

NBRP Zebrafish

News Letter March 2024



平素より、ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)・ゼブラフィッシュの活動にご協力いただき、ありがとうございます。代表機関である理化学研究所・脳神経科学研究センターからニュースレターを配信いたします。NBRPゼブラフィッシュ第5期2年目がもうすぐ終わろうとしております。

来年度も、ご協力のほどよろしくお願い申し上げます。

利用者の声

埼玉大学の津田佐知子先生にゼブラフィッシュ研究にまつわるお話とNBRPゼブラフィッシュに関するお声をいただきました。

津田 佐知子

埼玉大学大学院理工学研究科

生命科学部門

stsuda@mail.saitama-u.ac.jp



埼玉大学のラボメンバー

現在、小型魚類を用いて小脳神経ネットワークの機能と発達について研究していますが、小型魚類との出会いは、2002年に東京大学理学部生物学科動物学課程に進学し最初に受けた、着任直後の武田洋幸教授(動物発生学研究室)の実習に廻ります。神経発生を志して動物学課程に進んだのですが、透明なゼブラフィッシュ胚の美しさに何とも言えない魅力と将来性を感じ、実習後も武田研に出入りさせて頂き、以降学位取得、博士研究員とご指導頂きました。当時から、武田研で

ゼブラフィッシュとメダカの研究を並行しており、私の研究生活はメダカ突然変異体スクリーニングから始まりました。それまで決着のついていなかった頭部形態異常を示す新規変異体(*tacobo*)を対象に、組織学、細胞生物学、タイムラプスイメージングを用いた発生遺伝学的解析を行いました。その結果、細胞外マトリックスLaminin変異体であり、神経前駆細胞に特徴的な核移動(Interkinetic Nuclear Migration, INM:細胞周期依存的な振動運動)の異常を伴う神経分化異常を示すことを明らかにし、細胞外因子による神経管組織形成の新たなメカニズムを提唱することができました。発生現象を細胞生物学的な観点から研究したいと思っていたのですが、原因遺伝子が細胞接着因子と分かり、さらに、以前から興味を持っていたINMに表現型が見られるという幸運な流れで、研究は厳しくも楽しいものだと感じました。とりわけ、武田研はとても自由な気風で、興味の赴くままに神経発生の研究ができ、試行錯誤しながら自分なりの研究テーマを作っていく面白さを学びました。また当時、メダカ研究ではゲノム・発生細胞生物学的な実験ツールなど開発途上の段階でしたが、工夫次第で何でも自分で立ち上げられるという感覚を得られたことも大きな収穫だったように思います。

博士号取得後は、脳形成の重要な側面である脳機能の解析を行いたいと思い、神経生理学や光技術の専門家であるProf. George Augustine(Duke-NUS Graduate Medical School Singapore)の研究室に留学しました。普段はシンガポールの中心に林立するバイオポリス、夏はボストン近郊のウッズホール海洋生物学研究所に研究員・Grass Fellow(若手PI)として滞在し、世界各地から集った研究者と共に研究を行うという渡り鳥のような生活でしたが、今にもつながる多くの知己を得ることができました。一旦小型魚類・発生学からは離れ、生理学研究の中心であるマウスの小脳を対象とした、神経生理学と光技術を専門とすることにしました。具体的には、小脳プルキンエ細胞からの電気生理学(パッチクランプ記録)と光遺伝学刺激を組み合わせ、それまで

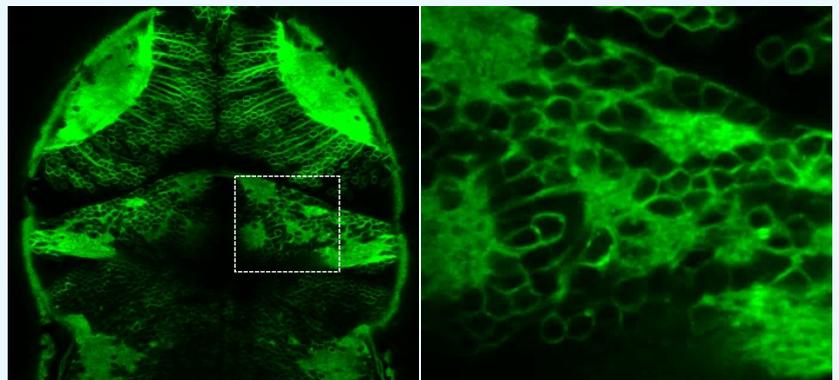
理解が十分でなかった、小脳の抑制性神経回路の時空間構造を明らかにしました。シンガポールでパッチクランプ記録を習得した途端に、ウッズホールのGeorgeラボで一人記録系を立ち上げる等なかなかの経験でしたが、電極を細胞に置き、抵抗値を見ながら細胞内記録へ進む過程は、細胞の息遣いをこの手で感じるようで、イメージとはまた違った新鮮な感覚でした。現在も、ゼブラフィッシュで時折電気生理記録を行いますが、細胞は種を越えて似ていると感じます。

