

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実績報告書**

本様式の内容は一般に公表されません

研究課題名	循環器システムを司る分子実体の解明
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人理化学研究所 生命システム研究センター・循環器分子動態研究 ユニット・研究ユニットリーダー
氏名	川原 敦雄

1. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受け た額	利息等収入 額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	114,000,000	114,000,000	0	114,000,000	113,772,886	227,114	0
間接経費	34,200,000	34,200,000	0	34,200,000	34,200,000	0	0
合計	148,200,000	148,200,000	0	148,200,000	147,972,886	227,114	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	548,100	31,362,697	23,279,198	18,685,848	73,875,843
旅費	0	306,420	1,327,800	771,640	2,405,860
謝金・人件費等	0	3,529,647	20,580,305	10,989,203	35,099,155
その他	300	298,305	1,464,002	629,421	2,392,028
直接経費計	548,400	35,497,069	46,651,305	31,076,112	113,772,886
間接経費計		12,600,000	12,600,000	9,000,000	34,200,000
合計	548,400	48,097,069	59,251,305	40,076,112	147,972,886

4. 主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性 能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
サーマルサイクラー	Applied Biosystems2720	1	548,100	548,100	2011/3/3	Qbic OLABB 313号室
CO2インキュベータ	(株)アズバイオ	1	787,500	787,500	2011/10/14	Qbic OLABB 313号室
バイオクリーンベンチ	(株)アズバイオ	1	955,500	955,500	2011/10/14	Qbic OLABB 313号室
ゲル撮影装置	白井松器械 (株)	1	517,650	517,650	2011/10/06	Qbic OLABB 313号室
電動マイクロインジェクター	(株)アズバイオ	1	548,625	548,625	2011/10/28	Qbic OLABB 313号室
EM-CCDカメラ	(株)イナ・オブ ティカ	1	1,548,750	1,548,750	2011/12/19	Qbic OLABB 313号室
コンパクト多機能遠心機Allegra X- 30R (コニカルチューブパッケージ)	(株)アズバイオ	1	924,000	924,000	2011/11/11	Qbic OLABB 313号室
バイオシャー	(株)イナ・オブ ティカ	1	921,900	921,900	2011/12/26	Qbic OLABB 313号室
Applied Biosystems Veriti 96well サーマルサイクラー-0.2ml	(株)アズバイオ	1	840,000	840,000	2011/12/28	Qbic OLABB 313号室
超低温フリーザ	(株)アズバイオ	1	1,050,000	1,050,000	2012/01/16	Qbic OLABB 313号室
オートクレーブ50L	(株)アズバイオ	1	511,875	511,875	2012/02/29	Qbic OLABB 313号室
水質コントロールボックス	白井松器械 (株)	1	628,425	628,425	2012/02/29	Qbic OLABB 313号室
小型魚類水槽ラック	白井松器械 (株)	1	1,526,175	1,526,175	2012/03/29	Qbic OLABB 313号室
日本ローパーsCOMSカメラ 1280× 1024 24MHz USB	オリンパスメ ディカルサイエ ンス販売(株)	1	654,675	654,675	2012/03/29	Qbic OLABB 313号室
電動ズーム顕微鏡	和研薬(株)	1	3,990,000	3,990,000	2012/04/27	Qbic OLABB 313号室

様式20

フレークアイスメーカー(製氷機)	(株)アズバイオ	1	514,500	514,500	2012/03/29	Qbic OLABB 313号室
超純水製造装置Direct-QUV	(株)アズバイオ	1	522,270	522,270	2012/04/27	Qbic OLABB 313号室
共焦点レーザ走査装置	オリンパスメ ディカルサイエ ンス販売(株)	1	11,980,500	11,980,500	2013/2/28	QBiC 川原ラボ
極微量分光光度計	(株)アズバイオ	1	1,491,000	1,491,000	2013/5/9	QBiC 川原ラボ
デジタルカメラ	オリンパスメ ディカルサイエ ンス販売株式	1	1,138,725	1,138,725	2013/8/23	QBiC 川原ラボ
発光イメージング解析装置株	株式会社アズ バイオ	1	3,617,250	3,617,250	2013/11/28	QBiC 川原ラボ
小型魚類集合水槽システム用RO浄水器	白井松器械 (株)	1	682,500	682,500	2014/1/31	QBiC 川原ラボ

