

国立遺伝学研究所 所長・教授

堀田 凱樹

「神経系形成における Glial cells missing 遺伝子の機能」

## 1. 研究実施の概要

### 研究実施の背景

ショウジョウバエ胚は（ヒトと同様に）体節構造をしており、その神経系は各体節の片側（半体節と呼ぶ）にある約 30 個の神経幹細胞から生じる。神経幹細胞から神経系が構築される過程では Notch と Delta などの遺伝子と一群の neurogenic 遺伝子群が重要であることが知られている。30 個の神経幹細胞はその位置と分化順序とによって個別に番号づけされている。これまでに約 20 個の遺伝子についてその発現の有無が個々の神経芽細胞についてカタログされているが、その結果だけを見てもすべての神経幹細胞がユニークな遺伝子の組合せを発現していることが分かっている。各神経幹細胞は不等分裂しながらニューロンとグリアとを生み出す。その細胞系譜の一部はかなり詳しく解析されており、その特定の段階でグリア細胞が形成される。胚神経系が完成したとき、半体節あたり約 300 個の神経細胞と約 30 個のグリア細胞が存在する。

われわれは分子生物学技術と発生生物学技術を駆使できるこのショウジョウバエの脳神経系を用い、ニューロンとグリアの分化機構および神経回路形成の分子機構を明らかにする目的で、エンハンサートラップ法を用いて脳神経系に異常を起こす多数の突然変異を分離する研究を行ってきた。その過程でわれわれは、共通の神経上皮母細胞からグリアとニューロン（神経細胞）とが分化する際のスイッチ遺伝子 *gcm* (glial cells missing) を発見した。この遺伝子を欠損する突然変異体では中枢神経系および末梢神経系のほとんどすべてのグリア細胞がニューロンとなって軸索を伸ばすようになる。また GAL4-UAS 遺伝子導入法によってすべての神経幹細胞でこの遺伝子が発現させるとすべてのニューロンがグリア細胞型の遺伝子発現をするようになることを証明した。したがって *gcm* 遺伝子はニューロン・グリア間の分化運命を決定する binary switch 遺伝子であり、ニューロンとグリアとが共通の母細胞に由来することをも確実に証明したといえる。単に細胞分化に必要な遺伝子というのではなく、このように細胞の運命決定を明確に決定するスイッチ遺伝子はまだほとんど知られておらず、本研究によってその分子機構の詳細を明らかにすることができたことは大きな成果であったと考えている。しかもこのような際だった特徴をもつ遺伝子がこれまでに知られていない新規の転写調節因子をコードしていることを見いだした。さらに *gcm* とほとんど同じ DNA 結合領域をもつ“*gcm* ファミリー”遺伝子がヒト・マウス・ニワトリ・ゼブラフィッシュ・プラナリアなど生物界に広く存在すること、それらが神経系や血球産生系の細胞運命決定や細胞分化に重要な役割を担っていることも本研究で明らかになった大きな成果である。

以下に協力研究グループごとにその研究概要を述べる。

### 堀田・広海 グループ

*gcm* 遺伝子産物タンパク質 (GCM) には DNA 認識結合部位 (*gcm*-motif) が存在し、[5' (A/G)CCCGCAT 3'] の 8 塩基列を認識して結合することを明らかにした。さらにこの配列が

gcm によって強く誘導される標的遺伝子 repo 遺伝子上流に 10 個タンデムに並んで存在することを明らかにした。次に神経系以外で gcm を発現させた結果、gcm 遺伝子は神経系以外でも強い細胞運命転換機能を持つことが明らかにした。

次に、gcm の時間的・空間的発現パターンとグリア・ニューロン分化の関係を個々の神経幹細胞の各細胞分裂を同定しながら解析し、ニューロンとグリアとの運命が分岐する細胞分裂時にグリア側の娘細胞でのみ GCM が発現することを証明した。

gcm 遺伝子の発現調節機構に関しては、さまざまな neurogenic 遺伝子突然変異体における gcm 発現パターンを解析した結果、少なくとも一部の神経幹細胞由来のグリアでは Notch および Pros の下流に位置していることを示す結果が得られた。この解析には細胞密度が高い中枢神経系よりも末梢神経系が適していることが明らかとなったので、現在、胚および成虫の末梢ニューロンとグリアの分化と Notch シグナル伝達系との関連を解析中である。

gcm 突然変異体の胚期神経系ではグリアが存在しない。われわれはこの事実を利用して神経回路形成におけるグリア細胞の役割について解析した。その結果、いわゆる pioneer neuron はグリアの存在しない環境でも正しく軸索路を発見できるが、それに続いて分化する一般のニューロンの軸索は多くの場合正しい路を発見できないことを証明した。またこの研究過程で軸索誘引物質とその受容体 (Netrin と Frazzled) の分子作用機構が教科書的に信じられているのとは異なることを証明することができた。

ショウジョウバエゲノムの解析から、もう一つ類似遺伝子 gcm2 があることを発見しクローニングした。gcm2 は染色体上で gcm の近傍にあるが独立の制御を受けており、神経系では gcm 発現細胞の一部で発現する。また頭部中胚葉血球産生系で発現していることを証明した。gcm が血球系の細胞運命決定にも関与していることは、現在解析中のマウスホモログが血球産生系でも働いているらしいという知見とも関係して今後の重要な研究の焦点となっている。

### 池中・岩崎グループ

マウス gcm 遺伝子の発現パターンを神経系および血球産生系において解析した。マウスにおいては mGcma および mGcmb の 2 個の遺伝子があるが、それらの神経系での発現は必ずしも高くなく、胎盤・肝臓・腎臓・血球系など各所で発現が見られた。ショウジョウバエとは異なりニューロンとグリアの分岐点でのスイッチであるという結論は得られなかったが、神経系細胞分化の細部で分化因子として働いている可能性が示された。研究機関終了間際にノックアウトマウスが得られたので、現在その初期発生における神経系および血球産生系での役割を解析中である。

### 岡本グループ

ゼブラフィッシュの gcm ホモログをクローニングした結果、マウスやヒトとは異なり、

良く保存された gcm モチーフを持つ遺伝子は一個しかないことを示した。その発現パターンを調べた結果、初期胚の腹側に比較的広範囲の発現を証明した。また遺伝子導入法により胚発生期に強制発現することによって、脳のいくつかの重要な遺伝子群の発現が消失すると共に、咽頭弓と鰓弓軟骨の発生異常をおこすことを見いだした。鰓弓軟骨の発生に重要な エンドセリンの発現を調べたところ Endothelin-1 の発現が gcm によって強く誘導されることを明らかにした。一方、神経系の遺伝子発現異常は gcm で誘導されるが、グリアとニューロンとの分化に働いているという証拠は得られず、むしろ否定的な結論となった。これらの結果は、ゼブラフィッシュの gcm 遺伝子は発生過程で細胞分化や細胞運命決定に重要な役割を果たしている可能性が示唆されるが、その機能はショウジョウバエで見られたような神経幹細胞の分化運命スイッチとは異なるものと結論された。

#### 阿形・梅園・百瀬グループ

gcm 遺伝子の進化的な意味をさぐる目的で、プラナリアの gcm 遺伝子をクローニングしてその発現パターンを解析した。その結果、プラナリアの gcm 相同遺伝子は神経系での発現はほとんどなく、むしろ間充織や再生組織で強い発現が見られた。間充織で広範な発現をする遺伝子機能の解析は困難なので、阿形グループは新たにニワトリ胚の研究に着手した。ニワトリ gcm 遺伝子(cGCMa)をクローニングしてその発現パターンを調べたところ、後期胚の神経管での発現が観察されたがショウジョウバエにおけるグリア分化スイッチの様相とは一致しないと考えられた。そこで初期胚神経系で cGCMa を強制発現させたところ、特異的な脳胞の膨大がおき、cGCMa を発現によって細胞の運命決定が解除されたと考えられる現象が見られた。神経と非神経との運命決定に cGCMa が関与している可能性を現在さらに追求している。

