

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成26年度）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 若手研究(B) 4. 補助事業期間 平成26年度～平成28年度

5. 課題番号

2	6	8	4	0	0	8	1
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 ゼブラフィッシュを用いた組織形態形成におけるshootin1の機能解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
4 0 5 5 0 0 8 3	ウラサキ アキヒロ 浦崎 明宏	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

組織形態形成はこれまで細胞の運命決定や分化の視点から捉えた研究が主流であった。しかしながら、組織形成のための細胞移動過程や細胞移動のための力の発生機構には不明な点が多い。我々のグループでは、培養細胞を用いた実験で、Shootin1が重合・脱重合をしているアクチン繊維と細胞接着分子を連結することにより、神経軸索伸長の駆動力を生み出すことを見出している。しかしながら、shootin1の組織内における機能は不明である。本研究では、組織形態形成におけるshootin1の役割を明らかにすることを目的として、モデル脊椎動物であるゼブラフィッシュを用いて実験を行った。まず、RT-PCRおよびwhole-mount in situ hybridizationによる遺伝子発現解析を行った。shootin1は、脳だけでなく脳以外の細胞でも発現していることが明らかになった。これらの実験により、ゼブラフィッシュの初期胚において、shootin1がいつどこで発現しているのかを明らかにした。次に、モルフォリノオリゴを用いて、shootin1発現阻害胚の表現型の解析を行った。モルフォリノオリゴによるshootin1の発現阻害胚では、脳に異常が観察された。この表現型が確かなものであるかを調べるために、CRISPR/Cas9システムを用いて、shootin1の変異体を作製している。変異体が出来たら、その表現型の詳細な解析を行い、組織形態形成におけるshootin1の役割を明らかにする予定である。

10. キーワード

(1) shootin1

(2) ゼブラフィッシュ

(3) 組織形成

(4)

(5)

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

shootin1の遺伝子発現とshootin1の発現阻害胚の解析を行い、新たな知見を得た。さらに、shootin1のアミノ酸配列をもとに、配列解析を行ったところshootin1のホモログを新たに2つ見つけることができた。変異体思うように得られなかったため、変異体の作成方法をTALEN法からCRISPR/Cas9システムに変更し、変異体作製を着実に進めている。学内でのラボの引越等もあり、変異体の作製は本来の予定よりも若干遅れたが、想定内であり、当初予想していなかった知見も得られており、おおむね順調に進展していると考えている。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

計画に従って、(1)変異体の表現型、(2)異常表現型の回復実験、(3)細胞特異的shootin1の機能阻害および促進実験を進める。研究の進捗状況を見ながら、手直しを加え、当初の目標の達成を目指して研究を推進する。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

(使用計画)

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(2)件 うち査読付論文 計(1)件

著者名		論文標題【掲載確定】			
Hermkens DM, van Impel A, Urasaki A, Bussmann J, Duckers HJ, Schulte-Merker S		Sox7 controls arterial specification in conjunction with hey2 and efnb2 function			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Development	有	印刷中	2 0 1 5	印刷中	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1242/dev.117275					

著者名		論文標題			
馬場健太郎、浦崎明宏、稲垣直之		電気泳動学会			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
生物物理化学	無	58	2 0 1 4	49-52	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.2198/sbk.58.49					

(学会発表) 計(2)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名		発表標題	
浦崎明宏、渡瀬恵美子、松井貴輝、川上浩一、別所康全、稲垣直之		ゼブラフィッシュを用いた脳形成におけるshootin1の役割	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日～2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県奈良市)	

発表者名		発表標題	
A. Urasaki, T. Matsui, K. Kawakami, Y. Bessho, N. Inagaki		Role of shootin1 during embryonic development in zebrafish	
学会等名		発表年月日	発表場所
The 2014 ASCB meeting		2014年12月06日 ~ 2014年12月10日	Philadelphia (USA)

〔図書〕計(0)件

著者名		出版社	
書名		発行年	総ページ数

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考

--