

発生遺伝子制御研究チーム

Laboratory for Developmental Gene Regulation

チームリーダー 岡 本 仁
OKAMOTO, Hitoshi

世代時間が短いことや、体の構造が単純であることなどのために、ゼブラフィッシュは、細胞生物学や遺伝学を使って神経細胞の分化を研究するのに適した脊椎動物のモデル実験動物として用いられている。現在ではゲノム情報の蓄積のおかげで、元々ゼブラフィッシュを使って得られた知見から、マウスやヒトの脳がどのようにして作られているのかを容易に探ることが可能になってきている。このような現状を踏まえて、我々のグループでは、Islet-1 ファミリーの転写因子群の発現制御機構の究明と下流標的遺伝子群の探索・機能解析、および運動神経細胞の分化に特異的欠損を示す突然変異体の系統的検索と単離を通じて、脳の領域と細胞のレベルでの特異化を制御する分子機構を研究している。さらに最近、遺伝子導入技術と突然変異解析とを活用し、運動と行動の制御に関わる神経回路網の研究を開始している。我々は、前脳と中脳の辺縁系をつなげる背側間脳伝導系の神経回路に左右差があることを発見し、現在このことのゼブラフィッシュの行動制御における意義を究明している。

1. 複数の LIM ホメオドメインタンパク質の発現の組合せによる組織と細胞の特異化機構の研究

LIM ホメオドメイン (LIM-HD) タンパク質の発現の組合せによる組織や細胞の特異化の分子機構を明らかにするために、我々は、Islet-1 遺伝子を解析し運動神経細胞のサブタイプ特異的な発現を制御するエンハンサーを同定した。さらに Islet-3 によって発現制御を受ける 2 つの新規分泌タンパク質の機能を研究し、Islet-2 によって発現制御を受ける感覚神経細胞特異的遺伝子の系統的検索を行った。我々がゼブラフィッシュを使ってはじめて発見した機構や分子は、哺乳類も含む全ての脊椎動物で高度に保存されていることが明らかになった。

(1) ゼブラフィッシュ、マウス、ヒトの間で保存された、運動神経サブタイプ特異的な発現を制御する Islet-1 遺伝子エンハンサーの同定 (植村^{*1}, 岡本)

LIM-HD 型転写因子の 1 つである Islet-1 は、ゼブラフィッシュの胚発生の過程で運動神経細胞のうちの特異的な一部の細胞群 (サブセット) のみで発現する。運動神経細胞のサブセットの特異化の機構が、脊椎動物の進化の過程で保存されているのかどうかを明らかにするために、我々はゼブラフィッシュ、マウス、ヒトの Islet-1 遺伝子のエンハンサーを同定し比較した。その結果約 500 bp の 2 つの遺伝子断片を Islet-1 遺伝子の下流で同定した。Islet-1 遺伝子に近いエンハンサーは後脳運動神経細胞と背側の体幹筋を支配する脊髄運動神経細胞での Islet-1 遺伝子の発現を制御し、遠位のエンハンサーは、腹側の体幹筋と胸鰭の外転筋を支配する脊髄運動神経細胞での発現を制御する。我々はさら

に、マウスとヒトのゲノムデータベースを検索し、Islet-1 遺伝子の下流ではあるがゼブラフィッシュの場合よりも 5 倍以上離れた箇所にゼブラフィッシュのエンハンサーと極めて類似する配列を発見した。トランスジェニックマウスを使った解析の結果、これらのエンハンサーは、ゼブラフィッシュの場合と同じ運動神経細胞のサブセットでの発現を制御していることが明らかになった。その結果これらの 2 つのエンハンサーは、ゼブラフィッシュでもマウスでも発生途上の体性運動神経細胞での Islet-1 遺伝子の発現を完全に再現するのに必要十分であり、運動神経細胞のサブタイプの特異化の機構は脊椎動物の進化の非常に初期に確立され保存されていることが明らかになった。

(2) Islet-3 によって制御を受ける新規分泌タンパクの機能解析 (平手, 青木, 石田, 鎌田^{*1}, 新井^{*2}, 川上^{*1}, 岡本)