#### 森川・清水グループ

GCM-DNA 複合体の X 線結晶構造解析を目的として DNA 結合ドメインの大腸菌発現系を構築した。N 末端コード領域を含む長さの異なる遺伝子を数種類作成し、これらをエンテロカイネース認識配列をリンカーとしてチオレドキシジン遺伝子に接続した。GCM はシステインに富む蛋白質なので安定性に問題があるが、チオレドキシジン融合遺伝子として低温培養大腸菌から安定に回収する方法を確立した。次に DNA 結合活性をゲルシフト法等で調べた結果、融合タンパク質はいずれも発現は良好で DNA 結合を示した。これらをエンテロカイネースで切断した際アミノ酸残基数 243、215 などと長いものは非特異的な切断を生じたが、アミノ酸残基数 189 のものは特異的に切断され、安定なドメインとして得ることができた。またこのドメインは repo 遺伝子上流に特異的に結合した。この機能ドメインを用いて GCM-DNA 複合体の結晶化条件の検討を行っているが、結晶化のために過飽和条件にすると不可逆変化が起きてしまい、研究がこのステップで難航している。

一方では NMR 法による溶液条件での構造解析を行ない、蛋白質主鎖のシグナルの帰属を決

定した。また DNA との相互作用領域の特定に成功した。また亜鉛が結合していることを見だし、その結合している 4 個のシステイン残基を同定できた。現在は NMR 測定の結果から溶液状態での 3 次元構造の決定を行なっている。

## 2. 主な研究成果

### 堀田凱樹グループ

#### 欧文発表

- 1) Akiyama, Y., Hosoya, T., Poole, A. and Hotta, Y.: The gcm-motif; A novel DNA binding motif conserved in Drosophila and mammals, PNAS, 93,14912-14916 (1996)
- 2) Kojima, S., Mishima, M., Mabuchi, I., and Hotta, Y.: A single Drosophila melanogaster myosin light chain kinase gene produces multiple isoforms whose activities are differently regulated. Genes to Cells, 1,855-871 (1996)
- 3) Kikuchi, Y., Segawa, H., Tokumoto, M., Tsubokawa, T., Hotta, Y., Uyemura, K. and Okamoto, H.: Ocular and cerebellar defects in zebrafish induced by overexpression of the LIM domains of the Islet-3 LIM/Homeodomain protein. Neuron, 10, 369-382 (1997)
- 4) Sasamura, T., Kobayashi, T., Kojima, S., Qadota, H., Ohya, Y., Masai, I. and Hotta, Y.: Molecular cloning and characterization of Drosophila genes encoding small GTPase of the rab and rho families, Mol. Gen. Genetics, 254, 486-494 (1997)
- 5) Masai, I., Suzuki, E., Yoon, C.-S., Kohyama, A. and Hotta, Y.: Immunolocalization of Drosophila eye-specific diacylglycerol kinase, rdgA, which is essential for the maintenance of the photoreceptor, J. Neurobiol., 32,486-494 (1997)
- 6) Kohyama-Koganeya, A., Watanabe, M. and Hotta, Y.: Molecular cloning of a diacylglycerol kinase isozyme predominantly expressed in rat retina, FEBS Lett.,409,258-264 (1997)
- 7) Higashijima, S., Okamoto, H., Ueno, N., Hotta, Y. and Eguchi, G.: High-frequency generation of transgenic zebrafish which reliably express GFP in whole muscles or the whole body by using promoters of zebrafish origin, Develop. Biol.,192,289-299 (1997)
- 8) Higashijima, S., Nose, A., Eguchi, G., Hotta, Y. and Okamoto, H.: Mindin/F-Spondin family: Novel ECM proteins expressed in the zebrafish embryonic axis, Develop. Biol., 192,211-227 (1997)
- 9) Akiyama-Oda, Y., Hosoya, T. and Hotta, Y.: Alteration of cell fate by ectopic expression of Drosophila glial cells missing in non-neuronal cells, Dev. Genes & Evol.,208, 578-585 (1998)
- 10) Akiyama-Oda, Y., Hosoya, T. and Hotta, Y.: Asymmetric cell division of thoracic neuroblast 6-4 to bifurcate glial and neuronal lineage in Drosophila, Development,126, 1967-1974 (1999)
- 11) Higashijima, S., Hotta, Y. and Okamoto, H.: Visualization of cranial motor neurons in live transgenic zebrafish expressing green fluorescent protein under the control of the Islet-1 promoter/enhancer, J. Neuroscience, 20, 206-218 (1999)
- 12) Yasuko Akiyama-Oda, Yoshiki Hotta, Shoichiro Tsukita and Hiroki Oda: Distinct mechanisms of triggering glial differentiation in Drosophila thoracic and abdominal neuroblast 6-4, Dev. Biol.,222, 429-439 (2000)
- 13) Yasuko Akiyama-Oda, Yoshiki Hotta, Shoichiro Tsukita and Hiroki Oda: Mechanism glia-neuron cell fate switch in the Drosophila thoracic and neuroblast 6-4, Development,127,3513-3522 (2000)
- 14) Masaki Hiramoto, Yasushi Hiromi and Yoshiki Hotta: The Drosophila Netrin receptor Frazzled, guides axons by controlling Netrin distribution. Nature, 406,886-889 (2000)
- 15) Yoshiki Hotta: Neuron vs. glia cell fate decision in Drosophila: Asymmetric division of neural stem cells with respect to glial cells missing gene (gcm) expression, Neurochemical Res., 25, 988-999 (2000)
- 16) Kaz Takizawa and Yoshiki Hotta: Pathfinding analysis in a glia-less mutant in Drosophila, Dev. Genes Evol.,211, 30-36 (2001)

#### 和文発表・総説

- 1) 細谷俊彦・堀田凱樹：中枢神経系における細胞運命の決定機構、実験医学 14(4)号 特集「神経ネットワーク形成の最前線」526-532 (1996)
- 2) 細谷俊彦・秋山康子・滝沢一永・新田浩史・堀田凱樹：ショウジョウバエのニューロン・グリア間の分化決定遺伝子の発見、M e b i o 1996年6月号 14-21 (1996)
- 3) 細谷俊彦・秋山康子・滝沢一永・新田浩史・堀田凱樹：ニューロン・グリア間の分化決定スイッチ glial cells missing、実験医学 増刊「発生・神経研究の最前線 '96 ~ '97」、上野直人ら編 14(8) 134-140
- 4) 堀田凱樹：神経回路網の形成、脳研究の最前線・遺伝子から知能へ、第10回「大学と科学」公開シンポジウム組織委員会編 (クバプロ) 74-91 (1996)
- 5) 堀田凱樹：ショウジョウバエのニューロン・グリア分化決定遺伝子 gcm、神経化学 35(3) 170-171 (1996)
- 6) 滝沢一永・堀田凱樹：ショウジョウバエ神経系の発生、実験医学 115 (13) 増刊「脳科学の最前線」29-38 (1997)

#### 招待講演・口頭発表

- 1) 細谷俊彦・堀田凱樹：グリア・ニューロン間の分化決定スイッチ g c m とその遺伝子ファミリー、大阪大学蛋白研究所セミナー (1996年7月16 - 17日、吹田)
- 2) 秋山康子・細谷俊彦・堀田凱樹：ショウジョウバエの新たな g c m ホモログの単離、第19回日本分子生物学会年会発表 (1996年8月26 - 30日、札幌)
- 3) 滝沢一永・細谷俊彦・堀田凱樹：神経系形成時におけるグリア細胞の機能、第19回日本分子生物学会年会発表 (1996年8月26 - 30日、札幌)
- 4) 細谷俊彦・堀田凱樹：g c m 遺伝子ファミリーの発見と解析、第19回日本分子生物学会年会シンポジウム講演 (1996年8月26 - 30日、札幌)
- 5) 滝沢一永・細谷俊彦・堀田凱樹：神経軸索走行路決定におけるグリア細胞の機能、第49回日本細胞

