様　式　C－19、F－19、Z－19　(共通)

科研費 KAKENHI

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 28 年　 5 月 19 日現在

機関番号：10101
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2012～2015
課題番号：24380101

研究課題名（和文）再生鱗をモデルとしたコラーゲン配向機構の解明－魚コラーゲンから生体修復材料を造る

研究課題名（英文）Studies on the function of non-collagenous proteins contained in the goldfish scales on the regulation of collagen fibril diameter and alignment.

研究代表者
都木　靖彰（Takagi, Yasuaki）

北海道大学・水産科学研究科（研究院）・教授

研究者番号：10212002

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　13,700,000円

研究成果の概要（和文）：配向性の高いコラーゲンを豊富に含み再生能の高い鱗をモデルとして，非コラーゲン性基質タンパク質（NCP）が魚類コラーゲン原線維の太さや配向におよぼす機能を解析した。各種NCPのクローニング，発現解析，モルフォリノノックダウン，リコンビナントタンパク質の合成とそれを用いた抗体作成および免疫組織化学解析による機能解析と，リコンビナントとコラーゲンをハイブリッド化させた新規材料の合成に成功した。今後，このようなハイブリッド材料の生体修復材料としての機能性を調べる必要がある。

研究成果の概要（英文）：I conducted comprehensive cDNA cloning of SLRPs in zebrafish and goldfish, and 10 new sequences were deposited to the database (DDBJ). Then, spatiotemporal expressions of mRNAs of decorin (dcn), biglycan (bgn), chondroadherin (chad), lumican (lum), osteoglycin (ogn) and dermatopontin (dpt) were clarified. In addition, recombinant proteins of Dcn, Bgn and Dpt and their specific antibodies were produced, and immunohistochemical localizations of these proteins were clarified. Hybrid gel made of recombinant Dpt and type I collagen was developed. Moreover, dpt-knock down experiment revealed that Dpt regulated m RNA expressions, fibril diameter and alignment of both type I and type II collagens in zebrafish. All these data are new to science, and the present results opened the possibility of new hybrid scaffolds consisted of collagen fibrils and SLRPs/Dpt.

研究分野：魚類生理学

キーワード：魚類コラーゲン　非コラーゲン性基質タンパク質　SLRPs　デルマトポンチン　組織工学　生物材料・バイオマテリアル　細胞足場材料

１．研究開始当初の背景

(1) 生体修復材料とコラーゲン線維配向制御の重要性

再生医療の主要な手法である組織工学では，「幹細胞」「細胞の足場となる人工基材」「細胞の増殖・分化を調整する成長因子」の 3 つを組み合わせて損傷組織を再生するとされてきた。生体内の細胞は細胞膜表面レセプターであるインテグリンを通してコラーゲン（生体内において細胞の足場となる基材）と結合し,様々な情報を直接受容することで,その増殖や分化，機能発現が調節されている。そのため，コラーゲンを原料として合成した人工足場材料（生体修復材料）は，単に物理的に細胞を支えるのみならず，積極的に細胞の増殖や分化を活性化し，組織修復を促進する可能性がある。

(2) 生体修復材料としての魚コラーゲンの有用性

魚類は BSE をはじめとする人獣共通感染症の心配が極めて低く，宗教上の問題がないことから，魚類コラーゲンは極めて有用な生体修復材料の原料候補である。

われわれのグループでは魚コラーゲンを用いた生体修復材料を実用化するプロジェクトを世界に先駆けて開始し，ブタコラーゲンと比べて魚コラーゲンでは①線維化能が高く材料合成に適している，②線維化した材料は細胞との親和性が高く，細胞増殖を促進し，骨芽細胞への初期分化を強く促す，③ウサギへの埋植実験では骨欠損治癒が早い，こと等を発見した。

(3) 魚類コラーゲンの生体修復材料への応用が水産業に与えるインパクト

当グループによる市場調査では，医療用コラーゲンは約 25 万円/g の価値がある。たとえば，ティラピア 1 尾の鱗から 1 g 以上のコラーゲンが採取可能なので，その価値は 1 尾 25 万円以上となるため，これまで廃棄されていた魚の皮膚や鱗のコラーゲンを様々な形で製品化できれば，新規産業として「マリンコラーゲン産業」の確立も期待できる。これが実現すれば，水産業におよぼすインパクトは極めて大きい。さらに，マリンコラーゲン産業にはトレーサビリティの保証された魚の確保と加工業者との連携が将来的には必要不可欠であり，マリンコラーゲン産業と養殖・加工産業とが有機的に連携した，収益性の高い新規高度水産業を発展させることも十分可能である。

