

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23241063

研究課題名(和文)トランスポゾンを用いた方法論に基づく脊椎動物フェノーム解析の基盤形成

研究課題名(英文) Establishment of a basis to study vertebrate phenome based on transposon-mediated genetic methods

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 37,600,000円

研究成果の概要(和文)：(1)モデル脊椎動物ゼブラフィッシュにおいて、遺伝子トラップスクリーニングを行い、改変型酵母転写因子Gal4FFを細胞・器官・組織特異的に発現するトランスジェニックフィッシュを新規に400系統作製することに成功した(数値目標250系統)。
(2)トランスジェニックフィッシュを基にして、国内の連携研究者、国外の共同研究者と器官形成のメカニズムを明らかにした。
(3)トランスジェニックフィッシュを用いて、リアルタイムでの脳神経活動のイメージングに成功した。

研究成果の概要(英文)：(1) We performed Gal4 gene trap and enhancer trap screens and successfully generated more than 400 transgenic fish lines that expressed Gal4FF in specific organs, cells and tissues.
(2) Taking advantage of the transgenic fish, we conducted collaboration with cooperative researchers in Japan and international collaborators, and disclosed mechanisms of organogenesis.
(3) By using the transgenic fish, we successfully developed a method to visualize the neuronal activity in real-time.

研究分野：複合新領域

キーワード：ゲノム 遺伝学 遺伝子 神経科学 発生・分化 ゼブラフィッシュ トランスポゾン

1. 研究開始当初の背景

小型熱帯魚ゼブラフィッシュは 1990 年代以降、モデル脊椎動物として世界中の研究者により用いられてきた。しかしながら新しいモデル動物であったために遺伝学的方法論の開発は遅れていた。特に 1990 年代後半頃、遺伝子機能解析に欠かせないトランスジェニックフィッシュ作製のための方法は非常に効率のわるいものであった。

我々が開発したトランスポゾン転移技術は、この状況を大きく変えた。トランスポゾンは、微生物、植物、ショウジョウバエ等の遺伝学的研究において有用なツールとして用いられてきたが、1990 年代後半頃は、ゼブラフィッシュはおろか脊椎動物において利用可能なトランスポゾンツールは存在していなかった。我々は、1998~2000 年頃、一連の研究によって、メダカゲノム由来の *Tol2* 因子が、転移酵素をコードする自律的トランスポゾンであること、脊椎動物細胞において転移すること、を明らかにした。我々は、*Tol2* を用いて、ゼブラフィッシュにおける非常に効率の良い遺伝子導入法の開発に成功し、さらに世界に先駆けて遺伝子トラップ法、エンハンサートラップ法の開発に成功してきた。

我々は 2006~2010 年の間、基盤研究(S)により、*Tol2* を用いて、ゼブラフィッシュにおける Gal4-UAS 法の開発に着手し、これに成功した。Gal4-UAS 法は元々ショウジョウバエにおいて開発された有力な遺伝学的方法である。我々の研究によって、ゼブラフィッシュで利用可能になった。

我々は、これら独自に開発した遺伝学的方法論を駆使して、Gal4 を細胞・組織・器官特異的に発現するトランスジェニックフィッシュの系統開発を行なって来た。研究開始時には、約 800 系統のトランスジェニックフィッシュの作製に成功していた。さらに、それらを有効利用するために、系統の発現パターン情報とトランスポゾン挿入部位のゲノム情報を閲覧・検索可能にしたデータベース [zTrap \(zebrafish gene trap and enhancer trap database, http://kawakami.lab.nig.ac.jp/ztrap/\)](http://kawakami.lab.nig.ac.jp/ztrap/) を構築し、web 上に公開していた。

私は、上述の研究成果を鑑み、我々が開発してきた独創性の高い方法論を用いて大規模にトランスジェニックゼブラフィッシュを作製し、それらの表現型を解析する研究を強力に推進したいと考えた。トランスジェニックフィッシュリソースやデータベースを基に、国内外の研究者と積極的に共同研究を展開することにより、世界のゼブラフィッシュ研究をリードすることができる。遺伝学的方法論の創始者である我々の優位性を生かし、我が国発の研究を発展させるためにも本研究を実施することが重要であり、かつ急務であると考えた。