- 生物学会大会 (1996年10月23-25日), English Abstract: Function of glial cells in axonal pathfinding in Drosophila, Cell Structure and Function 21(6), 576, 1996.
- 6) 堀田凱樹: 脳と遺伝子、「脳の世紀」第4回シンポジウム(1996年10月2日、東京)
  - 7) 堀田凱樹: ショウジョウバエのニューロン・グリア分化決定遺伝子 gcm、第39回日本神経化学会 Review and Preview Lecture(1996年10月4日、横浜) 抄録: 神経化学 35(3), 170-171 (1996), English Abstract: Molecular analyses of glial cells missing (gcm) gene of Drosophila and its mammalian homologues, Neurochemical Research 22(7), 844 (1997)
  - 8) 堀田凱樹: ショウジョウバエのグリアとニューロンの分化を支配するスイッチ gcm (glial cells missing)、第一回グリア研究会 特別講演(1996年11月2日、大阪)
  - 9) 堀田凱樹: 神経幹細胞からのグリア・ニューロン分化の分子機構 ショウジョウバエ gcm 遺伝子、大阪大学蛋白質研究所セミナー「脳神経細胞工学研究の新展開」(1999年6月10-11日、大阪)
  - 10) 堀田凱樹: ショウジョウバエ glial cells missing 遺伝子の発現とグリア細胞の運命決定、東北大学医学部加齢医学研究所シンポジウム「幹細胞と形態形成」(1999年6月18-19日、仙台)
  - 11) 堀田凱樹: ショウジョウバエ神経幹細胞の分化と遺伝子、第42回日本神経化学会シンポジウム4「神経分化と発達のメカニズム」基調講演(1999年9月16日、広島)[Yoshiki Hotta: Neuron vs. glia cell fate decision in Drosophila: Asymmetric division of neural stem cells with respect to glial cells missing gene (gcm) expression, Neurochemical Research 25 (2000), 988-999]
  - 12) Yoshiki Hotta: Monitoring Cell Fate Decision at a Stem Cell Division: Glia vs. Neuronal Pathway in Drosophila, The 8th International Conference "Peace through Mind/Brain Science & Photonics in the Imaging of Gene Expression" (Feb.2-4, 2000, Hamamatsu)
  - 13) Yoshiki Hotta: Cell fate decision between glia and neuron in Drosophila, The 43rd NIBB International COE Symposium "Mechanisms of Neural Network Formation" (March 15-17, 2000, Okazaki)
  - 14) 堀田凱樹: ショウジョウバエ神経発生における不均等分裂とニューロン・グリア分化、熊本大学発生医学研究センター設立記念講演会(2000年5月19日、熊本)
  - 15) 堀田凱樹: ショウジョウバエ研究の意義 Comparative Genomics の幕開け、CBI学会・CBIMIレニウムシンポジウム招待講演(2000年7月26-28日、東京)
  - 16) 堀田凱樹: ショウジョウバエ神経幹細胞の非対称分裂とグリア・ニューロン分化、第117回日本医学学会シンポジウム「幹細胞と細胞療法」(2000年8月4-6日、箱根)
  - 17) 堀田凱樹: 細胞運命の決定と遺伝子、日本人類遺伝学会シンポジウム「生命高次複雑系の遺伝学」講演(2000年10月25-27日、福岡)
  - 18) Yoshiki Hotta: Cell Fate Switching by gcm: A Novel Transcription Factor, CREST Symposium "Trends in Neuroscience at the Millennium" (Jan. 24-26, 2001, Tokyo)
  - 19) 堀田凱樹: 細胞の運命が決定する瞬間をみる、山梨医科大学医学会公開講演会(2001年2月23日、甲府)

#### 広海 健 グループ 欧文発表

- 1) Butler, S. J., Ray, S. and Hiromi, Y.: klingon, a novel member of the Drosophila Immunoglobulin superfamily, is required for the development of the R7 neuron. Development, 124, 781-792 (1997)
- 2) Ito, K., Awano, W., Suzuki, K., Hiromi, Y., and Yamamoto, D.: The Drosophila mushroom body is a quadruple structure of clonal units each of which contains almost identical set of neurons and glial cells. Development, 124, 761-771 (1997)
- 3) Hacohen, N., Kramer, S., Sutherland, D., Hiromi, Y. and Krasnow, M. A.: Sprouty encodes a novel antagonist of FGF signaling that patterns apical branching of the Drosophila airways. Cell, 92, 253-263 (1998)
- 4) Kramer, S., Okabe, M., Hacohen, N., Krasnow, M. A., and Hiromi, Y.: Sprouty: a common antagonist of FGF and EGF signaling pathways in Drosophila. Development, 126, 2515-2525 (1999)
- 5) Hiramoto, M., Hiromi, Y., Giniger, E. and Hotta, Y.: A Drosophila Netrin receptor, Frazzled, guides axons by controlling the distribution of Netrin. Nature, 406, 886-889 (2000)
- 6) Okabe, M., Imai, T., Kurusu, M., Hiromi, Y. and Okano, H.: Translational repression determines a neuronal potential in Drosophila asymmetric cell division. Nature, 411, 94-98 (2001)

#### 和文発表・総説

- 1) 細谷俊彦・藤岡美輝・Janes J. B.・広海健: ショウジョウバエの Runt, Lozenge による分化制御、蛋白質核酸酵素 45 巻 7-12 (2000)

#### 招待講演・口頭発表

- 1) Hiromi, Y.: Nuclear Events during neuronal determination in the Drosophila Retina, National Institute of Genetics International Symposium on Gene Function to Cell Differentiation (Sep, 1997, Mishima)
- 2) Hosoya, T., Hiromi, Y.: GCM-motif transcription factors and Runt-domain transcription factors in cell-fate determination in the Drosophila blood system, International Workshop on the Runt-domain Transcription Factors (Jul, 2000, Kyoto)
- 3) Hiromi, Y.: Neuronal specification in Drosophila: it's good to be inhibited, The 16th International Symposium in Conjunction with Award of the International Prize for Biology (Nov, 2000, Tokyo)
- 4) Kramer, S., Yamada, T., Hacohen, N., Krasnow, M. A., Hiromi, Y.: Sprouty and Edl, two novel negative

- regulators of neuronal development, Meeting on Neurobiology of Drosophila (Sep, 1997, Cold Spring Harbor)
- 5) Yamada, T., Okabe, M., Hiromi, Y.: Regulation of homeogenetic induction by a novel ets-related factor EDL, 8th Meeting on Neurobiology of Drosophila (Sep, 1999, Cold Spring Harbor)
  - 6) Niwa, N., Okabe, M. and Hiromi, Y.: Relationships between sensory organ formation and positional information in Drosophila imaginal discs, International Symposium "Evolution 2000", Biodiversity in Network of Bioinformation from standpoint of Devo-Evo View (Mar, 2000, Tokyo)
  - 7) Niwa, N., Okabe, M. and Hiromi, Y.: Relationships between organogenesis and positional information in Drosophila imaginal discs, Swiss-Japanese Scientific Seminar., Progress in developmental biology; Development of the nervous system and pattern formation (Mar, 2000, Ascona)
  - 8) Hiromi, Y.: Regulation of homeogenetic induction by Sprouty and EDL, Swiss-Japanese Scientific Seminar., Progress in developmental biology; Development of the nervous system and pattern formation (Mar, 2000 Ascona)
  - 9) Okabe, M.: The relationship between sensory organ identity and positional information. EMBO Workshop "Master Control Genes in Development and Evolution" (Mar, 2000, Ascona)
  - 10) Hiromi, Y.: Mechanism of action of a nuclear receptor, Seven-up. The 12th International Workshop on the Molecular and Developmental Biology of Drosophila (Jun, 2000, Kolymbari)