２．研究の目的

生体の各組織は特有のコラーゲン線維径や配向などの高次構造を持つが，それを制御するのは非コラーゲン性基質タンパク質（NCP）である。細胞はコラーゲン線維の高次構造を認識して情報を受容するため，再生したい組織に特有のコラーゲン高次構造を再現した生体修復材料は高い機能性を持つものと期待される。

以上のことから，水産廃棄物である魚コラーゲンを有効利用し，魚コラーゲンと NCP とをハイブリッド化することにより，コラーゲン線維の高次構造を制御した生体修復材料を開発することをプロジェクトの最終ゴールとし，本申請課題では，魚類生体内で配向性制御に関与する各種 NCP の cDNA クローニングと発現解析，リコンビナントタンパク質作成と抗体作成，免疫組織化学的手法による局在解析，モルフォリノノックダウン法による機能解析をおこなった。

３．研究の方法

本研究では魚コラーゲンとハイブリッド化させることが期待できる NCP の候補として，Small leucine-rich proteoglycans （以下 SLRPs）と dermatopontin (Dpt)（以下，あわせて SLRPs 等と呼ぶ）の機能を，次に示す 3 実験で解明する。

(1) SLRPs 遺伝子の発現解析と発現抑制実験による機能解析

まず，ゼブラフィッシュ SLRPs 等の cDNA クローニングと発現解析（成体組織・発生段階での発現部位と発現量変化）を徹底的におこなった後に，モルフォリノノックダウン法により発現を阻害し，形成されるコラーゲン線維の径，走行方向の変化を電顕レベルで調べ，SLRPs 等の機能を推定する。

(2) リコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* コラーゲン線維化実験

常法に従ってキンギョ SLRPs のリコンビナントタンパク質を作成した後，キンギョコラーゲンをリコンビナントともに試験管内で線維化させ，SLRPs が線維形成におよぼす効果を明らかにする。線維化速度，線維の太さ，配向性などを測定する。

(3) 免疫組織化学法を用いた鱗内の SLRPs 等の局在解析による機能推定

(2)で作成したリコンビナント SLRPs 等を家兎に免疫し，特異抗体を作成する。その後，光顕・電顕レベルの免疫組織化学により様々な組織の局在を調べる。鱗では太いコラーゲン線維が一定方向に走る層が多数重層しており，しかも各層間でコラーゲンの走行方向が約 90°に交差する（この構造は哺乳類の目の骨・角膜と同等）。SLRPs 等が層内に分布するのか，層間に分布するのかを知ることで，それがコラーゲン線維を一定方向に配向する機能を持つのか，90°方向を変換する機能を持つのかを推定する。

４．研究成果

(1) SLRPs 遺伝子の発現解析と発現抑制実験による機能解析

① cDNA クローニング

以下の 10 種の cDNA を新たにクローニングし，データベースに登録した。網羅的に魚類の SLRPs cDNA をクローニングした研究例は世界で初めてである。また，研究開始当初に予想されたように，多くの SLRPs で複数の

cDNA がクローニングされた。

キンギョ

lumican (*lumB1*, LC129233; *lumB2*, LC129234)

decorin (*dcn1*, AB683867; *dcn2A*, LC015805; *dcn2B*, AB683868)

chondroadherin (*chad1*, LC126616; *chad2*, LC126617)

ゼブラフィッシュ

decorin (*dcnB*, AB906691; *dcnC*, AB906692; *dcnD*, AB906693)

② qPCR を用いた発現解析

ゼブラフィッシュ成魚の発現解析では，*dcn*, biglycan (*bgn*), *chad*, *osteoglicin* (*ogn*) の各組織における発現を比較した。その結果，様々な組織において全般的に *dcn* の発現が高く，その次が *bgn* で，この二種が主要な SLRPs であり，*chad*, *ogn* はマイナーな SLRPs であった（図 1）。