我々は、ゼブラフィッシュ胚では Islet-1 ファミリーの LIM-HD 型転写因子の Islet-3 が、中脳と中脳・後脳境界部の間の誘導的相互作用のレベルを調節することによって、これらの組織の発生を制御していることを明らかにしている。正常胚と Islet-3 の機能が抑制された胚との遺伝子発現のパターンを比較することによって、Canopy1 と Cabriolet1 という、進化過程で高度に保存され新しいタンパク質のファミリーを構成する 2 種類のタンパクを発見した。我々は、Canopy1 が中脳・後脳境界部の周囲で発現する分泌タンパクで、FGF8 の共役因子として、この領域の発達に重要な役割を果たすことを発見した。さらに、Cabriolet1 が、脳の背側に発現し、神経系の背側部の形態形成運動や神経細胞分化に重要な役割を果たすことを明らかにした。

(3) 1 次感覚神経細胞の軸索伸長に関わる Islet-2 の下流標的遺伝子群の系統的探索 (瀬川, 内藤, 岡本)

我々はすでに、Islet-2 の機能抑制が三叉感覚神経細胞や Rohon-Beard 神経細胞の末梢神経軸索の伸展を特異的に阻害することを示している。我々は、300 個の三叉感覚神経細胞から cDNA ライブラリーを作製し、2,862 個の cDNA クローンの塩基配列を決定し、994 個の独立したクローンを得た。そのうちで既知の遺伝子との間に類似性が見られない 258 個の遺伝子について、*in situ* hybridization を行い、38 個の感覚神経細胞特異的に発現するクローンを得た。このうちの 21 個は、Islet-2 の機能抑制によって発現レベルが著しく変化した。

2. 後脳と脊髄の運動神経細胞の分化に欠損を示す突然変異体の系統的探索 (和田, 前田, 野島^{*1}, Han^{*1}, Li^{*1}, 木下^{*1}, 田中^{*1}, 下田^{*1}, 舟橋^{*1}, 小又^{*3}, 佐藤 (淳)^{*1}, 岩崎^{*4}, 鶴岡^{*4}, 佐藤 (美)^{*4}, 岡村^{*4}, 小林^{*3}, 梅沢^{*3}, 徳永^{*3}, 的場^{*3}, 岡本; 政井 (政井独立主幹研究ユニット))

Islet-1 遺伝子のエンハンサーによって、後脳の運動神経細胞で GFP を発現するトランスジェニック・ゼブラフィッシュの作製によって、これらの運動神経細胞の分化の節目の過程に支障をきたす突然変異体を系統的に探索することが可能になった。このような突然変異体を探し出すために、我々は、化学的突然変異原であるエチルニトロソウレアによって常法通りに処理された F0 魚の子孫である 1,071 組の F2 ファミリーに関して、1 ファミリーあたり平均 12 組のオスとメスをかけ合わせて少なくとも 8 組の交配によって得られた胚を観察した。その結果、我々は三叉 (V)、顔面 (VII) 運動神経細胞の分化に特異的な欠損を示す以下のような突然変異体を同定した。

(1) 全ての運動神経細胞の分化に影響をおよぼす突然変異
我々は、全ての後脳運動神経細胞の軸索が後脳から抜け出ることができなくなる突然変異 (*ephemeral*, *epr*^{rw22, rw502}) を 1 種類同定した。この異常は、色素細胞の欠損を伴っており、後脳運動神経細胞が後脳から抜け出すためには、神経堤細胞由来の何らかの細胞が関わっていることが示唆された。

(2) 三叉運動神経細胞の分化に影響をおよぼす突然変異
三叉運動神経細胞は、第 2 菱脳節 (r2) に存在する前核 (Va) と r3 の後核とによって成り立っている。これらのいずれも、受精後 60 時間目までは、内側から外側へと移動を行うが、Vp の運動神経細胞のみが次の 10 時間の間に、縦方向に走る神経軸索からなる腹側の白質の中へとさらに移動する。両方の運動神経細胞核からの軸索は r2 の同じ部位で後脳から抜け出る。Va 神経は、唯一の顎を閉じる筋肉である下顎外転筋のみを支配し、Vp 神経は下顎を開く筋肉群を支配する。この神経は、はじめ三叉感覚神経細胞の下顎枝とともに走行し、その後別れて、下顎弓由来の下顎筋群を支配する。下顎弓と舌骨弓由来の筋肉の境界に達すると、約 8 時間の間伸展を停止し、その後二又に分岐して両側の舌骨弓由来の筋肉を支配する。

emmental (*emt*^{rw617}) 突然変異体では、Vp 運動神経細胞と、動眼 (III) 滑車 (IV) 運動神経細胞が特異的に消失している。*freeze frame* (*fzf*^{rw154}) では、受精後 60 時間目以降に起こる Vp 神経細胞の移動が障害されている。我々は、Vp 神経が三叉感覚神経の下顎枝から分離する過程が障害される突然変異 (*rw598*) も単離している。*side-walk* (*swk*^{rw175}), *ceasefire* (*csf*^{rw204, 294}), *long-goodbye* (*lgb*^{rw219}), *twinpeak* (*tpk*^{rw250}) という 4 種類の突然変異体では、下顎弓と舌骨弓の境界で Vp 神経の分岐がおこらない。*rio grande* (*rgd*^{rw218, rw395}) と *rubicon* (*rbc*^{rw157}) という突然変異では、Vp 神経は分岐するが下顎弓と舌骨弓の境界を越えて舌骨弓由来の筋肉へ侵入できない。