#### ポスター発表

- 1) Okabe, M. and Okano, H.: Two-step induction of chordotonal organ precursors in Drosophila embryogenesis, 38th Annual Drosophila Research Conference (Apr, 1997, Chicago)
- 2) Hiromi, Y., Kramer, S., Yamada, T., Okabe, M., Hacohen, N. and Krasnow, M. A. : Sprouty and EDL, two novel negative regulators of the DER pathway, 39th Annual Drosophila Research Conference (Apr, 1998, Washington D.C.)
- 3) Tabuchi, T., Yoshikawa, S., Okabe, M., Sawamoto, K. and Okano, H. : Drosophila paired-like homeobox gene expressed in the subsets of developing neurons and epidermis, 39th Annual Drosophila Research Conference (Apr, 1998, Washington D.C.)
- 4) Okabe, M., Yamada, T. and Hiromi, H. : The inhibition of Ras signaling pathway by edl is required for the neural inducing ability of founder cells, 7th European Symposium on Drosophila Neurobiology (Sep, 1998, Coventry)
- 5) Okabe, M., Yamada, T., and Hiromi, Y.: The inhibition of Ras signaling pathway by edl is required for the neural inducing ability of founder cells, 40th Annual Drosophila Research Conference (Mar, 1999, Seattle)
- 6) Yuasa, Y., Okabe, M., Yoshikawa, S., Sawamoto, K., Xiong, W.C., Hiromi, Y., Okano, H.: Molecular dissection of the homeodomain protein REPO, 40th Annual Drosophila Research Conference (Mar, 1999, Seattle)
- 7) Jindra, M., Okabe, M., Hiromi, Y. and Hirose, S.: Mutant analysis of a transcriptional coactivator MBF1, 40th Annual Drosophila Research Conference (Mar, 1999, Seattle)
- 8) Kose, H., West, S., Suzuki, E., Hiromi, Y.: Molecular dissection of conserved orphan receptor, Seven-up, in compound eye formation, 40th Annual Drosophila Research Conference (MAR, 1999, Seattle)
- 9) Hirota, Y., Okabe, M., Imai, T., Kurusu, M., Sawamoto, K., Okano, H.: MSI and SINA downregulate TTK in the differentiation of photoreceptor cells, 16th European Drosophila Research Conference (Sep, 1999, Zurich)
- 10) Yamada, T., Okabe, M. and Hiromi, Y.: Regulation of neural inducing ability by a novel Drosophila cofactor EDL, 41th Annual Drosophila Research Conference (Mar, 2000, Pittsburgh)
- 11) Kose, H., West, S., Suzuki, E., Matsumoto, K., Hiromi, Y.: Functional analysis of a novel protein with SAM/SPM motif, Samuel, 42th Annual Drosophila Research Conference (Mar, 2001, Washington D. C. )
- 12) Iwanami, M., Hiromi, Y.: Regulating the neuronal induction by Argos and Sprouty in the eye development, 42th Annual Drosophila Research Conference (Mar, 2001, Washington D. C. )

#### 池中 一裕・岩崎 靖乃 グループ

##### 欧文発表

- 1) Wada, T., Kagawa, T., Ivanova, A., Zalc, B., Shirasaki, R., Murakami, F., Iemura, S., Ueno, N. and Ikenaka, K. : Dorsal spinal cord inhibits oligodendrocyte development, *Dev. Biol.*, 227, 42-55 (2000)
- 2) Nanmoku, K., Miyao, Y., Tamura, M., Tamura, K., Yoshimatsu, T., Shimizu, K. and Ikenaka, K. : Gene transfer to the nervous system using high-titer retroviral vector, *Mol. Biol. of Hematopoiesis* 6, 37, 299-305 (1999)
- 3) Fujimoto, I., Menon, K.K., Otake, Y., Tanaka, F., Wada, H., Takahashi, H., Tsuji, S., Natsuka, S., Nakakita, S., Hase, S. and Ikenaka, K. : Systematic analysis of N-linked sugar chains from whole tissue employing partial automation, *Analytical Biochemistry*, 267, 336-343 (1999)
- 4) Yamada, M., Ivanova, A., Yamaguchi, Y., Less, M. B. and Ikenaka, K. : Proteolipid protein gene product can be secreted and exhibit biological activity during early development, *J. Neurosci.*, 19, 2143-2151 (1999)
- 5) Iwasaki, Y., Otake, Y., Watanabe, M., Tanaka, K. and Ikenaka, K. : Glutamate transporter (GLAST) as a radial glial marker in the mouse cerebral cortex. in "Neural Development., Keio University Symposia for Life Science and Medicine 2" K. Uyemura, K. Kawamura and T. Yazaki. eds., Springer-Verlag, Tokyo, 345-349 (1999)
- 6) Spassky, N., Goujet-Zalc, C., Parmantier, E., Olivier, C., Martinez, S., Ivanova, A., Ikenaka, K., Macklin, W., Cerruti, I., Zalc, B. and Thomas, J.-L. : Multiple restricted origin of oligodendrocytes. *J. Neurosci.*, 18(20), 8331-8343 (1998),
- 7) Yonemasu, T., Nakahira, K., Okumura, S., Kagawa, T., Espinosa de los Monteros, A., de Vellis, J. and Ikenaka, K. : Proximal promoter region is sufficient to regulate tissue-specific expression of UDP-galactose: Ceramide galactosyltransferase gene *J. Neurosci. Res.*, 52, 757-765 (1998)
- 8) Miyamura, T., Morita, N., Baba, H., Hase, S., Kajimoto, T., Tsuji, S., Kawata, M., Kato, I., Mikoshiba, K. and

- Ikenaka, K. : Metabolic labeling of a subset of glial cells by UDP-galactose: Implication for astrocyte lineage diversity. *J. Neurosci. Res.*,52, 173-183 (1998)
- 9) Yoshimatsu, T., Tamura, M., Kuriyama, S. and Ikenaka, K. : Improvement of retroviral packaging cell lines by introducing the polyomavirus early region. *Human Gene Therapy*,9, 161-172 (1998)
  - 10) Shibata, T., Yamada, K., Watanabe, M., Ikenaka, K., Wada, K., Tanaka, K. and Inoue, Y. : Glutamate transporter GLAST is expressed in the radial Glia-Astrocyte lineage of developing mouse spinal cord. *J. Neurosci.*,17 , 9212-9219(1997)
  - 11) Kagawa, T., Mekada, E., Shishido Y. and Ikenaka, K.: Immune system-related CD9 is expressed in mouse CNS myelin at a very late stage of myelination. *J. Neurosci. Res.*,50, 312-320 (1997)
  - 12) Peyron F., Timsit, S., Thomas J-L., Kagawa, T., Ikenaka, K., and Zalc, B. : In situ expression of PLP/DM20, MBP, and CNP during embryonic and postnatal development of the jimpy mutant and of transgenic mice overexpressing PLP. *J. Neurosci. Res.*, 50 ,190-201(1997)
  - 13) Baba, H., Nakahira, K., Morita, N., Tanaka, F., Akita, H. and Ikenaka, K. : GFAP gene expression during development of astrocyte. *Dev. Neurosci.*, 19, 49-57 (1997)
  - 14) Morita, N., Nakahira, K., Baba, H., Akita, H., Kumada, T., Ogawa, M., Nakajima, K., Kawata, M., Mikoshiba, K. and Ikenaka, K. : Astrocytic lineage analysis by detection of GFAP promoter activity *in vitro*. *Dev. Neurosci.*,19, 210-218 (1997)

#### 和文発表・総説

- 1) 池田一裕：神経系の発生と再生、現代化学 特集「発生と再生の化学」((株)東京化学同人)18-21(2000)
- 2) 鹿川哲史・池田一裕：2.ニューロンとグリアの分化 3章 神経系の発生と分化、脳神経科学イラストレイテッド 森寿、真鍋俊也、渡辺雅彦、岡野栄之、宮川剛編 (羊土社) 107-113 (2000)
- 3) 鹿川哲史・池田一裕：グリア細胞の分化、脳の科学 22(5)(星和書店) 579-582 (2000)
- 4) 和田圭樹・鹿川哲史・池田一裕：グリアの役割 神経系の発生におけるグリアの役割、「CLINICAL NEUROSCIENCE」17(中外医学社) 63-66 (1999)
- 5) 馬場広子・池田一裕：第9章 疾患モデル動物を用いた治療の実績 第3節 神経関係モデルマウス 1.3 jimpy マウス 遺伝子治療開発研究ハンドブック 日本遺伝子治療学会編 (エヌ・ディー・エス) 881-886 (1999)
- 6) 岩崎靖乃・池田一裕：脳と遺伝子 グリア細胞の遺伝子発現と脳機能、遺伝子医学 2 28-32 (1998)
- 7) 池田一裕・熊田竜郎・南木浩二：グリアを中心とした脳の分子生物学、NEUROLOGICAL SURGERY 26 297-301 (1998)
- 8) 中平健祐・藤本一朗・岩崎靖乃・池田一裕：Neuron-glia の細胞系譜、脳の科学 20 353-359 (1998)
- 9) 山田真久・池田一裕：2 中枢神経系-グリア細胞系 2.3 オリゴデンドログリア細胞、神経細胞培養法 畠中寛編集(シュプリンガー・フェアラーク東京(株)) 60-69 (1997)
- 10) 鹿川哲史・池田一裕：オリゴデンドロサイトとアストロサイトの前駆細胞 O2A 細胞は本当に存在するのか?、神経細胞培養法 畠中寛編集 (シュプリンガー・フェアラーク東京(株)) 343 (1997)

