

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22370079

研究課題名（和文） 動物皮膚模様の人為的な再構成技術の確立

研究課題名（英文） Technological development toward the artificial reproduction of the animal skin patterns.

研究代表者

近藤 滋（KONDO SHIGERU）

大阪大学・生命機能研究科・教授

研究者番号：10252503

研究成果の概要（和文）：インビボ、インビトロの2つの系を使い、動物の模様を人為的に操作（改変）する技術の開発を目指した。インビボ系においては、CX418遺伝子を変異させてゼブラフィッシュに導入することで、ほぼすべての種類の模様を作ることに成功した。インビトロ系に関しても、培養皿の上で、色素パターンを作るのに重要な細胞間の相互作用を再現することが可能になった。以上に寄り、おおむねこのプロジェクトは成功したと言える。

研究成果の概要（英文）：We aimed in this project to develop a method with which one can change the skin pattern of zebrafish in the vivo, and reproduce the pattern in culture dish (in vivo). Concerning to the in vivo changing of the pattern, using the cx418 gene transgenic fish, we succeeded to change the pattern of normal zebrafish (stripe) to variety of patterns. Although we have not yet succeeding to reproduce the pattern in culture dish, we established the method with which one can analyze the interactions between the pigment cells that plays the major role in the pattern formation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
2011年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2012年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：チューリング、ゼブラフィッシュ、皮膚模様、反応拡散、ネットワーク

## 1. 研究開始当初の背景

色素細胞の相互作用が模様を作っていることは解っていたが、それ以上の詳しい事は不明であった。模様は、多くの遺伝子・細胞の相互作用の結果として現れると考えられるので、それらの働きを人為的に改変する事で、

模様を再生、あるいは変化させられるはずであり、それを通じて、模様形成の原理に迫るはずである。

(1) インビトロ系：培養系での色素細胞の解析は、細胞の精製技術が確立しておらず、ほとんどなされていなかった。

(2) インビボ系：模様が変わる遺伝子はいくつも存在するが、人為的に（作為的に）模様を変える試みはなされていなかった

## 2. 研究の目的

(1) 色素細胞間相互作用の再現によるインビトロ系でのパターン形成

①色素細胞をできるだけダメージなく精製する技術の開発

②色素細胞間の相互作用の正確な測定技術の開発

③色素細胞間の相互作用の正確な定量

④In vitro 系におけるパターン形成

(2) インビボでのゼブラフィッシュ模様改変技術

①CX418 遺伝子の発現場所等の解析

②CX418 遺伝子改変に寄る模様変異ゼブラフィッシュの創出

## 3. 研究の方法

(1) インビトロ

①細胞の精製条件の改良：細胞の分離に使う酵素、遠心の速度、培養液、培養皿のコーティング等を、最適化

②細胞動態の正確な測定：細胞をバルクで培養するのではなく、個々の細胞をピックアップして任意の場所に置くことに寄ってより定量的な解析を行う

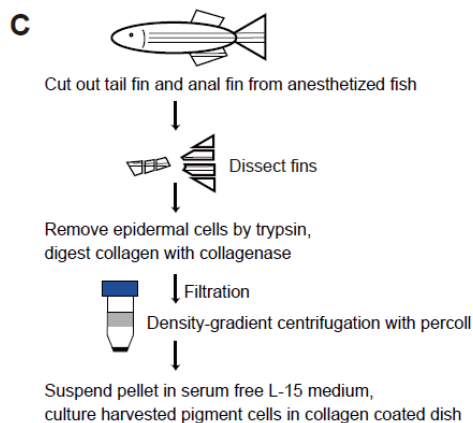
(2) インビボ

CX418 遺伝子のアミノ末端に段階的な欠失、あるいは余分なアミノ酸を加えることで、活性を徐々に変化させ、それを Mitfa プロモーター、cx418 プロモーターの制御下に魚で発現させる

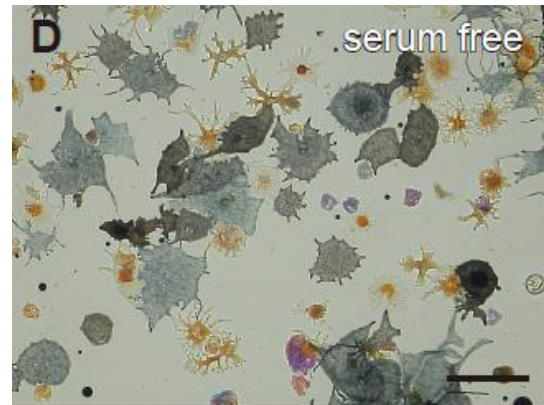
## 4. 研究成果

(1) インビトロ系

①細胞精製法がかなりの程度の改良され、48時間程度の観察が可能になった

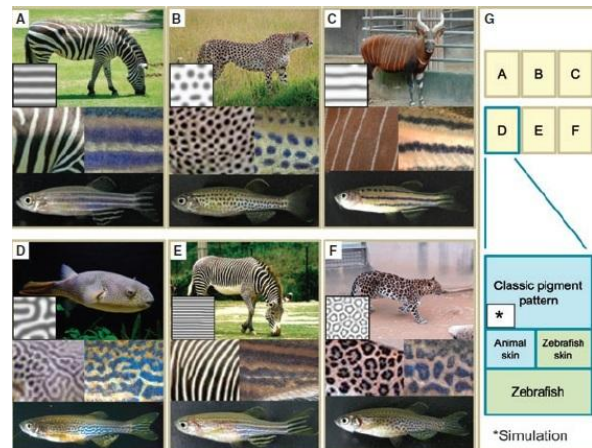


②個々の細胞を任意の状態を観察することが可能になり、細胞行動の定量化ができた



(2) インビボ系

①野生の動物で見られるほとんどの種類の模様をゼブラフィッシュで再現することに成功した。



## 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 10 件)

①\*Eom, D.-S., \*Inoue, S., Patterson, L. B., Gordon, T. N., Slingwine, R., Kondo, S., #Watanabe, M. & #Parichy, D. M., Melanophore migration and survival during zebrafish adult pigment stripe development require the immunoglobulin superfamily adhesion molecule, igsf11, PLoS Genet., 査読有, 2012;8(8):e1002899. doi: 10.1371/journal.pgen.1002899