また、こういった電気生理学的なアプローチに加え、細胞の膜電位を直接・高速に光モニタリングできる、膜電位感受性色素を用いた膜電位イメージングも始めました。膜電位イメージングの開発者であるLarry Cohen博士と同じフロアという環境でその魅力に取りつかれている内に、気づけば膜電位イメージングコミュニティの一員になっていました。流行となった今と違い、SN比が小さく難度高めこの技術をなぜ使うのか、批判を受けることも多い時代でしたが、光遺伝学刺激と膜電位イメージングを同時に実施可能な顕微鏡を開発し、上述の小脳の抑制性神経回路の時空間解析を、全て光で行うことに成功しました。

余談ですが、学部時代に滞在した三崎臨海実験所には、第二次大戦後に実験所が米軍に接收された際、研究施設の保存を願った團勝磨博士の手紙のレプリカがあり、実物はウッズホールにあると聞いていました。まさにウッズホール最初の夏、研究所を巡っていると、図書館前にその本物が、日米の架け橋として大事に飾られているのを見つけ、嬉しくまた感慨深いものがありました。

色々充実した留学中も、魚や発生学への想いは変わらなかったのですが、幸いなことに、シンガポール、ウッズホール共に魚・発生の研究が盛んな場所で、分野の流れを外から少しフォローしていました。そろそろ生理学的な視点から発生生物学に改めて取り組めないかと考えていたところ、埼玉大学のテニユアトラック助教に採用いただき、再び小型魚類の世界に戻ってこれることができました。マウス脳スライスの観察で、その脳の不透明さに驚き、当たり前であった透明で様々な実験のしやすい小型魚類の魅力を実感したということもあります。弥益恭教授をはじめ多くの先生方にご支援頂き、研究グループを立ち上げることになり、小脳神経ネットワークの発達についてゼブラフィッシュを用いて取り組んでいます。発達期にプルキンエ細胞は活発で多様な

集団活動を示しますが、その詳細解析には、膜電位イメージングが有効です。近年開発の進む、タンパク質型の膜電位センサー(Genetically encoded voltage indicator)を新たにゼブラフィッシュに導入して、脊髄・小脳でのニューロン集団の長時間活動記録に成功し、その膜電位変動の出現過程の観察を行っています。さらに、このような細胞集団のふるまいに加え、個体集団のふるまい(群れ・集団行動)にも視野を広げています。不明点の多い、群れの神経基盤や発達環境の影響について、これまで培った光技術、発生学、生理学に、生態学的な視点も入れ取り組んでいます。小型魚類は、色々な技術の導入ハードルが低く、複合的なアプローチを用いた研究を進めやすいと実感します。このような小型魚類の利点と、魚類の多様性、特殊性を活かして、細胞そして個体が集団となす機能とその形成のしくみを明らかにしていきたいと思えます。



膜電位センサー(ASAP1)トランスジェニックゼブラフィッシュ。ニューロンでASAP1が発現している。小脳領域の拡大写真(右)。

埼玉大学は首都圏にありながら緑も多く、キャンパス内で小鳥や木々の音を聞きながら落ち着いて研究に取り組める良い環境です。昨年、小型魚類研究会を埼玉大学キャンパスで開催する機会を頂きましたので、足を運んでくださった方も多くかと思いますが、近くにお越しの際には是非お声掛けください。学生さん、研究員も募集中です。

最後になりましたが、このように研究を立ち上げる上でNBRPは不可欠な存在です。様々なゼブラフィッシュシステムをNBRPから供与頂くと共に、新たに作成したシステムの保存、そして国内外からの送付リクエストへの対応など、大変助けて頂きました。研究者として育てて頂いた小型魚類コミュニティに、NBRPなどを通して微力ながら貢献させて頂ければと思います。今後ともご指導ご鞭撻下さいませよう、よろしくお願い申し上げます。