#### 招待講演・口頭発表

- 1) Baba, H., Nanmoku, K., Akita, H. and Ikenaka, K. : Mouse and human GFAP promoter activity in astrocyte, Sixteenth Biennial Meeting of the International Society for Neurochemistry and Twenty-Eighth Annual Meeting of the American Society for Neurochemistry (Jul, 1997, Boston)
- 2) Yamada, M., Ivanova, A., Yamaguchi, Y. and Ikenaka, K. : PLP C-terminal fragment promotes the differentiation of oligodendrocytes *in vitro*, ISN Satellite and UConn-Kroc Symposium (Jul, 1997, Connecticut)
- 3) Yonemasu, T., Nakahira, K., Kagawa, T., Ohba, A., A. Espinosa de los Monteros, J. de Vellis and Ikenaka, K. : CGT gene regulation during oligodendrocyte development, ISN Satellite and UConn-Kroc Symposium (Jul, 1997, Connecticut)
- 4) Gotow, T., Ttokuno, O., Koumura, M., Ohsawa, Y., Watanabe, T., Shibata, R., Ikenaka, K. and Uchiyama, Y. : Neurofilaments are influenced in organization and phosphorylation in dysmyelinated axons in jimpy mutant mouse, Society for Neuroscience 27th Annual Meeting (Oct, 1997, New Orleans)
- 5) Ooba, A., Ivanova, A. and Ikenaka, K. : Cells, containing PDGF-ALPHA receptor message are distinct from the PLP/DM-20 mRNA-containing cells in the embryonic CNS of mouse, Keio University International Symposium for Life Sciences and Medicine Neuroscience: Frontiers of Neural Development (Dec, 1997, Tokyo)
- 6) Iwasaki, Y., Otake, Y., Watanabe, M., Tanaka, K. and Ikenaka, K. : Glutamate transporter(GLAST) as a radial glial marker in primary culture, Keio University International Symposium for Life Sciences and Medicine Neuroscience: Frontiers of Neural Development (Dec, 1997, Tokyo)
- 7) Ikenaka, K., Ivanova, A., Yamada, M., Yamaguchi, Y. and Kagawa, T. : Function of myelin proteolipid protein gene products during oligodendrocyte development, Keio University International Symposium for Life Sciences and Medicine Neuroscience: Frontiers of Neural Development (Dec, 1997, Tokyo)
- 8) Nanmoku, K., Yoshimatsu, T., Tamura, M. and Ikenaka, K. : Gene transfer to the nervous system using high titer retroviral vector, American Society of Gene Therapy (May, 1998, Seattle)
- 9) Menon, K. K., Fujimoto, I. and Ikenaka, K. : Effect of overexpression of human Galactosyltransferase (GalTase) on brain enriched sugar chain (BA2) in cultured CG4 cells, The Fourth Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry The Annual Meeting of the Korean Society of Neuroscience (Jun, 1998, Seoul)
- 10) Nanmoku, K., Yoshimatsu, T., Tamura, M. and Ikenaka, K. : Highly efficient gene transfer into the nervous system using High-titer retroviral vector *in vitro* and *in vivo*, The fourth annual meeting The Japan Society of Gene

Therapy (Jul, 1998, Tokyo)

- 11) Ikenaka, K., Wada, T., Yamada, M. and Ivanova, A. : Functions of PLP gene products and their relevance to oligodendrocyte cell lineage, 12th Biennial Meeting International Society for Developmental Neuroscience (Aug, 1998, Vancouver)
- 12) Wada, T., Kagawa, T., Ivanova, A., Shirasaki, R., Murakami, F., Zalc, B. and Ikenaka, K. : Analysis of migration and differentiation of mouse hindbrain oligodendrocyte progenitor cells in flat culture system, American Society for Neurochemistry 30th Annual Meeting (Mar, 1999, New Orleans)
- 13) Nanmoku, K., Kawano, M., Iwasaki, Y. and Ikenaka, K. : Gene transfer to the nervous system using high titer retroviral vector, 1999 Spring Scientific Meeting of the Biochemical Society of the Republic of Korea (Apr, 1999, Seoul)
- 14) Menon, K.K., Fujimoto, I., Narimatsu, H. and Ikenaka, K. : Significance of galactosyltransferase I (Galtase I) expression in relation to sialylation, Joint Meeting 17th Biennial Meeting of the ISN and 13th General Meeting of the ESN (Aug, 1999, Berlin)
- 15) Ivanova, A., Kagawa, T., Oba, A., Wada, T., Zalc, B. and Ikenaka, K. : Expression of PLP/DM20 and PDGF alpha-receptor genes in the developing CNS of mouse, ISN Satellite Meeting Myelination and Myelin Disorders: New Vistas (Aug, 1999, Juliusruh, Germany)
- 16) Wada, T., Kagawa, T., Ivanova, A., Shirasaki, R., Murakami, F., Iemura, S., Shibuya, K., Ueno, N., Zalc, B. and Ikenaka, K. : Inhibitory factors for oligodendrocyte development from the dorsal spinal cord and hindbrain, ISN Satellite Meeting Myelination and Myelin Disorders: New Vistas (Aug, 1999, Juliusruh, Germany)
- 17) Y. Iwasaki, T. Hososya, Y. Hotta and K. Ikenaka : Characterization of mouse homologues of the Drosophila glial cells missing (GCM) gene, Society of Neuroscience 29<sup>th</sup> Annual Meeting (Oct, 1999, Miami)
- 18) Wada, T., Kagawa, T., Zalc, B., Shirasaki, R., Murakami, F. and Ikenaka, K. : Dorsal spinal cord inhibits oligodendrocyte development, International Society Developmental Neuroscience (Aug, 2000, Heidelberg, Germany)
- 19) 後藤隆洋・柴田理一・池田一裕・内山安男 : ジンピーマウス中枢神経の軸索ニューロフィラメント H 蛋白の非リン酸化、第 20 回日本神経科学大会 (1997 年 7 月、仙台)
- 20) 池田一裕・小泉克久 : レトロウイルスベクターを用いたマウス脳初代培養細胞への遺伝子導入、第 20 回日本神経科学大会 (1997 年 7 月、仙台)
- 21) 大庭明生・鹿川哲史・IVANOVA ANNA・池田一裕 : PLP および PDGF- $\alpha$  受容体遺伝子のマウス胎仔脳における経時的発現、第 20 回日本神経科学大会 (1997 年 7 月、仙台)
- 22) 池田一裕・鹿川哲史・山田真久・山口宣秀・馬場広子・Anna Ivanova : オリゴデンドロサイトの発生・分化と病態、第 20 回日本神経科学大会 (1997 年 7 月、仙台)
- 23) 池田一裕 : グリア細胞の発生・分化機構解明へのアプローチ、岩手細胞生物学懇話会第 6 回例会 (1997 年 9 月、岩手)
- 24) 馬場広子・池田一裕 : グリア細胞の発生・分化機構、第 40 回日本神経化学会 (1997 年 10 月、松山)
- 25) 南木浩二・馬場広子・池田一裕 : マウス脳の発達段階におけるグリコーゲン合成酵素の発現、第 40 回日本神経化学会 (1997 年 10 月、松山)
- 26) 藤本一朗・M. Krishna・田中文啓・長束俊治・長谷純宏・池田一裕 : 糖蛋白質糖鎖の化学的糖鎖スクリーニング法の自動化と応用、第 40 回日本神経化学会 (1997 年 10 月、松山)
- 27) 米増知子・中平健祐・奥村俊一郎・池田一裕 : オリゴデンドロサイトの分化における CGT 遺伝子の転写調節機構、第 40 回日本神経化学会 (1997 年 10 月、松山)
- 28) 山田真久・Anna Ivanova・池田一裕 : PLP gene product can be secreted and promotes the differentiation of oligodendrocytes during embryogenesis., 第 2 回グリア研究会 (1997 年 11 月、東京)
- 29) 岩崎靖乃・馬場広子・池田一裕 : マウスグリア細胞系譜の解析、第 20 回日本分子生物学会年会 (1997 年 12 月、京都)
- 30) 池田一裕 : 神経発生研究の新しいアプローチ、名古屋免疫・神経・エンドクリン研究会 (1998 年 3 月、名古屋)
- 31) Ivanova, A.・和田圭樹・大庭明生・池田一裕 : マウス脳発生における PLP/DM-20 陽性細胞の分析、第 41 回日本神経化学会大会 (1998 年 9 月、東京)
- 32) 和田圭樹・Ivanova, A.・白崎竜一・村上富士夫・池田一裕 : マウスオリゴデンドロサイト初期発生の細胞生物学的解析、第 41 回日本神経化学会大会 (1998 年 9 月、東京)
- 33) 秋田裕美・馬場広子・Ivanova, A.・池田一裕 : マウス視神経におけるオリゴデンドロサイトの発生・分化とミエリン形成、第 41 回日本神経化学会大会 (1998 年 9 月、東京)
- 34) 南木浩二・岩崎靖乃・馬場広子・池田一裕 : 高力価レトロウイルスを用いた神経系への遺伝子導入とアストロサイト細胞系譜の解析、第 41 回日本神経化学会大会 (1998 年 9 月、東京)
- 35) 藤本一朗・Menon, K. K.・大竹洋介・長谷純宏・高橋均・辻省次・池田一裕 : ヒト病理標本における組織間糖蛋白質糖鎖パターンの解析、第 41 回日本神経化学会大会 (1998 年 9 月、東京)
- 36) 南木浩二・岩崎靖乃・馬場広子・池田一裕 : 高力価レトロウイルスを用いた神経系への遺伝子導入、第 71 回日本生化学会大会 (1998 年 10 月、名古屋)
- 37) Menon, K. K., Fujimoto, I., Hase, S. and Ikenaka, K. : Effect of overexpression of human Galactosyltransferase (GalTase I) on brain enriched sugar chain (BA2) in cultured CG4 cells, 第 71 回日本生化学会大会 (1998 年 10 月、名古屋)
- 38) 池田一裕 : 神経系細胞への遺伝子導入、日本癌学会シンポジウム (1998 年 11 月、熊本)
- 39) 池田一裕・岩崎靖乃 : マウス gcm ホモログの発現および機能、研究領域「脳を知る」のシンポジウム (1998 年 12 月、大阪)