2. 研究の目的

(1) *Tol2* を用いた遺伝子トラップ法(あるいはエンハンサートラップ法)により、細胞・組織・器官特異的に改良型酵母転写因子 Gal4FF を

発現するトランスジェニックフィッシュを作製する。4 年間の研究期間内に 250 系統作製することを数値目標とした。これらトランスジェニックフィッシュにおける *Tol2* 挿入部位を決定し、遺伝子と発現パターンを結びつける。この過程で次のことを明らかにする。それら発現パターンデータと遺伝子情報データを整備し、データベースで閲覧・検索可能にする。

(2) 国内の連携研究者および国外の共同研究者らと共同研究を展開する。連携研究者や共同研究者が研究の対象とする発現パターンが得られた場合、そのような系統を速やかに分与し、共同研究を開始する。この目的のため、以下の国内 13 名の研究者を連携研究者とした。瀬原敦子(京大、側線・筋肉・腱の研究)、小椋利彦(東北大、心臓形成研究)、日比正彦(名古屋大、小脳研究)、澤本和延(名古屋市立大、神経幹細胞研究)、田村宏二(東北大、ヒレ形成研究)、石谷太(九州大、中脳、Wnt シグナル研究)、吉原良浩(理研、嗅覚系研究)、平田普三(国立遺伝研、運動システム研究)、和田浩則(さきがけ、側線・感丘形成研究)、政井一郎(OIST、網膜研究)、高島成二(大阪大、心疾患関連研究)、伊藤素行(名古屋大、側線・脊索、Notch シグナル研究)。数値目標としては、これまでの実績を鑑みて年間 5 報の共著論文を出版し続けることを目標とした。

(3) ゼブラフィッシュは胚発生研究のためのモデル動物としてさかんに用いられてきたが、最近では哺乳動物の代替の疾患モデルとしても注目されるようになり、成体の表現型も重要になってきた。しかしながらゼブラフィッシュ成魚の表現型の解析は未開拓の分野である。我々のトランスジェニックフィッシュの成魚を用いた研究における有用性も明らかではない。我々は、特に脳に焦点をあて発現パターンの解析に着手する。これにより Gal4-UAS 法の成体の表現型研究における有用性を明らかにする。

(4) Gal4-UAS 法の特長は UAS 下流に任意の遺伝子を組み込むことにより、その遺伝子を Gal4 発現細胞で特異的に発現できることにある。Gal4 発現フィッシュを用いたフェノーム解析を促進するために、有用な UAS エフェクターフィッシュの開発を行う。

3. 研究の方法

(1) 遺伝子トラップコンストラクトは、スプライスアクセプターの下流に改良型酵母転写因子 Gal4FF を、エンハンサートラップコンストラクトはヒートショックプロモーターの下流に改良型酵母転写因子 Gal4FF をもつ。遺伝子トラップコンストラクト(あるいはエンハンサートラップコンストラクト)を持つプラスミド DNA を、転移酵素 mRNA とともにゼブラフィッシュ受精卵にインジェクションする。インジェクションした胚を成魚にまで育て、Gal4 認識配列 UAS の下流に GFP を組み込んだ UAS:GFP リポーターフィッシュとかけあわせる。GFP は Gal4FF 発現に依存して発現される。生後 1~5 日の二重ト

ランスジェニック胚(F1)を実体蛍光顕微鏡下で観察し、細胞・組織・器官特異的に GFP を発現する F1 胚を同定し、選別する。それら GFP 発現胚を成魚にまで育てる。このようにして年間 50 系統(以上)のランスジェニックフィッシュ系統を作製する。

(2) Gal4FF 発現フィッシュ成魚の尾ひれから DNA を抽出し、サザンハイブリダイゼーション解析、インバース PCR 解析等を行う。F1 フィッシュはしばしば複数の *Tol2* 挿入をもつ。その場合にはかけあわせにより F2、F3 世代の子孫を作製し、サザンハイブリダイゼーション解析により、単一挿入をもつ個体を同定する。この過程は労力を要するが、信頼に足る系統を樹立するために必要なステップである。これらの解析により、*Tol2* の挿入部位を、ゼブラフィッシュゲノム地図上へマップする。得られた発現パターン、挿入部位のゲノム情報をデータベース zTrap に取り込む。順次公開し、国内外の研究者の役に立てる。

(3) 本研究でスクリーニングを実施することにより得られる、さまざまな細胞・組織・器官で Gal4 を発現するランスジェニックフィッシュ系統を、分類し速やかに連携研究者に分与し、専門性の高い研究を行う体制を整える。本研究開始後は、連携研究者らとミーティングをひらき、研究発表と情報交換を行う。