5. 研究成果の概要

本研究は、心臓と血管網で構成される循環器システムを司る分子の実体解明とその分子機能を明らかにすることを目的とする。我々は、これまでに心臓や血管発生に異常を示すゼブラフィッシュ変異体の順遺伝学的解析からSpns2が心臓前駆細胞の移動をSeryl-tRNA synthetaseが節間血管のネットワーク形成を制御することを明らかにしている。本研究において、順遺伝学的解析手法によりko063変異体の責任遺伝子がTitin分子であることを同定した。Titin分子は、心臓の筋原繊維の構造タンパク質であり、Titinの機能異常が心臓浮腫の原因と考えられた。さらに、ko263変異体の責任遺伝子は、シグナル分子であるPLCγ1(Phospholipase Cγ1)であることを見出した。ko263変異体は体幹の血管発生異常とともに頭部の血管の形態異常を認めており、PLCγ1が頭部血管の構築過程に重要な役割を果たすことが明らかとなった。脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)の輸送体に異常を示すSpns2変異体は心臓発生異常を示すが、その分子メカニズムは不明な点が多い。そこで、Spns2変異体において特異的に発現が変動する遺伝子やSpns2と機能的に相互作用する分子の同定を行った。Spns2あるいはS1PR2機能阻害胚を用いたマイクロアレイ解析によりエンドセリン受容体(ednra)の発現が顕著に抑制されていることを見出した。また、Spns2変異体と接着分子フィブロネクチン変異体の二重変異体により心臓前駆細胞の移動が完全に抑制された。我々は、S1P-Spns2-S1PR2シグナルは標的遺伝子であるednraを誘導し、接着分子フィブロネクチンと協調的に機能することで心臓前駆細胞の移動を制御していると考えている。S1P受容体はS1PR1-S1PR5のファミリーを形成しているので、S1Pシグナルの循環器系における役割を解明するためには、網羅的な遺伝子破壊ゼブラフィッシュの作製が必要不可欠であった。そこで、人工ヌクレアーゼTALEN (transcription activator-like effector nuclease)とCRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)/Cas9システムによるゲノム改変技術の開発を行った。我々は、TALENおよびCRISPR/Cas9による効率的な遺伝子破壊ゼブラフィッシュの作製技術の開発に成功し、S1P合成・分解酵素(SphK1, SphK2, S1Pリアーゼ)ならび全てのS1P受容体(S1PR1-S1PR5)の遺伝子破壊ゼブラフィッシュの作製に成功した。我々が作製したS1P受容体変異体は、S1Pの応答性を著しく消失していることを見出した。S1P合成酵素変異体は、心臓発生に異常を示し、S1PR3b変異体は、心臓の形態形成に重要な役割を示していることが明らかとなった。一方、S1PR1変異体においては、血管発生異常は認められず、S1P受容体間の機能補完の可能性が示唆されている。我々は、現在、それぞれのS1P受容体に対する二重変異体の作製を行っており、それらの血管形成における機能解析からS1Pシグナルの血管形成における機能を明らかにしたい。

課題番号	LS138
------	-------

## 先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます
------------------

研究課題名 (下段英語表記)	循環器システムを司る分子実体の解明
	Functional characterization of key molecules that regulate cardiovascular morphogenesis
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	独立行政法人理化学研究所 生命システム研究センター・循環器分子動態 研究ユニット・研究ユニットリーダー
	Laboratory for Cardiovascular Molecular Dynamics, RIKEN Quantitative Biology Center
氏名 (下段英語表記)	川原 敦雄
	Kawahara Atsuo

### 研究成果の概要

(和文):本研究は、心臓と血管から構成される循環器系の形成機構を分子レベルで明らかにすることを目的としている。我々は、循環器系に異常を示すゼブラフィッシュ変異体の機能解析および循環器制御因子を遺伝子破壊したゼブラフィッシュ変異体の表現型解析から、循環器システムを司る分子実体や循環器制御因子の分子機能の実体を明らかにした。特に、脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は、接着分子フィブロネクチンと協調して心臓前駆細胞の移動を制御すること、さらに、心臓のルーピングなどの形態形成を制御していることを明らかにした。S1P シグナルの生理機能の全貌解明は、ヒト循環器疾患の病態の理解や治療薬の開発につながる可能性が考えられる。