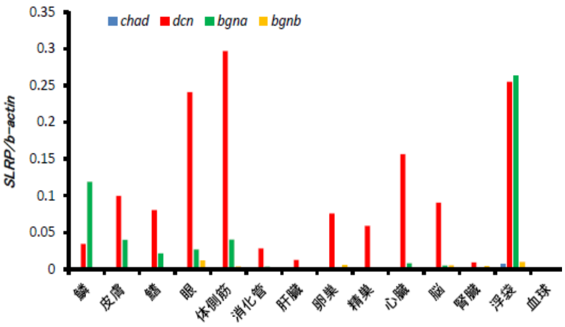

図 1
ゼブラフィッシュにおける SLRPs 等の mRNA 発現量

なかでも，特に皮膚，浮袋といったⅠ型コラーゲンを豊富に含む組織で各 SLRPs の発現が高く，SLRPs がⅠ型コラーゲン線維の高次構造形成と関係が深いことが予想された。また，驚いたことに SLRPs は脳や眼，筋肉においても比較的高い発現が認められた。以下 *in situ* 解析の項に述べるように，脳や眼では神経組織に SLRPs が発現していることから，SLRPs がゼブラフィッシュの神経の発達・機能に重要な機能を果たすことが示唆された。哺乳類では DCN が神経栄養因子として神経系の発達に重要な機能を果たすことが報告されていることから，このような機能は魚類から哺乳類まで保存されている可能性がある。しかし，SLRPs の神経における研究は少なく，今後の進展に興味がもたれる。

ゼブラフィッシュ仔魚を用いた発現解析では，*dcn*, *bgn*, *chad*, *osuteoglicin* (*ogn*) の孵化 7 日後までの発現量を解析した。その結果，これらの mRNA 発現量は孵化 12 時間後以降発現が顕著に増加し，3〜4 日後にピークを迎えたのち，低下することが明らかになった。発現の高い時期はさまざまな器官の分化が並行して進行する時期であり，SLRPs が器官分化に重要な機能を果たすことが明らかとなった。

キンギョ成魚の各組織を用い，*dcn*, *chad*, *lum* の発現解析をおこなった。ゼブラフィッシュ同様，皮膚，浮袋，鱗など，Ⅰ型コラーゲンを豊富に含む器官でこれらの発現が高い傾向が認められた。キンギョでは，*dcn* がメジャーな SLRPs, *lum* がセカンドメジャー，*chad* がマイナーな SLRPs であり，その傾向はゼブラフィッシュと一致していた。また，3 種の SLRPs の発現量から，各器官を以下の 3 つのタイプに分けることができた。1）*dcn* の発現が突出して高い眼，2）*dcn*, *lum* の発現が高い尾びれ，皮膚，体側筋，浮袋，3）*chad* の発現が高い鱗，である。

③ *in situ* hybridization を用いた発現解析

ゼブラフィッシュ *dcn*, *chad*, *dpt* の発現解析をおこなった。

ゼブラフィッシュ成魚においては，皮膚上皮細胞層，網膜の神経節細胞層および双曲細胞層，肝臓，膵臓，中脳の視蓋部分，卵巣の卵成長過程初期の細胞，精巣の精原細胞，背側筋の筋細胞に *dcn* の明らかな発現が認められた。*chad* の発現は，成魚では皮膚，眼，端脳，腸，肝臓，雌雄生殖腺に認められた。また，仔魚では，成魚で発現が認められて組織に加えて，膵臓，咽頭軟骨，脊索，体側筋，卵黄嚢で *chad* の発現が認められた。特に細胞の増殖・成長の活性が高い仔魚期に *chad* mRNA が高発現していることから，細胞の増殖および成長を *chad* が制御している可能性が示された。*dermatopontin* (*dpt*) の発現を調べたところ，*dpt* は表皮，脳，網膜，腎臓のリンパ球，消化管上皮，筋肉，浮袋など，ユビキタスに様々な組織に発現していた。脳や網膜細胞に発現することは哺乳類では報告されておらず，本研究が初めての報告である。