②Watanabe M, Watanabe D and Kondo S. Polyamine sensitivity of gap junctions is required for skin pattern formation in zebrafish, Scientific Reports, 査読有, 2012; 2:473

③Yoshimoto E and Kondo S. Wing vein

patterns of the Hemiptera insect *Orosanga japonicus* differ among individuals, *Interface Focus* 6, 査読有, 2012, vol. 2 no. 4, 451-456

④ Watanabe M, Kondo S, Changing clothes easily: connexin41.8 regulates skin pattern variation, *Pigment Cell Melanoma Res.*, 査読有, 2012, May;25(3):326-30

⑤ Economou AD, Ohazama A, Porntaveetus T, Sharpe PT, Kondo S, Basson MA, Gritli-Linde A, Cobourne MT, GreenJB., Periodic stripe formation by a Turing mechanism operating at growth zones in the mammalian palate, *Nat Genet.*, 査読有, 2012, Feb 19;44(3):348-51

⑥ Inaba M, Yamanaka H, Kondo S, Pigment pattern formation by contact-dependent depolarization, *Science*, 査読有, 2012, Vol. 335 no. 6069 p. 677

⑦ Lee JM, Miyazawa S, Shin JO, Kwon HJ, Kang DW, Choi BJ, Lee JH, Kondo S, Cho SW, Jung HS, Shh signaling is essential for rugae morphogenesis in mice, *Histochem Cell Biol.*, 査読有, 2011, Dec;136(6):663-75

⑧ 吉元英一、近藤 滋、チューリングパターンと動物のパターン形成：脊椎動物の皮膚模様と昆虫の翅脈パターン、*生物科学*、査読有、62 (1)、2010年9月、2-8

⑨ Kondo S and Miura T, Reaction-Diffusion Model as a Framework for Understanding Biological Pattern Formation, *Science*, 査読無, 2010, Sep 24;329(5999):1616-20.

⑩ Miyazawa S, Okamoto M, Kondo S, Blending of animal colour patterns by hybridization, *Nat Commun.*, 査読有, 2010, Sep;1(6): doi:10.1038/ncomms1071

[学会発表] (計 57 件)

① 近藤滋、Interaction among the pigment cells forms the Turing pattern in the skin of zebrafish、国際高等研究所 研究プロジェクト 「ゲノム工学とイメージングサイエンスに基づく生命システム研究の新展開」 2012 年度第一回研究会、2013.2.22、国際高等研究所(京都府)

② Shigeru Kondo, Collaboration of mathematical theory and experimental biology, USGEB Annual Meeting 2013,

2013.2.1, University of Zurich (Swiss Confederation)

③ 近藤滋、Zebrafish Pigment Patterning by Local Cell Interactions、The 23rd CDB Meeting、2013.1.22、理化学研究所(神戸市)

④ 近藤滋、Turing pattern without diffusion、CDB Swiss Japanese Development Biology Meeting、2012.11.6、京都ガーデンパレス(京都市)

⑤ Shigeru Kondo, Turing pattern without diffusion, Gordon Research Conferences, 2012.7.16, Colby College(USA)

⑥ Shigeru Kondo, Turing pattern formation without diffusion, Turing Centenary Conference, 2012.6.20, University of Cambridge, Cambridge(UK)

⑦ 近藤滋、“波”が生み出す多彩な生命機能、第 89 回日本生理学会大会、2012.3.31、長野県松本文化会館(松本市)

⑧ 近藤滋、Mechanism of zebrafish skin pattern formation、CDB SYMPOSIUM 2012、2012.3.27、理化学研究所(神戸市)

⑨ Shigeru Kondo, Periodic pattern formation in the skin of animals, International Symposium on Complex Systems 2011, 2011.12.1, 東京大学(東京都)

⑩ 近藤滋、Skin pattern formation as a live Turing wave in animals、名古屋大学 2011GCOE 国際シンポジウム、2011.11.26、名古屋大学(名古屋市)

⑪ 近藤滋、Skin pattern formation as a live Turing wave in animals、日本植物学会第 75 回大会、2011.9.17、東京大学(東京都)

⑫ Shigeru Kondo, Turing pattern in the real biological system, BIRS Workshop, 2011.7.26, Banff International Research Station, Banff(Canada)

⑬ Shigeru Kondo, How experiment and mathematics can cooperate in the study of Turing patterns of real biological systems?, 8th European Conference on Mathematical and Theoretical Biology, 2011.6.29, Jagiellonian University, Krakow(Poland)

⑭ Shigeru Kondo, Interactions between zebrafish pigment cells responsible for the

generation of Turing patterns, 16th Meeting of the European Society for Pigment Cell Research, 2010.9.7, Welcome Trust Conference Centre, Cambridge(UK)

⑮近藤滋、Turing model, a framework for explaining biological pattern formation、第43回日本発生生物学学会大会、2010.6.23、国立京都国際会館、京都市

〔図書〕(計1件)

①近藤滋(共著)、反応拡散系による位置情報の形成、現代生物科学入門8 システムバイオロジー 1-40 岩波書店、2010年

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/skondo/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

近藤 滋 (KONDO SHIGERU)

大阪大学・生命機能研究科・教授

研究者番号：10252503