(3) 顔面運動神経細胞の分化に影響をおよぼす突然変異
顔面運動神経細胞と遠心性聴側線神経細胞とは、受精後 18 時間目頃に、r4 で誕生し、その後後方へと移動して、受精後 24~28 時間目の間に r6 に定着する。これらの神経細胞の軸索は、r4 で後脳から抜け出し、遠心性聴側線神経細胞の軸索は一定の様式で分岐する。運動枝は、顔面感覚神経節と接触し、感覚枝とともにさらに腹側に伸展した後、分離して、舌骨弓由来の筋肉を支配する。

landlocked (*llk*^{rw16, rw468}), *off-road* (*ofr*^{rw71, rw135, rw166, rw380}), *trilobite* (*tri*^{rw75}) という突然変異体では、顔面運

動神経細胞の後方への移動がおこらない。*no epibranchial placode* (*nep*^{rw29, rw291, rw409}) mutant 突然変異体は、三叉感覚神経節を除く全ての頭蓋感覚神経節が欠損しており、顔面・迷走運動神経の軸索伸展に重篤な障害が見られる。*faceless* (*fcl*^{rw314}) 突然変異体では、顔面運動神経軸索は、顔面感覚神経軸索と分離できなくて、下顎筋群を支配できない。その他 4 種類の突然変異体で、顔面・三叉運動神経の下顎筋群への伸展障害が同様に見られる。

3. 運動と行動の制御に関わる神経回路の可視化；辺縁系関連神経回路の左右非対称性の研究 (相澤, 佐々, 佐藤 (智), 安藤, 浜岡^{*5}, 二木^{*1}, 亀谷^{*1}, 岡本)

Isl1-GFP 系統の樹立を通して我々が世界に先駆けて培ったトランスジェニック・ゼブラフィッシュ作製技術には、広い応用範囲がある。我々はこれまでに複数のトランスジェニック系統を樹立し、これらを用いて、運動や行動の制御に関わる中枢神経系の神経回路網を観察することが可能になった。なかでも、網膜神経節細胞や後脳の網様体脊髄神経細胞と直接つながっている視蓋神経細胞といった視覚情報処理に関わる多くの神経細胞を観察することができるトランスジェニック系統を確立した。さらに我々は、この系統が手綱核の神経細胞で GFP を発現するが、脳の左側と右側で発現の様式に違いがあることを見つけた。

手綱核は前脳と中脳の辺縁系を繋げる背側間脳伝導系の一部として、前脳から入力を受け、左右の手綱核からの情報を統合する中脳の脚間核に出力を伝える。最近の研究によってゼブラフィッシュでは、Cyclops や Antivin などの Nodal 関連シグナル分子が、発生過程で一過性に松果体原基の左右で非対称に発現することが知られている。このシグナルが欠損する突然変異では、手綱核の大きさの左右差に一定の方向性が無くなる。我々は、複数のトランスジェニック系統と複数の突然変異を用いることによって、正常胚では、左の手綱核からの神経軸索は脚間核の背側半分に、右の手綱核からの神経軸索は脚間核の腹側半分に、常に投射することを発見した。また、突然変異や Nodal 関連シグナルの異所性発現によって手綱核の大きさの左右差が逆転した胚では、投射パターンも逆転することを確認した。我々の発見は、Nodal 関連シグナルの左右非対称な発現から脳の左右の機能差までを結び付ける重要な手がかりを与えてくれるはずである。

^{*1} 非常勤研究員, ^{*2} 所外研究協力者, ^{*3} 研修生, ^{*4} 非常勤テクニカルスタッフ, ^{*5} ジュニア・リサーチ・アソシエイト

For its relatively short generation time and simple body structure, zebrafish embryos are the ideal vertebrate model organisms in which both cell biological and genetic manipulations are amenable for study of neural differentiation. Thanks to the progress in genome informatics, we can now easily extrapolate our knowledge originally obtained by using zebrafish to understand how the brain of mouse and human are made.