(英文): Aim of this study is to reveal the molecular mechanism of vertebrate cardiovascular system that consists of the heart and vasculature. We have identified novel cardiovascular regulators from both functional analysis of mutant zebrafish defective in cardiovascular development and phenotypic analysis of gene knockout zebrafish disrupted in cardiovascular regulators. We found that the lipid mediator sphingosine-1-phosphate (S1P) cooperated with the cell adhesion molecule fibronectin to regulate the cardiac progenitor migration and was involved in the heart morphogenesis. The elucidation of physiological S1P function would contribute to

understand the pathogenesis of human cardiovascular diseases, leading to the development of therapeutic reagents.

1. 執行金額 147,972,886 円  
(うち、直接経費 113,772,886 円、 間接経費 34,200,000 円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

### 3. 研究目的

循環器システムの破綻により引き起る心疾患や脳血管疾患は、日本国民の主要な死因となっており、それらの病態解明と治療薬の開発には、脊椎動物における循環器系の形成機構の解明が必要不可欠である。我々は、循環器系が我々哺乳類と非常に良く保存されているゼブラフィッシュを用い、順遺伝学および逆遺伝学的解析手法を駆使することで循環器系に異常を示すゼブラフィッシュ変異体を作製した。それら変異体の機能解析から循環器系の構築過程における分子メカニズムの解明を目指した。本研究では、(1) 循環器不全ゼブラフィッシュを用いた機能解析から循環器系の形成過程を制御する分子の実体を解明する。(2) 循環器不全ゼブラフィッシュを用いたマイクロアレイ解析から、循環器制御因子の同定とそれらの機能的相互作用の実体を解析する。(3) 新規循環器制御因子の機能解析と循環器系を制御する化合物のケミカル・スクリーニングによる探索を遂行する。つまり、上記のプロジェクトから、循環器系の新たな制御機構を明らかにすることを目的とする。

### 4. 研究計画・方法

本研究では、以下の3つのプロジェクトを遂行した。

#### (1) 循環器不全ゼブラフィッシュを用いた機能解析

循環器不全ゼブラフィッシュを心臓や血管の発生過程を蛍光タンパク質の発現でモニターできるトランスジェニック系統と掛け合わせ、それら変異体の病態解明と順遺伝学的手法による分子実体の解明を行った。

#### (2) 循環器不全ゼブラフィッシュを活用した循環器制御因子の同定と分子ネットワークの解明

野生型胚、Spns2 機能阻害胚および S1PR2 機能阻害胚を用いたマイクロアレイ解析により、S1P シグナルの下流で変動する遺伝子群を探索し、循環器系における S1P シグナルと循環器制御因子の機能的相互作用の有無を明らかにする。さらに、網羅的な S1P 関連遺伝子に対する遺伝子改変ゼブラフィッシュを作製し、それらの表現型解析と遺伝学的解析から S1P 関連分子ネットワークの循環器系における機能を解明する。

#### (3) 新規循環器制御因子の機能解析と循環器系を制御する化合物の探索

循環器系を制御する新規循環器制御因子の分子機能を循環器系の可視化システムを用いて解析するとともに、循環器系の発生過程に影響を与える低分子化合物を循環器系の形態

異常を指標としたケミカル・スクリーニングにより探索する。

5. 研究成果・波及効果

本研究により得られた研究成果を記載し、研究成果の意義や期待される波及効果を述べる。

(1) 循環器不全ゼブラフィッシュを用いた機能解析

我々は、これまでに心臓発生に異常を示す ko157 ゼブラフィッシュ変異体の機能解析から、その原因遺伝子である *Spns2* が、脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)の輸送体として機能することを明らかにした(Kawahara et al. Science, 2009)。S1P シグナルは、心臓発生に必須であるが、その分子メカニズムは不明であった。本研究では、*Spns2* 変異体と接着因子フィブロネクチンとの二重変異体を作製し、両分子の機能的な相互作用を検討した。フィブロネクチン(Fn)変異体では正中線上で心臓が形成されたが、Fn-*Spns2* 二重変異体においては、*Spns2* 変異体で観察される二叉心臓の表現型が顕著に増悪され、心臓前駆細胞が両側に留まり全く移動できないことが心臓の可視化システムを用いた解析から明らかとなった(図1)。これは、S1P シグナルとフィブロネクチンの機能的相互作用の存在を示す研究成果である。