(4) 成魚脳における Gal4(GFP)の発現パターンを切片の作製により解析する。それにより脳機能の研究に、Gal4-UAS 法がどの程度有効であるかを明らかにする。

(5) 細胞の活性を阻害する遺伝子、細胞の活動を検出する GCaMP のような遺伝子等を UAS の下流に組み込んだ UAS エフェクターフィッシュを作製し、Gal4 発現フィッシュ(主に神経特異的 Gal4 発現フィッシュ)とかけ合わせ、得られた二重ランスジェニックフィッシュの解析を行なう。研究期間内に、そのようなランスジェニックフィッシュを 15 系統以上作製する。

4. 研究成果

(1) *Tol2*を用いた遺伝子トラップ法(あるいはエンハンサートラップ法)により、細胞・組織・器官特異的に改良型酵母転写因子 Gal4FF を発現するランスジェニックフィッシュを 4 年間の研究期間に、約 400 系統作製することに成功した。

(2) これらのランスジェニックフィッシュを用いて国内外の研究者と共同研究を行ない、それらを含めて、45 報の英文論文を発表した。

(3) 運動時の脊髄の運動ニューロンの活動を GCaMPを用いたカルシウムイメージングにより明らかにした(文献 33)。

(4) 側線の神経分化における Notch シグナルの役割を明らかにした(文献 34)。

(5) トランスポゾンベクターを用いて BAC サイズの巨大 DNA (~200kb)を組み込み、ランスジェニックフィッシュの作製が可能であることを示した(文献 35)。

(6) 遺伝子トラップフィッシュのスクリーニング、およびランスジェニックフィッシュの作製によ

り、脊髄の運動神経、および眼球の運動を司る運動神経を可視化できる系統の樹立に成功した(文献 19)。

(7) Gap ジャンクションを形成するコネクシン 39.9 蛋白質が、筋肉の協調的な運動に必須であることを明らかにした(文献 20)。

(8) シリア(繊毛)形成に関わる Nek8 遺伝子が、腎臓形成、心臓の左右差形成に重要であることを明らかにした(文献 23)。

(9) 肝炎ウイルス C タイプの蛋白質を発現するランスジェニックフィッシュの作製により、ヒトの肝癌発症のモデルを樹立した(文献 24)。

(10) ゼブラフィッシュの胸ヒレ形成の新しいメカニズムを提唱した(文献 25)。

(11) トランスジェニックフィッシュの作製により Wnt シグナルに反応する細胞を生きた個体の中で可視化することに成功した(文献 26)。

(12) 改良型 GCaMP を視覚刺激を受容する視蓋で発現させ、ゼブラフィッシュ稚魚が、自然な対象物(餌であるゾウリムシ)を知覚する際の脳神経細胞の活動をリアルタイムでイメージングすることに成功した(文献 7)。

(13) 感覚器官である感丘の形成に、神経細胞による支配が重要であることを明らかにした(文献 8)。

(14) 血行力学に依存している心臓の弁形成の過程において、血流依存的なマイクロ RNA の発現が関与していることを明らかにした(文献 12)。

(15) ゼブラフィッシュの器官形成(感丘形成)において、Wnt/Dkk パスウェイによるネガティブフィードバックが、器官サイズの制御に重要であることを明らかにした(文献 13)。

(16) 様々なプロモーターを用いたランスジェニックフィッシュの作製により、サブタイプの異なる神経回路を可視化することに成功した(文献 15)。

(17) 神経細胞と血管の平行した伸長が、Vegf のシグナル伝達経路に依存していることを明らかにした(文献 16)。

(18) Notch シグナルが、脊髄の介在神経細胞の分化を制御するメカニズムを明らかにした(文献 3)。

(19) ゼブラフィッシュ側線鱗が、神経組織が制御する骨リモデリング過程を経て形成されることを明らかにした(文献 4)。

(20) 遺伝子トラップ法により、小脳の神経回路研究に有用なランスジェニックフィッシュ系統を多数樹立した(文献 1)。

(21) RNF121 蛋白質が、電位依存的なトリウムチャンネルの分解と膜上への移送を制御し、神経活性をコントロールしていることを明らかにした(文献 2)。

(22) 上述の研究の過程で、有用な UAS エフェクター系統を 15 系統以上構築した。

(23) 論文発表にはいたっていないが、ゼブラフィッシュ成魚脳において特定の領域で GAL4FF を発現するランスジェニックフィッシュを 77 系統同定した。

(24) 国際高等研からの支援も受け、2012、

2013、2014 年度に連携研究者らとのミーティングを行ってきた。

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 45 件から 35 件を抜粋、全て査読有り)