- 40) 池田一裕：レトロウィルス・ベクターによる遺伝子導入法、第104回日本解剖学会総会・全国学術集会(1999年3月、東京)
- 41) 池田一裕：新規クローニング法を用いたグリア分化因子の探索、第22回東北大学加齢医学研究所シンポジウム(1999年6月、仙台)
- 42) 池田一裕：高力価レトロウィルス溶液の調製と神経系への遺伝子導入、第7回脳腫瘍遺伝子療法懇話会(1999年6月、広島)
- 43) 和田圭樹・鹿川哲史・Anna Ivanova・白崎竜一・村上富士夫・家村俊一郎・澁谷浩司・上野直人・池田一裕：マウス小脳顆粒細胞の成熟課程におけるA-type電流の役割、第22回日本神経科学大会(1999年7月、大阪)
- 44) 岩崎靖乃・熊田竜郎・中田智絵・中平英子・長谷川明子・馬場広子・池田一裕：プロテアーゼの内因性インヒビターによるグリア細胞の分化誘導機構、第42回日本神経化学会(1999年9月、広島)
- 45) 鹿川哲史・斎藤哲一郎・池田一裕：HLH型転写因子によるオリゴデンドロサイトの発生分化調節、第42回日本神経化学会(1999年9月、広島)
- 46) 鹿川哲史・A. Ivanova・和田圭樹・河野真子・岩崎靖乃・大庭明生・馬場広子・池田一裕：オリゴデンドロサイトの発生・分化と生理機能、第42回日本神経化学会(1999年9月、広島)
- 47) MENON Krishna K.・藤本一朗・大竹洋介・成松久・長谷純宏・池田一裕：Physiological significance of galactosyltransferase I (GalTase I) expression in CG4 cells containing brain enriched sugar chain BA2、第72回日本生化学会大会(1999年10月、横浜)
- 48) 岩崎靖乃・細谷俊彦・堀田凱樹・池田一裕：マウス gcm ホモログ発現細胞の同定、第22回日本分子生物学会年回(1999年12月、福岡)
- 49) 池田一裕：中枢ミエリン形成細胞の発生と分化、第77回日本生理学会大会サテライトシンポジウム「ニューロバイオロジー」(2000年3月、東京)
- 50) 池田一裕：Glial development in the rodent central nervous system、日本生化学会春季シンポジウム(2000年6月、福岡)
- 51) 池田一裕：グリア細胞の機能と起源の多様性、第43回日本神経化学会大会(2000年10月、金沢)
- 52) 鹿川哲史・斎藤哲一郎・和田圭樹・中平英子・池田一裕：HLH型転写因子によるオリゴデンドロサイト発生分化の調節、第43回日本神経化学会大会(2000年10月、金沢)
- 53) 長谷川明子・岩崎靖乃・山田真久・小川正晴・池田一裕：システインプロテアーゼインヒビターによるアストロサイトの分化誘導機構の解明、第43回日本神経化学会大会(2000年10月、金沢)
- 54) 中平英子・鹿川哲史・和田圭樹・池田一裕：中枢神経系におけるオリゴデンドロサイト前駆細胞発生の起源、第43回日本神経化学会大会(2000年10月、金沢)
- 55) 長谷川明子・岩崎靖乃・山田真久・小川正・池田一裕：システインプロテアーゼの内因性阻害因子によるアストロサイトの分化誘導機構、第5回グリア研究会(2000年11月、名古屋)

#### 阿形 清和 グループ

##### 欧文発表

- 1) Y. Umesono, K. Watanabe, and K. Agata: A planarian orthopedia homolog is specifically expressed in the branch region of both the mature and regenerating brain, *Develop. Growth Differ.*, 39, 723-727 (1997)
- 2) Y. Umesono, K. Watanabe, and K. Agata: Distinct structure domains in the planarian brain defined by the expression of evolutionarily conserved homeobox genes, *Dev. Genes Evol.*, 209, 18-30 (1999)
- 3) S. Koinuma, Y. Umesono, K. Watanabe and K. Agata: Planaria FoxA (HNF3) homologue is specifically expressed in the pharynx-forming cells, *GENE*, 259, 171-176 (2000)

##### 和文発表・総説

- 1) K. Agata: Molecular and cellular aspects of planarian regeneration, *Seminars in Cell & Developmental Biology* 10 77-83 (1999)
- 2) 阿形清和：脳の基本設計図プログラムと多様化、蛋白質・核酸・酵素 44(3)245-249 (1999)

##### 招待講演・口頭発表

- 1) K. Agata: Evolution of the genetic network for brain development, International symposium "Evolution 2000" (May, 2000, Tokyo)
- 2) 百瀬 剛・梅園 良彦・堀田 凱樹・阿形 清和：神経分化におけるニワトリ GCM 遺伝子の役割と進化、第23回日本分子生物学会年会(2000)
- 3) Umesono, Y., Hosoya, T., Hotta, Y.: NOTCH IS A POSITIVE REGULATOR OF THE GLIAL CELLS MISSING GENE IN DROSOPHILA PNS, '99 Neurobiology of Drosophila meeting (Oct, 1999, New York)
- 4) 梅園良彦：ショジョウバエ末梢神経系における Notch シグナルを介した gcm 遺伝子の発現調節と非対称性分裂の制御機構、日本発生生物学会 ワークショップ1 非対称性分裂の制御機構(2000年5月24日、高知)