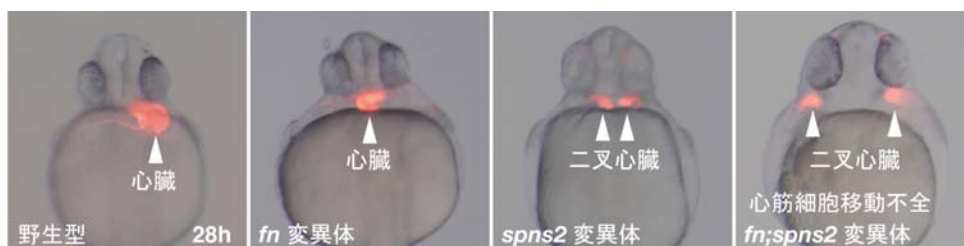


図1. S1P輸送体Spns2はFnと協調して心臓前駆細胞の移動を調節する

我々が作製したゼブラフィッシュ変異体の機能解析から心臓の浮腫を示す ko063 変異体の原因遺伝子は、ゲノムマッピング解析により細胞質に存在する巨大タンパク質である Titin であることが分かった。Titin は、サルコメアの構成タンパク質であるが Titin の機能不全が心臓浮腫の原因と考えられた。心臓および血管発生に異常を示す ko263 変異体の原因遺伝子は、ゲノムマッピングの結果、細胞内シグナル分子である PLC $\gamma$  (Phospholipase C $\gamma$ 1)であることが明らかとなった。ゼブラフィッシュおよび哺乳類では血管発生を制御する VEGF の下流で機能する PLC $\gamma$ の破壊が、図2に示す節間血管の形成異常や心臓の形態異常につながると考えられた。我々は、PLC $\gamma$ 変異体の頭部血管において形態異常を示すことを見出しており、脳血管形成における PLC $\gamma$ の機能を解明したいと考えている。

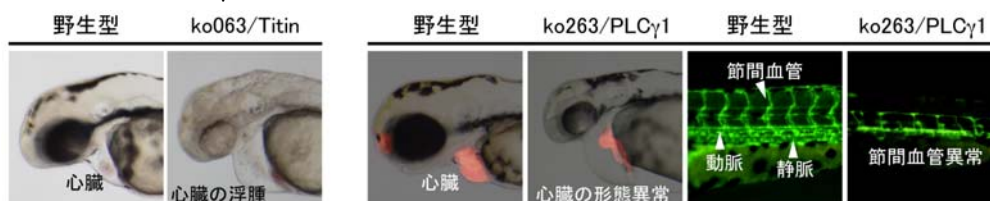


図2. 循環器不全ゼブラフィッシュの循環器系の形態異常

(2) 循環器不全ゼブラフィッシュを活用した循環器制御因子の同定と分子ネットワークの解明

S1Pシグナルの循環器系の形成過程における機能を解明する目的で、S1Pシグナルを抑制した時に変動する遺伝子群をマイクロアレイ解析により探索した。Spns2-S1PR2 シグナルの下流で転写因子 nkx2.3 やエンドセリン受容体 *ednra* が機能することが考えられた。*ednra* の発現は、Spns2 変異体で顕著に抑制されていた(図3)。Spns2 と相互作用することが示されたフィブロネクチン変異体において、*ednra* の機能阻害を誘導すると(図3: *ednra*-MO)、心臓前駆細胞の移動が強く抑制されることが明らかとなった。我々は、Spns2-S1PR2 シグナルの下流でエンドセリン受容体 *ednra* が誘導され、接着分子フィブロネクチンと協調的に機能し心臓前駆細胞の移動を制御するという分子ネットワークが存在すると考えている。