(1) Establishment of Gal4 transgenic zebrafish lines for analysis of development of cerebellar neural circuitry. Takeuchi, M., Matsuda, K., Yamaguchi, S., Asakawa, K., Miyasaka, N., Lal, P., Yoshihara, Y., Koga, A., Kawakami, K., Shimizu, T., and Hibi, M. **Developmental Biology** 397, 1-17 (2015).

(2) RING finger protein 121 facilitates the degradation and membrane localization of voltage-gated sodium channels. Ogino, K., Low, S.E., Yamada, K., Saint-Amant, L., Zhou, W., Muto, A., Asakawa, K., Nakai, J., Kawakami, K., Kuwada, J.Y., and Hirata, H. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 112, 2859-2864 (2015).

(3) Different combinations of Notch ligands and receptors regulate V2 interneuron progenitor proliferation and V2a/V2b cell fate determination. Okigawa, S., Mizoguchi, T., Okano, M., Tanaka, H., Isoda, M., Jiang, Y.J., Suster, M., Higashijima, S.-I., Kawakami, K., and Itoh, M. **Developmental Biology** 391, 196-206 (2014).

(4) Development of the lateral line canal system through a bone remodeling process in zebrafish. Wada, H., Iwasaki, M., and Kawakami, K. **Developmental Biology** 392, 1-14 (2014).

(5) Involvement of androgen receptor in sex determination in an amphibian species. Fujii, J., Kodama, M., Oike, A., Matsuo, Y., Min, M.S., Hasebe, T., Ishizuya-Oka, A., Kawakami, K., and Nakamura, M. **PLoS One** 9, e93655 (2014).

(6) Glycinergic transmission and postsynaptic activation of CaMKII are required for glycine receptor clustering in vivo. Yamanaka, I., Miki, M., Asakawa, K., Kawakami, K., Oda, Y., and Hirata, H. **Genes to Cells** 18, 211-224 (2013).

(7) Real-time visualization of neuronal activity during perception. Muto, A., Ohkura, M., Abe, G., Nakai, J., and Kawakami, K. **Current Biology** 23, 307-311 (2013).

(8) Innervation is required for sense organ development in the lateral line system of adult zebrafish. Wada, H., Dambly-Chaudière, C., Kawakami, K., and Ghysen, A. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 110, 5659-5664 (2013).

(9) Interhemispheric asymmetry of olfactory input-dependent neuronal specification in the adult brain. Kishimoto, N., Asakawa, K., Madeline, R., Blader, P., Kawakami, K., and Sawamoto, K. **Nature Neuroscience** 16, 884-888 (2013).

(10) Cellular dissection of the spinal cord motor column by BAC transgenesis and gene trapping

in zebrafish. Asakawa, K., Abe, G., and Kawakami, K. **Frontiers in Neural Circuits** 7, 100 (2013).

(11) Prey capture in zebrafish larvae serves as a model to study cognitive functions. Muto, A., and Kawakami, K. **Frontiers in Neural Circuits** 7, 110 (2013).

(12) Haemodynamically dependent valvulogenesis of zebrafish heart is mediated by flow-dependent expression of *miR-21*. Banjo, T., Grajcarek, J., Yoshino, D., Osada, H., Miyasaka, K.Y., Kida, Y.S., Ueki, Y., Nagayama, K., Kawakami, K., Matsumoto, T., Sato, M., and Ogura, T. **Nature Communications** 4, 1978 (2013).

(13) Wnt/Dkk negative feedback regulates sensory organ size in zebrafish. Wada, H., Ghysen, A., Asakawa, K., Abe, G., Ishitani, T., and Kawakami, K. **Current Biology** 23, 1559-1565 (2013).

(14) Development of cerebellar neurons and glias revealed by in utero electroporation: Golgi-like labeling of cerebellar neurons and glias. Kita, Y., Kawakami, K., Takahashi, Y. and Murakami, F. **PLoS One** 8, e70091 (2013).