#### 岡本 仁グループ

##### 欧文発表

- 1) Okamoto, H., Takahashi, M., Inoue, A., Gong, Z., Tsubokawa, T., Hew, C., Uyemura, K., and Hotta, Y.: Isl-1 family in motoneuron specification and target recognition in embryonic zebrafish, *Basic Neuroscience in Invertebrate* (Business Center for Academic Societies Japan) Ed. H. Koike 401-402(1996)
- 2) Shimoda, N., Chevrette, M., Ekker, M., Kikuchi, Y., Hotta, Y., and Okamoto, H.: Mermaid: a family of short

- interspersed repetitive elements widespread in vertebrates, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*,220,226-232 (1996)
- 3) Shimoda, N., Chevrette, M., Ekker, M., Kikuchi, Y., Hotta, Y., and Okamoto, H.: Mermaid, a family of short interspersed repetitive element, is useful for the zebrafish genome mapping, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 220,233-237 (1996)
  - 4) Kim, C-H., Taira, E., Kuo, C-H., Li, B-S., Okamoto, H., Nakahira, K., Ikenaka, K., Higuchi, H. and Miki, N. : Neuron-specific expression of a chicken gicerin cDNA in transient transgenic zebrafish, *Neurochem. Res.*, 22,231-137 (1996)
  - 5) Kikuchi, Y., Segawa, H., Tokumoto, M., Tsubokawa, T., Hotta, Y., Uyemura, K., and Okamoto, H.: Ocular and cerebellar defects in zebrafish induced by overexpression of the LIM domain of the Islet-3 LIM/homeodomain protein, *Neuron*,18, 369-382 (1997)
  - 6) Higashijima, S., Nose, A., Eguchi, G., Hotta, Y., and Okamoto, H. : Mindin/F-spondin family: novel ECM proteins expressed in the zebrafish embryonic axis, *Dev. Biol.*,192, 211-227 (1997)
  - 7) Higashijima, S., Okamoto, H., Ueno, N., Hotta, Y., and Eguchi, G. : High-frequency generation of transgenic zebrafish which reliably express GFP in whole muscles or the whole body by using promoter of zebrafish origin, *Dev. Biol.*,192,289-299 (1997)
  - 8) Izsvak, Z., Ivics, Z., Shimoda, N., Mohn, D., Okamoto, H., Hackett, P. B. : Short inverted-repeat transposable elements in teleost fish and implications for a mechanism of their amplification, *J. Mol. Evol.*, 48 ,13-21(1999)
  - 9) Mieda, M., Kikuchi, Y., Hirate, Y., Aoki, M., and Okamoto, H. : Compartmentalized expression of zebrafish ten-3 and ten-4, homologues of the Drosophila ten/odd gene, in the central nervous system, *Mech. Devel.*,67,223-227 (1999)
  - 10) Feinstein, Y., Borrell, V., Garcia, C., Burstyn-Cohen, T., Tzarfaty, V., Frumkin, A., Nose, A., Okamoto, H., Higashijima, S., Soriano, E., and Klar, A. : F-spondin and mindin: two structurally and functionally related genes expressed in the hippocampus that promote outgrowth of embryonic hippocampal neurons, *Development*,126,3637-3648 (1999)
  - 11) Higashijima, S., Hotta, Y., and Okamoto, H. : Visualization of cranial motor neurons in live transgenic zebrafish expressing GFP under the control of the Islet-1 promoter/enhancer, *J. Neurosci.*,20,206-218 (2000)
  - 12) Saito, T., Hascilowicz, T., Ohkido, I., Kikuchi, Y., Okamoto, H., Hayashi, S., Murakami, Y., and Matsufuji, S. : Two zebrafish (*Danio rerio*) antizymes with expression and activities, *Biochem. J.*,345,99-106 (2000)
  - 13) Masai, I., Okamoto, H., and Wilson, S. W. Midline signals regulate retinal neurogenesis in zebrafish, *Neuron*,27,251-263 (2000)
  - 14) Yeo, S.-Y., Little, M. H., Yamada, T., Miyashita, T., Halloran M. C, Kuwada, J. Y., Huh T.-L., Okamoto, H. : Overexpression of a Slit Homologue Impairs Convergent Extension of the Mesoderm and Causes Cyclopia in Embryonic Zebrafish, *Devel. Biol.*,230,1-17 (2001)
  - 15) Segawa H., Miyashita T., Hirate Y., Higashijima S., Chino N., Uyemura K., Kikuchi Y. and Okamoto H. : Functional repression of Islet-2 by disruption of the heteromeric complex with Ldb impairs peripheral axonal outgrowth by the primary sensory and motor neurons in embryonic zebrafish, *Neuron*,30,423-436 (2001)
  - 16) Hirate, Y., Mieda, M., Harada, T., Yamasu, K. and Okamoto, H. : A systematic search for the downstream target genes of the midbrain-MHB reciprocal inductive signaling by ordered differential display revealed the expression of ephrin-A3 in the posterior ectoderm of zebrafish embryos, *Mech. Devel.*,107, 83-96 (2001)
  - 17) Ando, H., Furuta, T., and Okamoto, H. : Photo-mediated gene activation using caged RNA/DNA in zebrafish embryos, *Nature Genetics*,28, 317-325 (2001)

#### 和文発表・総説

- 1) Kikuchi, Y., Segawa, H., Tokumoto, M., Tsubokawa, T., Hotta, Y., Uyemura, K., and Okamoto, H. : Functional analysis of Islet-3 LIM/homeodomain protein in zebrafish brain development, *Molecular Basis of Axon Growth and Nerve Pattern Formation* (Taniguchi Symposium on Brain Science No. 20) (Fujisawa, H. ed. Japan Scientific Societies Press, Tokyo) 73-87 (1997)
- 2) Kikuchi, Y., Segawa, H., Tokumoto, Y., Hotta, Y., Uyemura, K., and Okamoto, H. : Islet-3 in the regional specification of the brain, *Neural Development* Uyemura, K., Kawakami, K. and Yazaki eds., Springer 108-114 (1999)
- 3) 岡本仁： 脳の形成はいかに遺伝子によって決定され、制御されているか、*生体の科学* 46号 特集「神経科学の謎」 2-7 (1995)
- 4) 岡本仁・坪川達也・徳本美佳： ゼブラフィッシュ胚神経分化と LIM/ホメオボックス遺伝子群、 *神経研究の進歩* 39号 837-845 (1995)
- 5) 坪川達也・岡本仁： 転写因子と神経ネットワーク形成 - 神経細胞特異化と領域特異化、 *実験医学* 14号 538-543 (1995)
- 6) 岡本仁： LIM/ホメオドメイン型転写因子群、*Bio Science 用語ライブラリー (脳神経)* 御子柴克彦編 164-165 (1997)
- 7) 岡本仁： 脳の複雑化と多様化、*現代化学* 11月号 53-59 (1997)
- 8) 岡本仁： ゼブラフィッシュの Hox 遺伝子から見た脊椎動物の進化と多様化、*生体の科学* 49号 546-554 (1999)
- 9) 岡本仁： 神経の発生 (概説) *脳と神経 (分子神経生物学入門)* 金子、川村、植村編 1-5 (1999)
- 10) 岡本仁： 神経の発生 (神経組織の領域化と細胞特異化) *脳と神経 (分子神経生物学入門)* 金子、川村、植村編 (共立出版) 17-32 (1999)
- 11) 岡本仁： ホメオドメイン蛋白とホメオティック遺伝子群、*遺伝子治療開発研究ハンドブック日本遺伝*