図3. エンドセリン受容体 *ednra* は、Spns2 の下流で機能する

我々は、S1P 輸送体である Spns2 変異体の解析から S1P シグナルが心臓前駆細胞の移動を制御することを明らかにしたが、S1P シグナルの全貌解明には至っていない。我々は、内在性遺伝子を効率的に破壊する新しいゲノム編集技術を確立し、S1P 関連分子の網羅的な遺伝子改変ゼブラフィッシュの作製およびそれらの機能解析を行った。我々は、新規のゲノム編集技術 TALEN (transcription activator-like effector nuclease) および CRISPR (clustered interspaced short palindromic repeats)/Cas9 システムを改良し、日本で初めてとなる遺伝子改変ゼブラフィッシュの作製に成功している。さらに、ゲノム編集活性を簡便に測定できる LacZα 遺伝子破壊測定法と heteroduplex mobility assay (HMA) を開発した。現在、S1P 合成分解酵素 (SphK1, SphK2, S1P lyase)、全ての S1P 受容体 (S1PR1-S1PR5) の遺伝子改変ゼブラフィッシュの作製に成功しており、S1P シグナルの循環器系における役割を解析している。その結果、S1P シグナルが心臓のルーピングなど形態形成過程に直接的に機能するといったこれまで報告されていない知見が得られている。

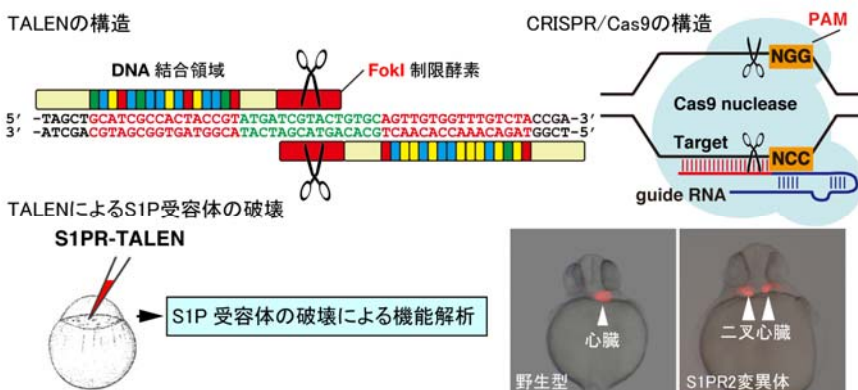


図4. TALENとCRISPR/Cas9を用いた遺伝子改変ゼブラフィッシュの作製法

(3) 新規循環器制御因子の機能解析と循環器系を制御する化合物の探索

我々は、血管発生過程に特異的に発現する新規の膜分子 VAP (Vascular Associated Protein)を単離した。VAP は、背側大動脈、後主静脈と節間血管に強く発現しており、VAP の機能阻害は、節間血管の走行異常と管腔形成異常を示した(図5)。心臓に蛍光ビーズを注入すると腹側の動脈と静脈は血流が認められたが、節間血管には血流は認められず、VAP が血管のネットワーク形成に重要な役割を担うことが明らかとなった。

心臓および血管発生の可視化系統の形態異常を指標に、循環器系の発生過程に影響を与える低分子化合物をケミカル・スクリーニングで探索した。その結果、化合物 1E10 は、Spns2 変異体と同様に二叉心臓の表現型を示すことが心臓の可視化系統を用いた解析により明らかとなった(図5)。化合物 1D3 は、心臓の拍動が不規則となる表現型を示した。化合物 1D10 や 3E8 は、血管発生の可視化系統を用いた解析により節間血管の形成異常を示すことが明らかとなった。特に、化合物 1E10 は、S1P シグナルと機能的に相互作用する可能性が考えられることから、今後詳細な解析を行いたいと考えている。