(15) Transgenic tools to characterize neuronal properties of discrete populations of zebrafish neurons. Satou, C., Kimura, Y., Hirata, H., Suster, M.L., Kawakami, K., and Higashijima, S.-i. **Development** 140, 3927-3931 (2013).

(16) The parallel growth of motoneuron axons with the dorsal aorta depends on Vegfc/Vegfr3 signaling in zebrafish. Kwon, H.-B., Fukuhara, S., Asakawa, K., Ando, K., Kashiwada, T., Kawakami, K., Hibi, M., Kwon, Y.-G., Kim, K.-W., Alitalo, K., and Mochizuki, N. **Development** 140, 4081-4090 (2013).

(17) Gbx2 functions as a transcriptional repressor to regulate the specification and morphogenesis of the mid-hindbrain junction in a dosage- and stage-dependent manner. Nakayama, Y., Kikuta, H., Kanai, M., Yoshikawa, K., Kawamura, A., Kobayashi, K., Wang, Z., Khan, A., Kawakami, K., and Yamasu, K. **Mechanism of Development** 130, 532-552 (2013).

(18) The PCP protein Vangl2 regulates migration of hindbrain motor neurons by acting in floor plate cells, and independently of cilia function. Sittaramane, V., Pan, X., Glasco, D.M., Huang, P., Gurung, S., Bock, A., Li, S., Wang, H., Kawakami, K., Matisse, M.P., and Chandrasekhar, A. **Developmental Biology** 382, 400-412 (2013).

(19) An *mnr2b/hlxb9lb* enhancer trap line that labels spinal and abducens motor neurons in zebrafish. Asakawa, K., Higashijima, S.-i., and Kawakami, K. **Developmental Dynamics** 241, 327-332 (2012).

(20) Connexin 39.9 protein is necessary for coordinated activation of slow-twitch muscle and

normal behavior in zebrafish. Hirata, H., Wen, H., Kawakami, Y., Naganawa, Y., Ogino, K., Yamada, K., Saint-Amant, L., Low, S.E., Cui, W.W., Zhou, W., Sprague, S.M., Asakawa, K., Muto, A., Kawakami, K., and Kuwada, J.Y. **J Biol Chem** 287, 1080-1089 (2012).

(21) Neuronal birth order identifies a dimorphic sensorineural map. Pujol-Martí, J., Zecca, A., Baudoin, J.P., Faucherre, A., Asakawa, K., Kawakami, K., and López-Schier, H. **Journal of Neuroscience** 32, 2976-2987 (2012).

(22) Transgenic line with gal4 insertion useful to study morphogenesis of craniofacial perichondrium, vascular endothelium-associated cells, floor plate, and dorsal midline radial glia during zebrafish development. Nakayama, S., Ikenaga, T., Kawakami, K., Ono, F., and Hatta, K. **Development, Growth and Differentiation** 54, 202-215 (2012).

(23) The ciliary protein Nek8/Nphp9 acts downstream of Inv/Nphp2 during pronephros morphogenesis and left-right establishment in zebrafish. Fukui, H., Shiba, D., Asakawa, K., Kawakami, K., and Yokoyama, T. **FEBS Letter** 586, 2273-2279 (2012).

(24) A zebrafish model of intrahepatic cholangiocarcinoma by dual expression of hepatitis B virus X and hepatitis C virus core protein in liver. Liu, W., Chen, J.R., Hsu, C.H., Li, Y.H., Chen, Y.M., Lin, C.Y., Huang, S.J., Chang, Z.K., Chen, Y.C., Lin, C.H., Gong, H.Y., Lin, C.C., Kawakami, K., and Wu, J.L. **Hepatology** 56, 2268-2276 (2012).

(25) Mechanism of pectoral fin outgrowth in zebrafish development. Yano, T., Abe, G., Yokoyama, H., Kawakami, K., and Tamura, K. **Development** 139, 2916-2925 (2012).

(26) Visualization and exploration of Tcf/Lef function using a highly responsive Wnt/ -catenin signaling-reporter transgenic zebrafish. Shimizu, N., Kawakami, K., and Ishitani, T. **Developmental Biology** 370, 71-85 (2012).

(27) Targeted expression of a chimeric channelrhodopsin in zebrafish under regulation of Gal4-UAS system. Umeda, K., Shoji, W., Sakai, S., Muto, A., Kawakami, K., Ishizuka, T., and Yawo, H. **Neuroscience Research** 75, 69-75 (2013).