④ モルフォリノノックダウン法を用いた *dpt* の機能解析

光学顕微鏡観察の結果，ノックダウン個体（以下，*dpt*-KD）では，Ⅰ型コラーゲンからなる脊索膜の形成阻害，Ⅱ型コラーゲンからなる軟骨および脊索の発達阻害が起こることから，Dpt がⅠ型，Ⅱ型コラーゲンの形成を促進することが示された。また，*dpt*-KD では，眼の発達阻害（特に網膜細胞の発達阻害），表皮細胞の形態異常，筋肉の発達阻害も顕著であり，*in situ* hybridization で示唆された通り，Dpt が多機能性を持つことが示された。

dpt-KD の TEM 観察をおこなったところⅠ型コラーゲンからなる筋隔膜と脊索膜が消失していることが示された。また，Ⅰ型コラーゲンからなる真皮は一部で焼失していたが，コラーゲン原線維が存在する部位もあり，形成が不規則になっていた。原線維が観察される部位でもその密度は大きく低下しており，対照個体に認められるコラーゲン原線維の規則正しい走行は認められず，走行方向が不規則になっていた。コラーゲン原線維の太

さには大きな変化は見られなかったものの，原線維周囲に原線維の小断片と思われる電子密度の高い物質が散在していたことから，合成されたⅠ型コラーゲン分子からの原線維形成過程が阻害されている可能性が示された。さらに，*dpt*-KD 個体ではⅠ型コラーゲンの mRNA 発現も低下していた。これらのことから，Dpt はⅠ型コラーゲン分子の mRNA 発現，分子からの原線維形成，原線維配向の各ステップで機能を果たすことが示された。

Ⅱ型コラーゲンからなる脊索では，一部（特に体後部）で脊索の消滅が観察された。脊索が認められる部位では，Ⅱ型コラーゲン原線維の密度が大きく低下し，走行方向が不規則になる異常が認められた。また，Ⅱ型コラーゲン原線維は有意に太くなっていた。さらに，*dpt*-KD 個体ではⅡ型コラーゲンの mRNA 発現も低下していた。これらのことから，Dpt はⅠ型コラーゲンのみならず，Ⅱ型コラーゲン分子の mRNA 発現, 分子からの原線維形成とその太さ調節，原線維配向の各ステップで機能を果たすことが示された。

(2) リコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* コラーゲン線維化実験

① Dpt のリコンビナント合成と線維化実験

大腸菌（OrigamiB 株）と p-cold vector を用いて，常法によりリコンビナントキンギョ Dpt (rgDpt) の可溶体を合成することに成功した。

次に，キンギョの鱗からコラーゲン分子（分子のテロペプチド部分を切断したアテロ化コラーゲン分子）を抽出・精製した。コ

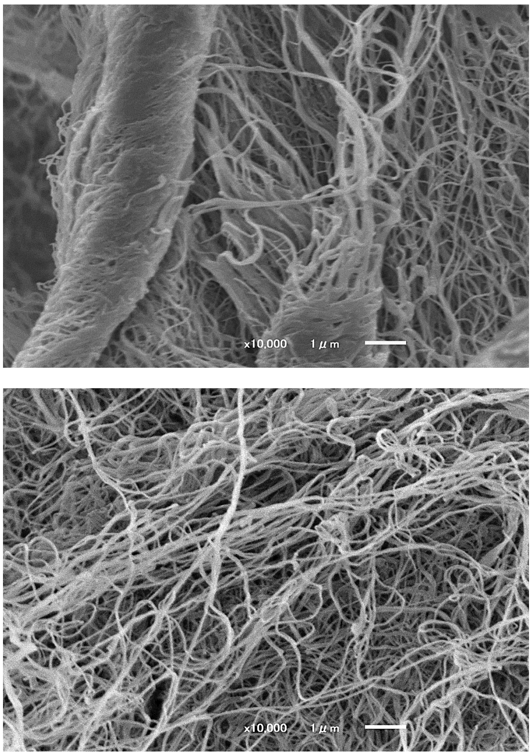

図 2

Dpt 0 μg/ml（上図）および 50 μg/ml（下図）添加環境下で形成されるキンギョⅠ型コラーゲン原線維の比較

ラーゲン溶液（0.3%となるようコラーゲン分子を pH 3 の希塩酸溶液に溶解したもの）を準備し，Zhang et al, Food Chem 160: 305-312, 2014 の方法に従ってコラーゲン原線維形成実験をおこない, rgDpt 添加の効果を調べた。その結果，rgDpt がキンギョ鱗コラーゲンの原線維形成速度を促進することが示された。さらに, 形成されたコラーゲン原線維を SEM で観察したところ，rgDpt 無添加の場合にはコラーゲン原線維が集合し，太い線維様の構造物を形成しているのに対し，rgDpt を添加すると線維様の構造物が形成されていなかった（図 2)。生体内では，コラーゲン原線維（直径 10～300 nm）が集合し, 直径 0.5～3 μm のコラーゲン線維を形成する場合がある。本実験で認められた線維様構造物はコラーゲン原線維からコラーゲン線維が形成される過程が *in vitro* で再現されたものと思われるが,本実験の結果は Dpt がコラーゲン原線維形成を促進するとともに，太いコラーゲン線維の形成は阻害する機能を持つことを示唆するものである。