- 子治療学会編(エヌ・ティー・エス) 542-550 (1999)
- 12) 岡本仁: LIM/ホメオドメイン型転写因子群、遺伝子治療開発研究ハンドブック日本遺伝子治療学会編(エヌ・ティー・エス) 551-884 (1999)
  - 13) 岡本仁・菊池・瀬川浩: Islet-1 ファミリーと神経系の分化～ゼブラフィッシュを用いた神経系分化機構の研究～、蛋白質核酸酵素 45(3) 233-240 (2000)
  - 14) 和田浩則・岡本仁: ゼブラフィッシュの突然変異体作製、脳・神経研究のための分子生物学技術講座 小幡、井本、高田編(文光堂) 145-154 (2000)
  - 15) 下田修義・岡本仁: ゼブラフィッシュにおける変異のマッピング、脳・神経研究のための分子生物学技術講座 小幡、井本、高田編(文光堂) 155-163 (2000)
  - 16) 岡本仁: 神経系の成り立ちー神経誘導とパターン形成、神経科学イラストレイテッド 森、真鍋、渡辺、岡野、宮川編(羊土社) 92-106 (2000)
  - 17) 瀬川浩・岡本仁: 運動・感覚神経細胞の分化と LIM/ホメオドメイン遺伝子、小型魚類研究の新展開 蛋白質核酸酵素 12月号増刊(共立出版) 2791-2797 (2000)
  - 18) 和田浩則・東島眞一・岡本仁: トランスジェニックフィッシュを用いた三叉神経の軸索伸展機構の解析、蛋白質核酸酵素 12月号増刊(共立出版) 2803-2809 (2000)
  - 19) 岡本仁・成瀬清・堀寛・武田洋幸: 小型魚類を用いた研究の可能性、小型魚類研究の新展開 蛋白質核酸酵素 12月号増刊(共立出版) 2677-2689 (2000)

#### ポスター発表

- 1) 花岡・大森・細谷・堀田・岡本: ゼブラフィッシュ gcm 遺伝子のクローニング、発生生物学会(1999年5月29日神戸)

#### 招待講演・口頭発表

- 19) 岡本仁: 神経細胞特異化の分子機構 形態学の伝統と改革: かたちをめぐる生命科学 (1995年、東京)
- 2) Okamoto, H., Tokumoto, M., Tsubokawa, T., Gong, Z., Hew, C.L., Hotta, Y., and Uyemura, K: Roles of LIM/homeodomain transcription factors in development of zebrafish brain, Workshop on LIM proteins and the LIM Domain (1995, Bischoffshausen)
- 3) Okamoto, H.: LIM/homeobox gene family in zebrafish brain development, 4th IBRO World Congress of Neuroscience, Symposium (Molecular Control of Early Neurogenesis) (1995, Kyoto)
- 4) 岡本仁: 中枢神経系の構造と形成の比較生物学 ゼブラフィッシュの場合、日本動物学会関連集会 ニューロエソロジー談話会シンポジウム (1995年、東京)
- 5) 岡本仁: ゼブラフィッシュにおける神経細胞特異化の分子機構、重点領域公開シンポジウム (1996年、名古屋)
- 6) Okamoto, H., Kikuchi, Y., Tsubokawa, T., Tokumoto, M., Hotta, Y., Uyemura, K.: Roles of LIM/HOMEBOX transcription factors in development of zebrafish brain, Taniguchi Symposium (Biophysics) (1996, Kyoto)
- 7) 岡本仁: LIM/homeobox 遺伝子群による神経細胞特異化の分子機構、第8回肉眼解剖学研究会 (1996年、福岡)
- 8) Okamoto, H., Tsubokawa, T., Kikuchi, Y., Tokumoto, M., Hotta, Y., and Uyemura, K.: Roles of LIM/homeobox factors in development of zebrafish brain. Zebrafish Development and Genetics (Cold Spring Harbor Meeting) (1996, Cold Spring Harbor)
- 9) 岡本仁: 神経系分化における LIM/homeobox 型転写因子群の役割、第69回日本生化学・第19回分子生物学会合同年会 (1996年、札幌)
- 10) 岡本仁: LIM/homeobox 遺伝子を介した細胞特異化の分子機構、大阪大学蛋白研シンポジウム (1996年、大阪)
- 11) 岡本仁: 中枢神経系部域特異化と Islet-3、大阪大学遺伝情報実験施設シンポジウム「形態形成の制御機構」(1997年、大阪)
- 12) Kikuchi, Y., Tokumoto, M., Segawa, H., Hotta, Y., Uyemura, K. and Okamoto, H.: Functional Analysis of LIM/Homeodomain Transcriptional Factors, Zebrafish CNS Development in The Twentieth international Symposium 1997 Division of Brain Sciences The Taniguchi Foundation on Molecular Basis of Axon Growth and Nerve Pattern Formation (1997, Kyoto)
- 13) 岡本仁: ゼブラフィッシュ脳の部域化、第30回日本発生生物学会ワークショップ (1997年、筑波)
- 14) Okamoto, H.: Islet-1 family in the regional and cellular specification of the zebrafish brain, ASBMB Fall Symposium on Structure and Function of LIM domains (1997, USA)
- 15) 岡本仁・菊池裕・巽良子・徳本美佳・植村慶一: ゼブラフィッシュにおける脳胞発生の制御～中脳・小脳における遺伝子カスケード～、第40回日本神経化学会シンポジウム「神経発生: パターン形成から高次機能まで」(1997年、松山)
- 16) 岡本仁: 中脳・小脳形成における組織間相互作用、文部省新プログラム方式による研究「発生・形態形成の個体レベルにおける分子生物学的研究」主催公開講演会「分化・形態形成シグナルとそのネットワーク」(1997年、京都)
- 17) Okamoto, H.: Islet-1 family in the regional and cellular specification of the zebrafish brain, Keio University International Symposia for Life Science and Medicine Neuroscience: Frontiers of Neural Development (1997, Tokyo)
- 18) 岡本仁: 小脳・中脳分化における誘導的相互作用、文部省重点領域研究「神経回路の発達」(1998、東京)

- 19) Okamoto H. : Islet-2 controls axonal pathfinding of both sensory and motor neurons in embryonic zebrafish, Neurogenesis and Organogenesis in Zebrafish and Medaka(The Joint Seminar under Japan-Korea Basic Cooperation Program), (JSPS) (Sep, 1998, Osaka)
- 20) Okamoto H., Segawa H., and Higashijima S. : Analysis of neuronal specification in the perspective of the Islet-1 family, World Conf. on Ornamental Fish Aquaculture, (Institute of Molecular Agrobiolgy) (Jun, 1999, Singapore)
- 21) Okamoto H., Mieda M., Hirate Y., Harada T., and Segawa H. : Systematic Screening of the factors regulating development of the midbrain/hindbrain boundary, Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Zebrafish Development & Genetics (April, 2000, Cold Spring Harbor)
- 22) Masai I., Wilson S. W., and Okamoto H. : Mechanisms underlying induction and progression of a neurogenic wave in the developing zebrafish retina , Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Zebrafish Development & Genetics (Apr, 2000, Cold Spring Harbor)
- 23) 岡本仁 : 神経発生とその分子機構、第 36 回日本リハビリテーション医学会学術集会 (1999 年 5 月、児島)
- 24) 岡本仁・平手良和・三枝理博 : Islet-3 を介した中脳と前脳の特異化、第 22 回日本分子生物学会年会( 1999 年 12 月、福岡)
- 25) 岡本仁・平手良和・三枝理博・青木基子・原田多恵 : Islet-3 によって制御される脳の部域特異化遺伝子群、第 73 回日本生化学大会 ( 2000 年 10 月、横浜)

特許出願

発明の名称 : アミノ酸配列と、このアミノ酸配列を有する蛋白が結合する DNA 配列

発明者 : 堀田凱樹

出願人 : 科学技術振興事業団

出願番号 : 特願平 8-318285

出願日 : 1996.11.28

外国出願

発明の名称 : Polypeptide and a DNA sequence to which a protein containing the polypeptide binds

発明者 : Yoshiki Hotta

出願人 : 科学技術振興事業団

出願国 : アメリカ (出願番号 : S.N.08/980068-1997.11.26)

カナダ (出願番号 : No.2217168-1997.11.28)