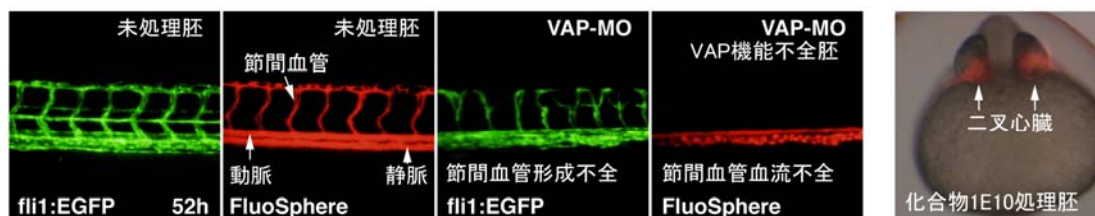


図5. 新規膜分子VAPは初期の血管新生である節間血管の形成を制御する

我々は、本研究により S1P 輸送体 Spns2 を介する S1P-S1PR2 シグナルが接着因子フィブロネクチンと協調的に機能することにより心臓前駆細胞の移動を制御することを明らかにした。さらに、Spns2-S1PR2 シグナルは、エンドセリン受容体 ednra の発現を誘導し、フィブロネクチンと機能的に相互作用することも見出した。さらに、網羅的な S1P 受容体改変ゼブラフィッシュの解析から、S1P シグナルが心臓のルーピングなどの形態形成を制御していることを示す知見を得ている。S1P シグナルとヒト心疾患の関連性を詳細に調べることで、心疾患の新たな病態解明につながることを期待される。Spns2 は、現在注目されている自己免疫疾患の治療薬 FTY720 (Fingolimod)のリン酸化型 FTY720 の輸送体として機能することから、本研究で解明した Spns2-S1PR シグナルの新規機能は、自己免疫疾患だけでなく循環器疾患の病態の理解や治療薬の開発に貢献できる可能性が考えられる。

我々は、本研究によりゲノム編集活性を簡便に測定できる手法を開発した。これは、効率的な遺伝子改変ゼブラフィッシュの作製に不可欠なため取り組んだものであるが、非常に安価で高感度な解析手法であるので、今後多様な応用が考えられる。現在、ヒト遺伝子疾患の罹患者由来の iPS 細胞をゲノム編集技術で修復する新たな再生医療が考えられている。この時、正確なゲノム編集活性を測定する必要があるが、我々が開発した解析手法が iPS 細胞におけるゲノム編集の評価に貢献できるのではないかと考えている。

## 6. 研究発表等

雑誌論文 計 15 件	<p>(掲載済み一査読有り) 計 14 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Yukiura H, Hama K, Nakagawa K, Tanaka M, Asaoka Y, Okudaira S, Arima N, Inoue A, Hashimoto T, Arai H, <u>Kawahara A</u>, Nishina H, Aoki J Autotaxin regulates vascular development via multiple LPA receptors in zebrafish J. Biol. Chem. 286, 43972–43983 (2011)</li> <li>2. <u>Kawahara A</u>, Endo S, Dawid IB Vap (Vascular Associated Protein): a novel factor involved in erythropoiesis and angiogenesis Biochem. Biophys. Res. Commun. 421, 367–374 (2012)</li> <li>3. Hisano Y, Nishi T, <u>Kawahara A</u> The functional roles of sphingosine-1-phosphate (S1P) in immunity J. Biochem. 152, 305–311 (2012)</li> <li>4. Sakuma T, Hosoi S, Woltjen K, Suzuki K, Kashiwagi K, Wada H, Ochiai H, Miyamoto T, Kawai N, Sasakura Y, Matsuura S, Okada Y, <u>Kawahara A</u>, Hayashi S, Yamamoto T Efficient TALEN construction and evaluation methods for human cell and animal applications Genes to Cells 18, 315–326 (2013)</li> <li>5. Ota S, Hisano Y, Muraki M, Hoshijima K, Dahlem TJ, Grunwald DJ, Okada Y, <u>Kawahara A</u> Efficient identification of TALEN-mediated genome modifications using heteroduplex mobility assays Genes to Cells 18, 450–458 (2013)</li> <li>6. Hisano Y, Ota S, Arakawa K, Muraki M, Kono N, Oshita K, Sakuma T, Tomita M, Yamamoto T, Okada Y, <u>Kawahara A</u> Quantitative assay for TALEN activity at endogenous genomic loci Biology Open 2, 363–367 (2013)</li> <li>7. Hisano Y, Ota S, Takada S, <u>Kawahara A</u> Functional cooperation of spns2 and fibronectin in cardiac and lower jaw development Biology Open 2, 789–794 (2013)</li> <li>8. Tsuge K, Iwasaki R, Morimoto K, Inazumi T, Kawahara O, <u>Kawahara A</u>, Tsuchiya S, Sugimoto Y Molecular and pharmacological characterization of zebrafish relaxant prostanoid receptors Biochem. Biophys. Res. Commun. 436, 685–690 (2013)</li> <li>9. Iwasaki R, Tsuge K, Morimoto K, Inazumi T, Kawahara O, <u>Kawahara A</u>, Tsuchiya S, Sugimoto Y Molecular and pharmacological characterization of zebrafish contractile and inhibitory prostanoid receptors Biochem. Biophys. Res. Commun. 438, 353–358 (2013)</li> <li>10. Sato Y, Mukai M, Ueda J, Muraki M, Stasevich TJ, Horikoshi N, Kujiura T, Kita H, Kimura T, Hira S, Okada Y, Hayashi-Takanaka Y, Obuse C, Kurumizaka H, <u>Kawahara A</u>, Yamagata K, Nozaki N, Kimura H Genetically encoded system to track histone modification in vivo Scientific Report 3, 2436 (2013)</li> <li>11. Nishi T, Kobayashi N, Hisano Y, <u>Kawahara A</u>, Yamaguchi A Molecular and physiological functions sphingosine-1-phosphate transporters BBA 1841, 759–765 (2013)</li> <li>12. Nakanaga K, Hama K, Kano K, Sato T, Yukiura H, Inoue A, Saigusa D, Tokuyama K, Tomioka Y, Nishida H, <u>Kawahara A</u>, Aoki J Overexpression of autotaxin, a lysophosphatidic acid-producing enzyme, enhances cardia bifida induced by hypo-sphingosine-1-phosphate signaling in zebrafish embryo J Biochem. 155, 235–241 (2014)</li> <li>13. Ota S, <u>Kawahara A</u> Zebrafish: a model vertebrate suitable for the analysis of human genetic disorders Congenital Anomalities 54, 8–11 (2014)</li> <li>14. Hisano Y, Ota S, <u>Kawahara A</u></li> </ol>
----------------	---