1. Making extensive use of these advantages, we identified two transcriptional enhancers of the Islet-1 gene controlling its expression in the subsets of motor neurons and

the functions of two novel secreted molecules under regulation of Islet-3 which play critical roles in differentiation of the midbrain-hindbrain boundary and the dorsal region of the nervous system, and performed the systematic search for the genes controlled by Islet-2 in the sensory neurons. We found that the mechanisms and molecules which we originally found in zebrafish are highly conserved in all vertebrates including mammals.

2. Using the transgenic zebrafish line expressing GFP in the hindbrain motor neurons under control of the Islet-1 gene enhancer, we systematically screened for mutants which show defects at the critical steps in differentiation of the hindbrain motor neurons, and study to identify the genes defective in the individual mutants is in progress.

3. Using the transgenic technology and the mutants we isolated, we have recently initiated a new study to examine the neural circuits regulating motion and behavior, and identified the critical difference in the neural circuits between the right and left sides of the dorsal diencephalic conduction system connecting the limbic forebrain and the limbic midbrain. We are now trying to understand the biological significance of this asymmetric circuit in control of zebrafish behavior.

Research Subjects and Members of Laboratory for Developmental Gene Regulation

1. Study of the mechanisms for tissue and cellular specification by combinatorial expression of LIM-homeodomain proteins
2. Systematic screening for the mutants with defects in differentiation of the hindbrain and spinal motor neurons
3. Visualization of the neural circuits involved in control of motion and behavior; study on the left-right asymmetry in the limbic system associated neural circuit

Laboratory Head

Dr. Hitoshi OKAMOTO

Staff Scientists

Dr. Hironori WADA
Dr. Hideki ANDO

Research Scientists

Dr. Hiroshi SEGAWA
Dr. Takayuki SASSA
Dr. Yoshikazu HIRATE
Dr. Ryu MAEDA
Dr. Tomomi SATO
Dr. Hidenori AIZAWA

Technical Staff I

Ms. Motoko AOKI
Ms. Mayumi NAITO
Ms. Mikako ISHIDA

Assistants

Ms. Atsuko SHIMADA

Junior Research Associates

Mr. Takanori HAMAOKA

RIKEN/BSI Collaborators

Dr. Ichiro MASAI (Masai Initiative Research Unit)

Outside Collaborators

Dr. Ken-ichi ARAI (Inst. Med. Sci., Tokyo Univ.)

Visiting Scientists

Dr. Jun-ichi FUNAHASHI (Inst. Dev., Aging Cancer, Tohoku Univ.)
Dr. Chang-Gyun HAN (JST, CREST)
Dr. Tomoyuki KAMATA (Metrop. Bokutoh Hosp.)
Dr. Hideki KAMETANI (Saitama Inst. Technol.)
Dr. Koichi KAWAKAMI (Div. Molecul. Dev. Biol., Nat. Inst. Gen.)
Dr. Shigeharu KINOSHITA (JST, CREST)
Dr. Haichang LI (JST, CREST)
Dr. Hiroaki NIKI (Saitama Inst. Technol.)
Dr. Yasuhiro NOJIMA (JST, CREST)
Dr. Atsushi SATO (Tokyo Univ. Technol.)
Dr. Nobuyoshi SHIMODA (JST)
Dr. Hideomi TANAKA (JST, CREST)
Dr. Osamu UEMURA (Keio Univ.)

Visiting Technical Staff

Ms. Miki IWASAKI (JST, CREST)
Ms. Ryoko NAKAYAMA (Brain Sci. Life Technol. Found.)
Ms. Satomi NAKAYAMA (Brain Sci. Life Technol. Found.)
Ms. Taemi NAWA (JST, CREST)
Ms. Mutsumi OKAMURA (JST, CREST)
Ms. Miki SATO (JST, CREST)
Ms. Sachiko TSURUOKA (JST, CREST)

Trainees

Ms. Megumi KOBAYASHI (Nihon Ishiyaku Coll.)
Ms. Miho MATOBA (Tokyo Tech. Sch. Med., Dent. Pharm. Sci.)
Mr. Yasuhiro OMATA (Tohoku Univ.)
Ms. Eri TOKUNAGA (Tokyo Tech. Sch. Med., Dent. Pharm. Sci.)
Mr. Hidemasa UMEZAWA (Tokyo Tech. Sch. Med., Dent. Pharm. Sci.)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Zeller J., Schneider V., Malayaman S., Higashijima S.,