② キンギョ Dcn, Bgn, Chad のリコンビナントタンパク質合成

これら SLRPs のリコンビナントタンパク質合成を上述の大腸菌を用いた方法で試みたところ，良好な発現が認められ，精製も可能であった。しかし，それを可溶化することができなかった。そこで，不溶体のまま，精製物をウサギに免疫し，特異抗体を得た。特異抗体は C 項に述べる免疫組織化学的解析に用いた。

次に，*Brevibacillus* を用いる系で，キンギョリコンビナント Bgn (rgBgn) の可溶体の合成を試みた。この系では，合成されたリコンビナントタンパク質は培養液中に可溶体として分泌される。キットの説明書に従い, Bgn を発現させたところ，培養上清 Bgn が分泌されることを確認した。HIs-tag 精製カラムを用いて培養上清に分泌された rgBgn を精製し，1 回の培養で約 1 mg の精製物を得ることに成功した。今後の実験に十分な量の Bgn の合成に成功したといえる。

同様に *Brevibacillus* を用いる系で，キンギョリコンビナント Chad (rgChad) の合成を試みた。しかしながら, Chad はこの方法では全く発現が認められず，可溶体の Chad の合成はできなかった。今後，昆虫細胞を用いる系など，別の方法を用いる必要がある。

(3) 免疫組織化学法を用いた鱗内の SLRPs 等の局在解析による機能推定

① キンギョ組織における Dcn の局在

B 項で作成した抗体を用いて，免疫組織化学的手法を用いてキンギョ組織における Dcn の局在解析をおこなった。

その結果，Ⅰ型コラーゲンを含む真皮，筋隔膜，および角膜実質層に陽性反応を認めたことから，これら組織では Dcn とⅠ型コラー

ゲン原線維が共在することが示された。
また，表皮組織では上皮細胞と棍棒細胞，粘液細胞，基底膜に陽性反応が観察された。また，角膜上皮組織では上皮細胞とボーマン層に陽性反応が認められた。これらのことから，Dcn は上皮細胞や基底膜に局在することが示唆された。
一方，網膜においては，内網状層の神経節細胞，内顆粒層のアマクリン細胞，双極細胞および水平細胞，外顆粒層のミューラー細胞，外顆粒において明らかな陽性反応が認められた。しかし，桿体や椎体には反応は認められなかった。

② キンギョ鱗再生過程における Dcn および Bgn の局在
鱗における SLRPs の局在を調べる目的で，鱗再生過程における Dcn, Bgn の局在を解析した。再生鱗は正常鱗に比べると厚さが薄く，パラフィンを用いて薄切しやすいという特徴を持つ。また，Ｉ型コラーゲンや SLRPs を含む鱗基質を急速に分泌するため，鱗細胞が活性化して大型化しており，鱗細胞における SLRPs の局在を調べやすい。
その結果，以下に説明するように，鱗形成細胞は Bgn 陽性細胞であることが示された。
1) 再生初期－鱗再生細胞と前鱗再生細胞：再生 3，5 日後に海綿層の緻密層近くに大型の球状の形態をもつBgn陽性細胞の集合体が現れた。その形態と出現のタイミングから，これらの細胞は Ohira et al, Fish Sci 73: 46-54 (2007) が報告した再生鱗を形成する細胞，すなわち鱗再生細胞であると考えられた。再生鱗ではまず骨質層が形成されるため，これらの細胞が分泌しているのは骨質層であると考えられる。鱗再生細胞の集団の隣には，鱗再生細胞より扁平で，紡錘形の細胞の集合体が認められ，これらの細胞も Bgn 陽性であった。その形態と細胞の配置から，これらの細胞が活性化すると鱗再生細胞になるものと思われた。このことから，これらの扁平な紡錘形の細胞は前鱗再生細胞であると考えられた。
2) 再生中期～後期－周辺細胞，外層細胞，内層細胞：再生 7 日後以降，鱗再生細胞の分化がさらに進み，鱗周辺で骨質層を形成する周辺細胞，鱗外層で骨質層に付着し骨質層の形成や代謝にかかわる外層細胞，鱗内層の線維層板に付着し線維層板の形成にかかわる内層細胞の 3 種類が認められるようになった。これらすべての細胞は Bgn 陽性であった。
また，鱗を再生する細胞は，再生初期には真皮緻密層再外層のscale-pocket lining cellsを起源とし，その後，表皮細胞層近くと内層細胞直下の海綿層の小型細胞を起源とするものと考えられた。
Dcn 陽性細胞は，Bgn 陽性細胞とほぼ同じ位置に認められた。細胞が小さく，隣接切片を用いた免疫化学染色によっても，同じ細胞がBgnとDcnに陽性かどうかは断定できないが，鱗再生に関与する細胞は両者に陽性である可能性が高いものと考える。このことから，Bgn, Dcn 両方が鱗再生に強くか関与するものと推測された。
以上のように，鱗再生にかかわる細胞には陽性反応が認められ，これを指標とすることで鱗再生細胞の起源を解明することができた。しかしながら，鱗の基質においては，骨質層，線維層板ともに，Bgn, Dcn の反応は確認できなかった。これは，線維層板から質量分析により Bgn が検出される事実と異なる。鱗基質中の SLRPs の検出には今後の注意深い解析が必要である。