	<p>Genome editing using artificial site-specific nucleases in zebrafish Dev. Growth Differ. 56, 26-33 (2014) (掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件 1. Ota S, Hisano Y, Ikawa Y, Kawahara A Multiple genome modifications by the CRISPR/Cas9 system in zebrafish Genes to Cells in press (2014)</p>
<p>会議発表 計 15 件</p>	<p>専門家向け 計 14 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 脂質マシナリー第 2 回班会議 (兵庫県洲本市, 7/30-31, 2011) 川原敦雄: 脂質メディエーターの生物活性の時空間制御機構</li> <li>2. JSPS-NOW Joint Seminar (東京都町田市, 11/4-6, 2011) Kawahara Atsuo: Functional analysis of zebrafish mutants defective in cardiovascular development</li> <li>3. 日本発生生物学会秋季シンポジウム (愛知県岡崎市, 12/19-21, 2011) 川原敦雄: 初期発生におけるスフィンゴシン-1-リン酸の機能</li> <li>4. 第 8 回宮崎サイエンスキャンプ (宮崎県宮崎市, 2/17-19, 2012) 川原敦雄: スフィンゴシン-1-リン酸と初期発生</li> <li>5. 脂質マシナリー国際シンポジウム (福岡県福岡市, 6/6-7, 2012) Kawahara Atsuo: Functional roles of sphingosine-1-phosphate during early embryogenesis</li> <li>6. 日本分子生物学会ワークショップ (福岡県福岡市, 12/11-14, 2012) 川原敦雄: TALEN を活用した遺伝子改変ゼブラフィッシュの作成技術の開発</li> <li>7. 国際高等研究所 研究プロジェクト (京都府木津川市, 2/22-23, 2013) Kawahara Atsuo: Quantitative detection of TALEN-mediated genome modifications in zebrafish</li> <li>8. 日本発生生物学会 (島根県島根市, 5/29-31, 2013) Kawahara Atsuo: TALEN-mediated genome modification in zebrafish</li> <li>9. 日本先天異常学会 (大阪府豊中市, 7/21-23, 2013) 川原敦雄: 循環器系の形成機構 ゼブラフィッシュを用いた遺伝学的解析の有用性</li> <li>10. FASEB Summer Research Conference (北海道 ニセコ, 8/4-9, 2013) Kawahara Atsuo: Functional analysis of S1P signaling using the TALEN-mediated genome modification</li> <li>11. バイオフォーラム 2013 (京都府京都市, 9/6, 2013) 川原敦雄: 脂質メディエーター・スフィンゴシン-1-リン酸の初期発生における機能</li> <li>12. 日本発生生物学会秋季シンポジウム (兵庫県神戸市, 11/18-19, 2013) 川原敦雄: ゼブラフィッシュにおけるゲノム改変</li> <li>13. 日本分子生物学会 (兵庫県神戸市, 12/3-6, 2013) 川原敦雄: CRISPR/Cas9 を用いたゼブラフィッシュにおけるゲノム編集</li> <li>14. International Symposium on RNAi and Genome Editing Research (徳島県徳島市, 3/14-16, 2014) Kawahara Atsuo: Targeted genome modification in zebrafish by the CRISPR/Cas9 system</li> </ol> <p>一般向け 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 兵庫県高等学校教育研究会生物部会 (兵庫県神戸市, 12/6, 2012) 川原敦雄: モデル生物・ゼブラフィッシュを用いた生命科学研究</li> </ol>
<p>図書 計 7 件</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 川原敦雄 ゼブラフィッシュの順遺伝学から解明された心臓形成を司る分子実体 生化学 83, 379-387 (2011)</li> </ol>

