline acetyltransferase a ( chata ) gene	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Gene Expression Patterns	6. 最初と最後の頁 12~21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gep.2018.01.003	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Takahashi Kazuki, Ito Yuki, Yoshimura Mami, Nikaido Masataka, Yuikawa Tatsuya, Kawamura Akinori, Tsuda Sachiko, Kage Daichi, Yamasu Kyo	4. 巻 472
2. 論文標題 A globin-family protein, Cytoglobin 1, is involved in the development of neural crest-derived tissues and organs in zebrafish	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 1~17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2020.12.016	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Yuikawa Tatsuya, Ikeda Masaaki, Tsuda Sachiko, Saito Shinji, Yamasu Kyo	4. 巻 63
2. 論文標題 Involvement of Oct4 type transcription factor Pou5f3 in posterior spinal cord formation in zebrafish embryos	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 306~322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12742	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計23件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 結川達也、佐藤武寿、津田佐知子、弥益 恭
2. 発表標題 伸長中の神経管後端における神経発生のpou5f3とBMPシグナルによる制御
3. 学会等名 日本動物学会第91回大会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 大柳 毅朗、鈴木志保、弥益 恭
2. 発表標題 脊椎動物胚における峡部オーガナイザー細胞の発生運命追跡の試み
3. 学会等名 日本動物学会第91回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 志保, 弥益 恭
2. 発表標題 Fgf8発現細胞の発生過程での挙動を忠実に再現する蛍光標識ゼブラフィッシュ系統の作製
3. 学会等名 日本動物学会第91回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuikawa T, Ikeda M, Tsuda S and Yamasu K
2. 発表標題 Regulation of the posterior development in zebrafish embryos by FGF and Wnt signaling.
3. 学会等名 26th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大柳 毅朗、鈴木 志保、弥益 恭
2. 発表標題 峡部オーガナイザーにおける神経発生制御機構と峡部細胞の発生運命の追跡
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 志保、大柳 毅朗、津田 佐知子、弥益 恭
2. 発表標題 発生過程におけるfgf8a発現細胞のリアルタイムイメージングと追跡を可能にするゼブラフィッシュ系統の作製
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tatsuya Yuikawa , Takehisa Sato , Sachiko Tsuda , Kyo Yamasu
2. 発表標題 Involvement of pou5f3 and soxB1 in neurogenesis at the caudal region of the extending body axis was shown using zebrafish mutants.
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sota Saito, Kyo Yamasu
2. 発表標題 Evaluation of the role of the shadow enhancers for gbx2 in zebrafish using genome editing techniques.
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tatsuya Yuikawa, Takehisa Sato, Sachiko Tsuda, Kyo Yamasu
2. 発表標題 Neurogenesis in the caudal region of the extending body axis in zebrafish embryos is regulated by pou5f3 and soxB1genes.
3. 学会等名 25th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sota Saito, Kyo Yamasu
2. 発表標題 Studies on the roles of the shadow enhancers of zebrafish gbx2 during development using genome editing approaches.
3. 学会等名 25th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Studies on neurogenesis in the isthmic organizer region and its later development.
2. 発表標題 Takeo Ohyanagi, Shiho Suzuki, Kyo Yamasu
3. 学会等名 25th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fluorescence labeling of brain forming genes by the homologous recombination-independent knock-in technology.
2. 発表標題 Shiho Suzuki, Kyo Yamasu
3. 学会等名 25th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saito S and Yamasu K
2. 発表標題 The roles of the transcriptional repressive region of zebrafish fgf8a in development revealed by the CRISPR/Cas9 system.
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuikawa T, Sato S, Ikeda M, Tsuda S and Yamasu K
2. 発表標題 Extension of the posterior structure in zebrafish embryos is regulated by FGF and Wnt signaling.
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiyoshi K, Yamasu K and Tsuda S
2. 発表標題 Functional compartmentalization of the cerebellar circuits: three-dimensional analysis in zebrafish
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Okumura K, Miyazawa H, Hiyoshi K, Maruyama K, Kakinuma H, Amo R, Okamoto H, Yamasu K and Tsuda S
2. 発表標題 Optical measurement of neuronal activity in zebrafish brain by genetically encoded voltage indicators
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会 / 第51回日本発生生物学会合同大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Saito S and Yamasu K
2. 発表標題 Deletion of the transcriptional regulatory region of zebrafish fgf8a affects development of the muscle and notochord.
3. 学会等名 24th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuikawa T, Ikeda M, Tsuda S and Yamasu K
2. 発表標題 Regulation of the posterior development in zebrafish embryos by FGF and Wnt signaling.
3. 学会等名 24th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuikawa T, Ikeda M, Tsuda S and Yamasu K
2. 発表標題 Zebrafish pou5f3, an Oct4-type class-V POU gene, is involved in neurogenesis in the caudal neural tube.
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会・第51回日本発生生物学会合同年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koto Umeda, Takuma Kamimura, Masato Maekawa, Shiho Suzuki, Kaiho Tanaka, Kyo Yamasu
2. 発表標題 Genetic analysis of the mechanism involved in dorsoventral patterning of the developing telencephalon in zebrafish embryos
3. 学会等名 27th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 結川 達也 , 安田 楓 , 石倉 愛悠 , 弥益 恭
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ胚神経管後端での神経発生におけるpou5f3とレチノイン酸の役割
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上村 拓真、梅田 琴、前川 雅人、鈴木 志保、田中 海帆、弥益 恭
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ胚終脳の背腹領域化に関する発生遺伝学的研究
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大崎 翔梧、池田 亮、今川 夏音、弥益 恭
2. 発表標題 時計遺伝子の発現制御を行うフィードバックサブループ機構のゼブラフィッシュにおける発生・発達
3. 学会等名 第44回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 塩尻 信義, 弥益 恭, 加藤 容子, 中尾 啓子 (共編)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 培風館	5. 総ページ数 169
3. 書名 発生生物学 基礎から応用への展開	

1. 著者名 弥益 恭、中尾啓子、野口 航 (編)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 培風館	5. 総ページ数 193
3. 書名 新しい生物科学	

1. 著者名 末光 隆志 (総編集)、弥益 恭 (編集、第3章・第7章・第13章; 分担執筆)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 772
3. 書名 動物の事典	

〔産業財産権〕

〔その他〕

発生物理学研究室 <a href="http://devbiol.seitai.saitama-u.ac.jp">http://devbiol.seitai.saitama-u.ac.jp</a> 埼玉大学発生物理学研究室 <a href="http://devbiol.seitai.saitama-u.ac.jp">http://devbiol.seitai.saitama-u.ac.jp</a> 埼玉大学発生物理学研究室 <a href="http://devbiol.seitai.saitama-u.ac.jp">http://devbiol.seitai.saitama-u.ac.jp</a>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	津田 佐知子  (Tsuda Sachiko)  (80736786)	埼玉大学・理工学研究科・准教授    (12401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------