新着系統

リソースとして新たに寄託・公開された系統をご紹介します。
ウェブサイト(<https://shigen.nig.ac.jp/zebra/>)から系統をオーダー可能です。

Fads2	cers2bΔ2	tial1 agu93
Tg(fli1a:EGFP-toca1) nf10Tg	sting+1	tial1 agu94
Tg(5xUAS:mCherry) ncv76Tg	cgasΔ4	neurod2 ex2-7
TgBAC(dcn:tagBFP) ncv546Tg	Tg(aldoxa:BirA-2A-mCherry) nub105Tg	barhl1a ex1-10
TgBAC(cxcr4a:dEGFP) ncv548Tg	Tg(aldoxa:skor1b-AVI-2A-BirA-2A-mCherry) nub108Tg	barhl1b ex1+5
Tg(sox9a:opt creErt2; crysaa:EGFP) tyt229	Tg(aldoxa:skor2-AVI-2A-BirA-2A-mCherry) nub109Tg	tlx3b ex1-7
Tg(sox9a:opt creErt2; crysaa:EGFP) tyt230	foxp2 ex9+19/nub112	olig2 ex2-5
Tg(krt18:creErt2; crysaa:EGFP) tyt236 ;	znf385c ex2+4/nub117	dnaselIΔ4
Tg(Ola.Actb:LOXP-DsRED2-LOXP-EGFP) tyt201	foxp1a ex2-4A/nub110	dnaselIΔ8
Tg(E5-0.7k:EGFP) tyt220	foxp2 ex9+11/nub113	Tg(UAS:Xsu(H)DN) chi11
Tg(hsp70l:dnLef1) tyt225	foxp2 ex9-13/nub114	sidkey188i13.11 agu90
Tg(krt18:mcherry) tyt237	rora ex2-10/nub115	slc12a5a; slc12a5b agu98
Tg(5xUAS-hsp70l:GtCCR4-EGFP, myl7:mCherry) nub88Tg	ebf1a ex1-8/nub116	zgc56095 agu100
Tg(tetO:Had.Rh1-Flag-P2A-TagCFP, myl7:mCherry) nub65Tg	ssx2ipa ex3-4/nub118	nlk1 isi35
Tg(tetO:parapinopsina-Flag-P2A-TagCFP, myl7:mCherry) nub69Tg	trpm7 agu75	nlk1 isi35 ; nlk2 TALEN-B isi13
Tg(tetO:bPAC-MT-T2A-tDimer, myl7:mCherry) nub79Tg	dmd agu83	tlx3a -14
keap1a it302 ; keap1b it308	slc16a3 agu88	tlx3a -11
cers2b+1	slc16a3 agu89	TG (β-actin:EGFP) ; mpv17 a9
	chr22del agu91	nr2f1a sud-n1
	tial1 agu92	nr2f1b sud-n3

寄託募集

-あなたも寄託をしませんか -

理化学研究所脳神経科学研究センターは、ゼブラフィッシュ系統保存の代表機関であり、20万尾収容できる施設を設けております。外部研究機関からの系統の寄託受け入れを進んで行なっておりますので、遠慮をせずぜひ寄託をしてください。寄託する際、寄託者の知的財産権は保護されます。

-凍結精子保存が可能です -

凍結精子保存は系統のバックアップに最適です。魚をお送り頂けましたら、こちらで速やかに処理しサンプルを保存致します。処理する魚の条件は、健康な雄魚3~5匹を目安としております。5匹から人工授精45回分のサンプルが確保できる計算です。

凍結精子サンプルは理化学研究所脳神経科学研究センターと基礎生物学研究所で相互バックアップ保存することにより災害対策をしており、「預けて安心!」です。

臨機応変に対応させていただきますので、お気軽にご相談ください。お待ちしております。

実施機関

NBRPゼブラフィッシュは下記の3機関で実施しております。

- 代表機関 -

国立研究開発法人 理化学研究所・脳神経科学研究センター
代表者 岡本 仁

- 分担機関 -

大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構
代表者 川上 浩一

- 分担機関 -

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構
代表者 東島 真一

ニュースレターに関する連絡先:

理化学研究所・脳神経科学研究センター
意思決定回路動態研究チーム

岡本 仁 (hitoshi.okamoto@riken.jp)
〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1