	<p>2. 川原敦雄 循環器系および免疫系を制御するスフィンゴシン-1-リン酸 臨床検査 56, 198-202 (2011)</p> <p>3. 川原敦雄、岡田康志 TALENによる遺伝子改変ゼブラフィッシュの作成 細胞工学 32, 558-563 (2013)</p> <p>4. 久野悠、川原敦雄 ゼブラフィッシュを用いた脂質メディエーター研究 遺伝子医学 MOOK 24, 112-116 (2013)</p> <p>5. 木下政人、安齋賢、久野悠、川原敦雄 小型魚類における TALEN および CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子改変 実験医学別冊, 169-179 (2013)</p> <p>6. 久野悠、川原敦雄 スフィンゴシン-1-リン酸の分泌機構と生理機能 医学のあゆみ 248, 1014-1018 (2014)</p> <p>7. 太田聡、川原敦雄 ゼブラフィッシュにおけるゲノム編集と生命科学への応用 実験医学 in press (2014)</p>
産業財産権 出願・取得 状況 計0件	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	<p>生命システム研究センター 循環器分子動態研究ユニット <a href="http://www.qbic.riken.jp/japanese/research/outline/lab-20.html">http://www.qbic.riken.jp/japanese/research/outline/lab-20.html</a></p>
国民との科学・技術対 話の実施 状況	<p>2011年11月5日:理化学研究所一般公開において、蛍光実体顕微鏡下でゼブラフィッシュの赤血球や血管の発生過程を来場者に観察いただく形で、研究の内容紹介を行った。</p> <p>2012年2月5日:第4回サイエンスフェアにおいて、来場した高校生や一般の方に対して研究紹介を行うとともに研究内容への質問に答える形で議論や交流を行った。</p> <p>2012年10月20日:理化学研究所一般公開において、ゼブラフィッシュ胚の血球や血管の発生過程を来場者に観察していただく形で、研究内容の紹介を行った。</p> <p>2012年12月6日:兵庫県高等学校教育研究会において、高校の教職員の方に研究紹介を行うとともに研究内容への質問に答える形で議論や交流を行った。</p> <p>2013年10月19日:理化学研究所で開催された一般公開において、来場者に心臓や血管の形成過程を蛍光タンパク質の発現で観察していただき、我々の研究内容の紹介を行った。</p> <p>2014年2月2日:兵庫県の高校生が主催するサイエンスフェア神戸に参加し、高校生や一般来場者の方に研究紹介を行うとともに、高校生からの研究内容や質問に答える形で議論や交流を行った。</p> <p>発表論文に関する情報を理化学研究所のホームページを通じて発信している</p>
新聞・一般 雑誌等掲 載 計1件	<p>日経バイオテクの取材を受け、「人工ヌクレアーゼでゲノム編集」という特集で我々の研究の取り組みが照会された(2012年11月5日発行:日経バイオテク)。</p>
その他	<p>自然科学研究機構 基礎生物学研究所において、「人工ヌクレアーゼによる小型魚類の遺伝子破壊法」に関する講習会を高田慎治博士、木下政人博士、矢部泰二郎博士と共同で主催し、我々が開発したゲノム編集技術の国内研究者への普及に努めた。現在、ゲノム編集およびSIPの生理機能に関して、洋書2冊の分担執筆を行っており今年度中に出版される予定である。</p>

7. その他特記事