(28) Functional assessment of human coding mutations affecting skin pigmentation using zebrafish. Tsetschlade, Z.R., Canfield, V.A., Ang, K.C., Wentzel, S.M., Reid, K.P., Berg, A.S., Johnson, S.L., Kawakami, K., and Cheng, K.C. **PLoS ONE** 7, e47398 (2012).

(29) Formation of the spinal network in zebrafish determined by domain-specific Pax genes. Ikenaga, T., Urban, J.M., Gebhart, N., Hatta, K., Kawakami, K., and Ono, F. **Journal of Comparative Neurology** 519, 1562-1579 (2011).

(30) Ectopic expression of cone-specific G protein-coupled receptor kinase GRK7 in zebrafish rods leads to lower photosensitivity and altered responses. Vogalis, F., Shiraki, T., Kojima, D., Wada, Y., Nishiwaki, Y., Jarvinen, J.L., Sugiyama, J., Kawakami, K., Masai, I., Kawamura, S., Fukada, Y., and Lamb, T.D. **J Physiology** 589, 2321-2348 (2011).

(31) Generating libraries of iTol2-end insertions at BAC ends using loxP and lox511 Tn10 transposons. Shakes, L.A., Abe, G., Eltayeb, M.A., Wolf, H.M., Kawakami, K., and Chatterjee, P.K. **BMC Genomics** 12, 351 (2011).

(32) Migration of neuronal precursors from the telencephalic ventricular zone into the olfactory bulb in adult zebrafish. Kishimoto, N., Alfaro-Cervello, C., Shimizu, K., Asakawa, K., Urasaki, A., Nonaka, S., Kawakami, K., Garcia-Verdugo, J.M., and Sawamoto, K. **Journal of Comparative Neurology** 519, 3549-3565 (2011).

(33) Imaging functional neural circuits in zebrafish with a new GCaMP and the Gal4FF-UAS system. Muto, A., and Kawakami, K. **Communicative & Integrative Biology** 4, 566-568 (2011).

(34) Neuron and sensory epithelial cell fate is sequentially determined by Notch signaling in zebrafish lateral line Development. Mizoguchi, T., Togawa, S., Kawakami, K., and Itoh, M. **Journal of Neuroscience** 31, 15522-15530 (2011).

(35) Transposon-mediated BAC transgenesis in zebrafish. Suster, M.L., Abe, G., Schouw, A., and Kawakami, K. **Nature Protocols** 6, 1998-2021 (2011).

[学会発表] (計 171 件から 21 件を抜粋)

(1) Genetic dissection of the zebrafish brain by the Gal4-UAS approach. Kawakami, K. 7th Model Organism Symposium. Daejeon, Korea. 2014.12.12. (招待講演).

(2) Genetic dissection of the zebrafish brain by the Gal4-UAS approach. Kawakami, K. The 3rd Imaging Structure & Function in the Zebrafish Brain Symposium. Paris. 2014.12.4. (招待講演).

(3) Genetic dissection of the zebrafish brain by the Gal4-UAS approach. Kawakami, K. Cold Spring Harbor Asia Meeting: Genetics, Genomics & Phenomics of Fish. 蘇州. 2014.10.20. (招待講演).

(4) The *Tol2* transposon technology and its applications in zebrafish. Kawakami, K. 12th Transgenic Technology Meeting: Zebrafish workshop. Edinburgh. 2014.10.9. (招待講演).

(5) The *Tol2* transposon technology in vertebrates. Kawakami, K. 12th Transgenic Technology Meeting by International Society for Transgenic Technologies. Edinburgh. 2014.10.6. (招待講演).

(6) The Gal4 driver transgenic resource for developmental biology and neuroscience.

Kawakami, K. ZDM7: Zebrafish Disease Models Conference. Madison. 2014.6.28. (招待講演).

(7) A Gal4 driver transgenic fish resource for developmental biology and neuroscience. Kawakami, K. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Cell Biology. 奈良. 2014.6.11. (招待講演).

(8) Genetic dissection of the adult zebrafish brain. Kawakami, K. The 3rd European Zebrafish Principle Investigator Meeting. Ein-Gedi, Israel. 2014.3.30. (招待講演).

(9) Genetic dissection of the adult zebrafish brain by the Gal4-UAS method. Kawakami, K. 6th Asia Oceania Zebrafish Meeting. 香港. 2014.1.19. (招待講演).