以上のように，本研究ではゼブラフィッシュおよびキンギョを材料として，SLRPs 等の cDNA クローニングを世界に先駆けて網羅的におこなうとともに，qPCR および *in situ* hybridization 法による発現解析と免疫組織化学法によるタンパク質の局在解析おこなうことで，*dcn, bgn, chad, ogn, dpt* の構造と，これらがどのような組織でどの程度発現するかを網羅的に明らかにすることができた。このような非コラーゲン性の基質タンパク質に関する網羅的なデータ集積は魚類ではおこなわれておらず，本研究が世界に先駆けて成功したものである。また，dpt のモルフォリノノックダウン法による詳細な解析から，dpt がＩ型，Ⅱ型コラーゲンの原線維径や配向を制御すること，Ｉ型，Ⅱ型コラーゲン mRNA の発現を促進することなど，その機能を世界に先駆けて明らかにすることができた。Dpt, Bgn は可溶体のリコンビナントタンパク質を得ることに成功したので，引き続き研究をおこなうことで，これら非コラーゲン性基質タンパク質（NCP）とＩ型コラーゲンとをハイブリッド化したコラーゲンゲルを作成できれば，本プロジェクトの最終ゴールである水産廃棄物である魚コラーゲンを有効利用し，コラーゲン線維の高次構造を制御した生体修復材料を開発することが可能になるものと思われる。

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 5 件）

1. Komatsu N, Ogawa N, Iimura K, Ura K, and Takagi Y (2014) Identification, cDNA cloning, and expression analysis of dermatopontin in the goldfish *Carassius auratus*. Fish. Sci., 80: 1249-1256, DOI 10.1007/s12562-014-0814-y（査読あり）
2. Tan Y, Iimura K, Sato T, Ura K, and Takagi Y (2013) Spatiotemporal expression of the dermatopontin gene in zebrafish *Danio rerio*. Gene, 516: 277-284, DOI: 10.1016/j.gene.2012.11.074 （査読あり）