Okamoto H., Gui J., Lin S., and Granato M.: “Migration of zebrafish spinal motor nerves into the periphery requires multiple myotome-derived cues”, *Dev. Biol.* **252**, 241–256 (2002). *

Masai I., Lele Z., Yamaguchi M., Komori A., Nakata A., Nishiwaki Y., Wada H., Tanaka H., Nojima Y., Hammerschmidt M., Wilson S. W., and Okamoto H.: “N-cadherin mediates retinal lamination, maintenance of forebrain compartments and patterning of retinal neurites”, *Development* **130**, 2479–2494 (2003). *

Hirate Y., Okamoto H., and Yamasu K.: “Structure of the zebrafish fasciclin I-related extracellular matrix protein(β ig-h3) and its characteristic expression during embryogenesis”, *Gene Exp. Pat.* **3**, 331–336 (2003). *

Ando H. and Okamoto H.: “Practical procedures for ectopic induction of gene expression in zebrafish embryos using Bhc-diazo-caged mRNA”, *Methods Cell Sci.* **25**, 25–31 (2003). *

Sassa T., Gomi H., and Itohara S.: “Postnatal expression of *Cdkl2* in mouse brain revealed by *LacZ* inserted into the *Cdkl2* locus”, *Cell Tissue Res.* **315**, 147–156 (2004). *

Okamoto H., Hirate Y., and Ando H.: “Systematic identification of factors in zebrafish regulating the early mid-brain and cerebellar development by ordered differential display and caged mRNA technology”, *Front. Biosci.* **9**, 93–99 (2004). *

(総説)

和田浩則, 岡本仁: “後脳の顔面運動神経細胞の移動機構”, *実験医学* **21**, 2304–2311 (2003).

和田浩則, 岩崎美樹, 岡本仁: “突然変異単離による神経発生機構の遺伝的解析”, *神経研究の進歩* **47**, 814–822 (2003).

安藤秀樹, 古田寿昭, 岡本仁: “新規ケージド化合物を用いた遺伝子の光によるスイッチオン/オフ技術”, *生化学* **75**, 1251–1254 (2003).

岡本仁, 植村修: “運動神経細胞の特異化と Islet-1 ファミリー”, *蛋白質 核酸 酵素* **49**, 241–246 (2004).

[単行本・Proc.]

(総説)

岡本仁: “遺伝子に書き込まれた神経系の設計図を読み取る”, 第17回「大学と科学」公開シンポジウム講演収録集「動物の形作りーその最前線と新展開」, 東京, 2002–11, 浅島誠 (編), クバプロ, 東京, pp. 178–192 (2003).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Maeda R., Ogura K., Tanaka H., Li H., Nojima Y., Wada H., Masai I., Yamaguchi M., and Okamoto H.: “Analyses of the mutants which affect the projection of trigeminal motor nerve in zebrafish embryos”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Li H., Masai I., Nojima Y., Komori A., Tanaka H., Nishiwaki Y., Wada H., and Okamoto H.: “Characterization of *kaitou(kat)*, a mutant affecting neural tube

morphogenesis in zebrafish”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Han C., Tanaka H., Wada H., Masai I., Nishiwaki Y., Nojima Y., and Okamoto H.: “Chromosome mapping of the *fzf* locus for *fzf* mutant in zebrafish”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Shoji W., Nojima Y., Maeda R., Li H., Tanaka H., Masai I., and Okamoto H.: “Development of lateral line system in zebrafish larva”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Tanaka H., Maeda R., Han C., Wada H., Masai I., Nishiwaki Y., Nojima Y., and Okamoto H.: “Genetic analysis of development of trigeminal motor neurons in zebrafish”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Kinoshita S., Sakurai M., Wada H., Tanaka H., Masai I., Nishiwaki Y., Sato A., Nojima Y., and Okamoto H.: “Isolation and analysis of zebrafish mutants of abnormal vagus nerve development”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Nojima Y., Matsuyama Y., Li H., Maeda R., Tanaka H., Wada H., Nishiwaki Y., Masai I., Kawakami A., and Okamoto H.: “Isolation and characterization of zebrafish mutants defective in lateral line and spinal motor axon development”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Sato A., Wada H., Tsubosaki Y., Tanaka H., Nishiwaki Y., Masai I., Nojima Y., Iwasaki M., Kawakami A., and Okamoto H.: “Mapping of the mutation *nep* affecting the formation of the epibranchial placode-derived sensory ganglia, and the mutation *epr* affecting the outgrowth of the cranial motor axons”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Wada H., Iwasaki M., Ito R., Sato T., Masai I., Nishiwaki Y., Tanaka H., Sato A., Nojima Y., and Okamoto H.: “Mechanisms underlying the migration of the facial motor neurons in the zebrafish hindbrain”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Iwasaki M., Wada H., Ito R., Sato T., Masai I., Nishiwaki Y., Tanaka H., Sato A., Nojima Y., and Okamoto H.: “Search for genes required for the migration of the facial motor neurons in zebrafish”, 2nd CREST Symp. on Development, Differentiation and Regeneration, Tokyo, May (2003).