(10) Genetic dissection of the adult zebrafish brain by the Gal4-UAS method. Kawakami, K., Lal, P., and Itoh, M. The 36th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. Kobe. 2013.12.3. (招待講演).

(11) ZeBrain: A database of the Gal4 expression patterns in the adult zebrafish brain. Kawakami, K. Janelia workshop on zebrafish genetics, transgenesis, and systems biology. Virginia. 2013.11.4. (招待講演).

(12) A Gal4 driver resource in zebrafish. Kawakami, K. Zebrafish Disease Models 6. Murcia. 2013.7.14. (招待講演).

(13) A Gal4 driver resource for developmental biology and neuroscience in zebrafish. Kawakami, K., Ailani, D., Asakawa, K., Tanabe, H., Lal, P., Miller, A.S., Muto, A., Wada, H., and Yoshino, A. 8th European Zebrafish Meeting. Barcelona. 2013.7.9. (招待講演).

(14) Genetic dissection of the adult zebrafish brain by the Gal4-UAS method. Kawakami, K., Pradeep, L., Hiratani, M. Imaging Structure and Function in the Zebrafish Brain. London. 2012.12.7. (招待講演).

(15) Tol2-mediated transgenesis, gene trapping, enhancer trapping and Gal4-UAS methods. Kawakami, K. Janelia workshop on zebrafish genetics, transgenesis, and systems biology. Virginia. 2012.11.1. (招待講演).

(16) The transposon-mediated genetic methods in zebrafish and their application to the study of functional neural circuits. Kawakami, K. Asia-Pacific Developmental Biology Conference 2012. 台北. 2012.10.5. (招待講演).

(17) The transposon-mediated genetic methods in zebrafish and their application to the study of functional neural circuits: transgenic tools for calcium imaging. Kawakami, K. 2012 Cold Spring Harbor Asia Conference Zebrafish Disease Models. 蘇州. 2012.4.16. (招待講演).

(18) トランスポゾンを用いた遺伝子トラップ法による脳機能の遺伝学的解剖. 川上浩一, 阿部玄武, 浅川和秀, 福田隆一, Lal Pradeep, 武藤彩, 中井淳一. 第34回日本神経科学大会. 横浜. 2011.9.14. (招待講演).

(19) The Tol2-mediated Gal4-UAS method in zebrafish and its application to studies of functional neural circuits. Kawakami, K. The 5th Asia-Oceania Zebrafish Meeting. 北京. 2011.8.26. (招待講演).

(20) The transposon-mediated Gal4-UAS method in zebrafish and calcium imaging with an improved GCaMP. Kawakami, K. **Zebrafish Disease Models 4**. Edinburgh. 2011.7.9. (招待講演).

(21) zTrap and NIGKOF: the databases for Tol2-mediated gene trap/enhancer trap lines and gene-knockout fish lines. Kawakami, K. Conference on genome engineering 2011. Singapore. 2011.6.20. (招待講演).

〔図書〕(計2件)

(1) HOT PRESS: ゼブラフィッシュを用いた脳神経活動のリアルタイムイメージング. 武藤彩, 川上浩一, 細胞工学(秀潤社)32巻, 700-701頁, 2013年.

(2) トランスジェニックフィッシュが拓く新しい生物学. 川上浩一, 細胞工学(秀潤社)32巻, 898-913頁, 2013年.

〔産業財産権〕

取得状況(計1件)

名称: 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

権利者: 大学共同利用機関法人情報・システム研究機構

種類: 特許

番号: 特許第5527684号

出願年月日: 平成23年4月1日

取得年月日: 平成26年4月25日

国内外の別: 国内

〔その他〕

データベース(プログラムの改訂、新規データのアーカイブ)

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川上 浩一(国立遺伝学研究所)

研究者番号: 70195048

(2) 以下、連携研究者

瀬原淳子(京都大学): 60209038

小椋利彦(東北大学): 60273851

日比正彦(名古屋大): 40273627

澤本和延(名古屋市立大): 90282350

田村宏治(東北大学): 70261550

石谷 太(九州大学): 40448428

吉原 良浩(理研BSI): 20220717

平田 普三(国立遺伝学研究所): 60402450

和田 浩則(JST さきがけ): 70322708

政井 一郎(沖縄科技研機構): 50242087

高島 成二(大阪大学): 90379272

伊藤 素行(名古屋大学): 20377906