〔学会発表〕（計 29 件）

1. 石川弘希°・原島あずさ・日下哲佑・道辰麻生・東典子・浦和寛・<u>都木靖彰</u> (2016) 魚類コラーゲンの線維化制御に関与する分子の研究－9　キンギョにおけるルミカンの発現解析．平成 28 年度日本水産学会春季大会，東京都，港区，東京海洋大学品川キャンパス，2016 年 3 月 26～30 日，口頭発表.
2. 原島あずさ°・日下哲佑・道辰麻生・吉岡純矢・東 典子・浦 和寛・<u>都木靖彰</u> (2015) 魚類コラーゲンの線維化制御に関与する分子に関する研究 - 7　キンギョにおけるコンドロアドヘリンの発現解析．平成 27 年度日本水産学会春季大会，東京都，港区，東京海洋大学品川キャンパス，2015 年 3 月 27～31 日，口頭発表.
3. 道辰麻生°・石本伸・太田遼佑・東 典子・浦 和寛・<u>都木靖彰</u> (2015) 魚類コラーゲンの線維化制御に関与する分子に関する研究 - 8　キンギョにおけるデコリンの局在解析．平成 27 年度日本水産学会春季大会，東京都，港区，東京海洋大学品川キャンパス，2015 年 3 月 27～31 日，ポスター発表.
4. 太田遼佑°・檀永凱・東典子・浦和寛・<u>都木靖彰</u> (2014) 魚類コラーゲンの線維化制御に関する研究-6 ゼブラフィッシュデルマトポンチンがコラーゲン細線維形成に与える影響．平成 26 年度日本水産学会秋季大会，福岡県，福岡市，九州大学箱崎キャンパス，2014 年 9 月 19～22 日，口頭発表.
5. 石本伸°・小田部領太・東典子・浦和寛・<u>都木靖彰</u> (2014)　キンギョのリコンビナントビグリカンの合成とその抗体作製．平成26年度日本水産学会秋季大会，福岡県，福岡市，九州大学箱崎キャンパス，2014年9月19～22日，ポスター発表.
6. 張曦°・東典子・浦和寛・足立伸次・<u>都木靖彰</u> (2014)　医療利用に向けたチョウザメコラーゲン細線維の性状解析．平成 26 年度日本水産学会秋季大会，福岡県，福岡市，九州大学箱崎キャンパス，2014 年 9 月 19～22 日，口頭発表.
7. 日下哲佑°・高輪めぐみ・東典子・浦和寛・<u>都木靖彰</u> (2014)　魚類コラーゲンの線維化制御に関する研究-5 ゼブラフィッシュにおけるコンドロアドヘリンの発現解析．平成 26 年度日本水産学会春季大会，北海道，函館市，北海道大学函館キャンパス，2014 年 3 月 27～31 日，口頭発表.
8. 道辰麻生°・高輪めぐみ・藤澤佳乃子・土生雅哉・浦和寛・<u>都木靖彰</u> (2013)　魚類コラーゲンの線維化制御に関する研究-1　キンギョにおけるデコリンの発現解析．平成 25 年度日本水産学会秋季大会，三重県，津市，三重大学，2013 年 9 月 19～22 日，口頭発表.
9. 高輪めぐみ°・飯村九林・檀永凱・藤澤佳乃子・土生雅哉・晴山美奈子・浦和寛・<u>都木靖彰</u> (2013)　魚類コラーゲンの線維化制御に関する研究-2　ゼブラフィッシュにおけるデコリンの発現解析．平成 25 年度日本水産学会秋季大会，三重県，津市, 三重大学, 2013 年 9 月 19～22 日，口頭発表.
10. 藤澤佳乃子°・飯村九林・檀永凱・高輪めぐみ・土生雅哉・晴山美奈子・浦和寛・<u>都木靖彰</u> (2013)　魚類コラーゲンの線維化制御に関する研究-3．ゼブラフィッシュにおけるオステオグリシンの発現解析．平成 25 年度日本水産学会秋季大会，三重県，津市，三重大学，2013 年 9 月 19～22 日，口頭発表.
11. 晴山美奈子°・檀永凱・高輪めぐみ・藤澤佳乃子・土生雅哉・浦和寛・<u>都木靖彰</u> (2013)　魚類コラーゲンの線維化制御に関する研究-4．ゼブラフィッシュにおけるビグリカンの発現解析．平成 25 年度日本水産学会秋季大会，三重県，津市，三重大学，2013 年 9 月 19～22 日，口頭発表.
12. Zhang X, Ura K, Adachi S, and <u>Takagi Y</u> (2013) Biochemical characterization and assessment of fibril-forming ability of sturgeon collagens - potential new products for food, cosmetics and medical industries. The 7th International Symposium on Sturgeon, Nanaimo, Canada, July 21-25, 2013, Oral presentation.
13. Tan Y, Ura K and <u>Takagi Y</u> (2013) A central function for dermatopontin during skeletal muscle, epidermis development and vertebrate convergent extension. The 5th Strategic Conference of Zebrafish Investigators, January 19-23, 2013, Pacific Grove, CA, USA, Poster presentation.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕
出願状況（計 0 件）

６．研究組織
(1) 研究代表者
都木　靖彰（TAKAGI, Yasuaki）
北海道大学・大学院水産科学研究院・教授
研究者番号：10212002

(2)研究分担者　なし

(3)連携研究者　なし