Yamaguchi M., Komori A., Nishiwaki Y., Wada H., Tanaka H., Maeda R., Li H., Okamoto H., and Masai I.: “A zebrafish mutant, *pinball eye*, shows defects in differentiation of CMZ cells in the eye”, 3rd European Meet. on Zebrafish and Medaka Development and Genetics, Paris,

- France, June (2003).
- Nishiwaki Y., Komori A., Sagara H., Suzuki E., Nojima Y., Wada H., Tanaka H., Okamoto H., and Masai I.: "Analysis of three photoreceptor-loss mutants, *twilight*, *eclipse-a* and *-b*", 3rd European Meet. on Zebrafish and Medaka Development and Genetics, Paris, France, June (2003).
- Aizawa H., Ando H., Concha M. L., Barth K. A., Wilson S. W., and Okamoto H.: "Left-right asymmetry of the habenulo-interpeduncular projection in zebrafish brain", 3rd European Meet. on Zebrafish and Medaka Development and Genetics, Paris, France, June (2003).
- Okamoto H.: "Inductive signaling cascades for defining regional specificity in zebrafish brain", Meet. of Japanese and French Zebrafish and Medaka Laboratories, (Ecole Normale Supérieure), Paris, France, June (2003).
- Uemura O., Okada Y., Ando H., Higashijima S., Chino N., Shimazaki T., Okano H., and Okamoto H.: "Evolutionally conserved enhancers recapitulate the *Islet-1* gene expression in the developing spinal motor neurons", Int. Symp. on Dynamics of Neural Development, (Osaka University), Toyonaka, Aug. (2003).
- Tanaka H., Maeda R., Han C., Wada H., Masai I., Nishiwaki Y., Nojima Y., and Okamoto H.: "Genetic analysis of cell migration and axonal pathfinding of trigeminal motor neurons in zebrafish", Int. Symp. on Dynamics of Neural Development, (Osaka University), Toyonaka, Aug. (2003).
- Okamoto H.: "Inductive signaling cascades for defining regional specificity and left-right asymmetry in zebrafish brain", Int. Symp. on Dynamics of Neural Development, (Osaka University), Toyonaka, Aug. (2003).
- Aizawa H., Ando H., Concha M. L., Barth K. A., Wilson S. W., and Okamoto H.: "Left-right asymmetry of the habenulo-interpeduncular projection in zebrafish brain", Int. Symp. on Dynamics of Neural Development, (Osaka University), Toyonaka, Aug. (2003).
- Wada H., Iwasaki M., Sato T., Masai I., Nishiwaki Y., Tanaka H., Sato A., Nojima Y., and Okamoto H.: "Search for genes required for the migration of facial motor neurons in zebrafish", Int. Symp. on Dynamics of Neural Development, (Osaka University), Toyonaka, Aug. (2003).
- Hirate Y. and Okamoto H.: "The role of a novel secreted protein Canopy1 in FGF signaling", Int. Symp. on Dynamics of Neural Development, (Osaka University), Toyonaka, Aug. (2003).
- Okamoto H.: "Comparative genomics approach for study of motor neuron differentiation", 2nd Int. Symp. on Aquatic Genomics, Tokyo, Sept. (2003).
- Okamoto H.: "Genetic dissection of molecular cascades controlling midbrain and hindbrain development in zebrafish", 6th Conf. of the Asia-Pacific Int. Molecular Biology Network (A-IMBN) on Dramatic Movement of Life Science: Now to Future, Tokyo, Nov. (2003).
- Yamaguchi M., Tonou-Fujimori N., Komori A., Maeda R., Li H., Nojima Y., Okamoto H., and Masai I.: "Analysis of a zebrafish mutant, *ascending and descending*, showing overproliferation of retinal stem cells", Medaka Genome and Vertebrate Evolution, (University of Tokyo and Kondoh Differentiation Signaling Project), Tokyo, Mar. (2004).
- (国内会議)
- 李海昌, 政井一郎, 野島康弘, 小森敦子, 田中英臣, 西脇優子, 和田浩則, 岡本仁: "Characterization of *kaitou(kat)*, a mutant affecting neural tube morphogenesis in zebrafish", 日本発生生物学会第36回大会, 札幌, 6月(2003).
- 佐藤淳, 和田浩則, 坪崎陽一郎, 田中英臣, 西脇優子, 政井一郎, 野島康弘, 岩崎美樹, 川上厚志, 岡本仁: "GFP発現トランスジェニック・ゼブラフィッシュを用いた鰓弓神経節, 運動神経軸索の形成に関わる変異体の解析と原因遺伝子マッピング", 日本発生生物学会第36回大会, 札幌, 6月(2003).
- 岩崎美樹, 和田浩則, 伊藤梨絵, 佐藤智美, 政井一郎, 西脇優子, 田中英臣, 佐藤淳, 野島康弘, 岡本仁: "ゼブラフィッシュの顔面神経細胞の移動に必要な遺伝子の同定", 日本発生生物学会第36回大会, 札幌, 6月(2003).
- 和田浩則, 岩崎美樹, 伊藤梨絵, 佐藤智美, 政井一郎, 西脇優子, 田中英臣, 佐藤淳, 野島康弘, 岡本仁: "ゼブラフィッシュの突然変異体を用いた顔面神経核形成機構の解析", 日本発生生物学会第36回大会, 札幌, 6月(2003).
- 江本裕美, 岡本仁, 工藤明, 今井義幸: "ゼブラフィッシュ血管突然変異体 *bjm(blood jam)* の解析", 日本発生生物学会第36回大会, 札幌, 6月(2003).
- 前田龍, 小倉久美, 田中英臣, 李海昌, 山口雅裕, 政井一郎, 岡本仁: "ゼブラフィッシュ三叉運動神経の軸索伸長に異常を示す変異体群の解析", 日本発生生物学会第36回大会, 札幌, 6月(2003).
- 平手良和, 岡本仁: "新規遺伝子 *canopy* のFGFシグナルへの関与", 日本発生生物学会第36回大会, 札幌, 6月(2003).
- 野島康弘, 松山剛暢, 李海昌, 前田龍, 田中英臣, 和田浩則, 西脇優子, 政井一郎, 川上厚志, 岡本仁: "側線神経に異常を示す突然変異体の単離および解析", 日本発生生物学会第36回大会, 札幌, 6月(2003).
- 和田浩則, 岩崎美樹, 佐藤智美, 政井一郎, 西脇優子, 田中英臣, 佐藤淳, 野島康弘, 岡本仁: "ゼブラフィッシュの顔面神経細胞の移動に必要な遺伝子の同定", 第26回日本神経科学大会, 名古屋, 7月(2003).
- 岡本仁: "ゼブラフィッシュを使って分る後脳分化の新しい分子機構", 第26回日本神経科学大会, 名古屋, 7月(2003).
- 植村修, 岡田洋平, 東島眞一, 安藤秀樹, 千野直一, 島崎琢也, 岡野栄之, 岡本仁: "進化的に保存されている *Islet-1* 遺伝子の脊髄運動神経における転写制御", 第26回日本神経科学大会, 名古屋, 7月(2003).
- 李海昌, 政井一郎, 野島康弘, 小森敦子, 田中英臣, 西脇優子, 和田浩則, 岡本仁: "Characterization of *kaitou(kat)*, a mutant affecting neural tube morphogenesis in zebrafish", 第9回小型魚類研究会, 和光, 9月(2003).
- 和田浩則, 岩崎美樹, 佐藤智美, 政井一郎, 西脇優子, 田中英臣, 佐藤淳, 野島康弘, 岡本仁: "ゼブラフィッシュの顔

- 面運動神経細胞の移動に必要な遺伝子群の単離”, 第 9 回小型魚類研究会, 和光, 9 月 (2003).
- 相澤秀紀, 宮下俊雄, 安藤秀樹, 岡本仁: “ゼブラフィッシュの脳の左右差”, 第 9 回小型魚類研究会, 和光, 9 月 (2003).
- 江本裕美, 岡本仁, 工藤明, 今井義幸: “ゼブラフィッシュ血管突然変異体 *bjm(blood jam)* の解析”, 第 9 回小型魚類研究会, 和光, 9 月 (2003).
- 前田龍, 小倉久美, 小林恵実, 田中英臣, 李海昌, 山口雅裕, 政井一郎, 岡本仁: “ゼブラフィッシュ三叉運動神経の軸索伸長に異常を示す変異体群の解析”, 第 9 回小型魚類研究会, 和光, 9 月 (2003).
- 田中英臣, 前田龍, 韓昌均, 和田浩則, 政井一郎, 西脇優子, 野島康弘, 岡本仁: “ゼブラフィッシュ突然変異系統を用いた三叉運動神経の発生機構の解析”, 第 9 回小型魚類研究会, 和光, 9 月 (2003).
- 佐藤淳, 佐藤美紀, 和田浩則, 坪崎陽一郎, 田中英臣, 西脇優子, 政井一郎, 野島康弘, 岩崎美樹, 川上厚志, 岡本仁: “上鰓神経節の形成に異常を示す変異体 *nep* の原因遺伝子マッピングと、運動神経軸索の形成に異常を示す変異体 *epr* の原因遺伝子クローニング”, 第 9 回小型魚類研究会, 和光, 9 月 (2003).
- 平手良和, 岡本仁: “新規 FGF シグナル活性化因子 Canopy の中脳後脳境界における役割”, 第 9 回小型魚類研究会, 和光, 9 月 (2003).
- 植村修, 岡田洋平, 安藤秀樹, 東島眞一, 島崎琢哉, 千野直一, 岡野栄之, 岡本仁: “進化的に保存されている Islet-1 遺伝子の脊髄運動神経細胞における転写制御”, 第 9 回小型魚類研究会, 和光, 9 月 (2003).
- 野島康弘, 李海昌, 前田龍, 田中英臣, 和田浩則, 西脇優子, 政井一郎, 川上厚志, 岡本仁: “側線神経に異常を示す変異体の解析および原因遺伝子のマッピング”, 第 9 回小型魚類研究会, 和光, 9 月 (2003).
- 佐藤智美, 岡本仁, 三品昌美: “Cloning and characterization of a zebrafish locomotion-behavioral mutant, *vibrato*”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 宮坂信彦, 佐藤友紀, Yeo S.-Y., Chien C., 岡本仁, 吉原良浩: “Robo2/Slit シグナルはゼブラフィッシュ嗅細胞の軸索投射を制御する”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 武内昌哉, Clarke J.D., Wilson S.W., 岡本仁, 政井一郎: “Hedgehog, Nodal, FGF シグナル Vax 転写因子の制御とその眼柄領域特異化のメカニズム”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 相澤秀紀, 宮下俊雄, 安藤秀樹, 岡本仁: “ゼブラフィッシュの脳の左右差”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 和田浩則, 岩崎美樹, 佐藤智美, 政井一郎, 西脇優子, 田中英臣, 佐藤淳, 野島康弘, 岡本仁: “ゼブラフィッシュ後脳の顔面運動神経細胞の移動に必要な遺伝子の同定”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 岡本仁, 政井一郎, 吉原良浩, 日比正彦, 川上浩一: “ゼブラフィッシュ・ナショナルバイオリソース計画”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 岡本仁: “機能的神経回路網の形成を支配する遺伝子を求めて: モデル実験動物ゼブラフィッシュの果たす役割”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 西脇優子, 小森敦子, 相楽洋, 鈴木えみ子, 野島康弘, 和田浩則, 田中英臣, 岡本仁, 政井一郎: “視細胞外節形成に異常を示すゼブラフィッシュ突然変異体 *twilight* の解析”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 佐藤淳, 佐藤美紀, 和田浩則, 坪崎陽一郎, 田中英臣, 西脇優子, 政井一郎, 野島康弘, 岩崎美樹, 川上厚志, 岡本仁: “上鰓神経節の形成に異常を示す変異体 *nep* の原因遺伝子マッピングと、運動神経軸索の形成に異常を示す変異体 *epr* の原因遺伝子クローニング”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 平手良和, 岡本仁: “新規 FGF シグナル活性化因子 Canopy”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 植村修, 岡田洋平, 安藤秀樹, Guedj M., 東島眞一, 島崎琢哉, 千野直一, 岡野栄之, 岡本仁: “比較ゲノム情報学を用いた Islet-1 遺伝子の神経細胞サブタイプ特異的発現機構の解明”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 山口雅裕, 藤森典子, 小森敦子, 前田龍, 李海昌, 野島康弘, 岡本仁, 政井一郎: “網膜幹細胞が過剰増殖するゼブラフィッシュ突然変異体 *ascending and descending* の解析”, 第 26 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2003).
- 岡本仁: “Zebrafish as a normal model system to study neural circuit development for motion and emotion”, 第 10 回光科学技術で拓く脳・精神科学平和探求研究会, 浜松, 2 月 (2004).