

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金  
成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト  
(英語) National Bioresource Project

補助事業課題名： (日本語) メダカ先導的バイオリソース拠点形成  
(英語) Establishments of the advanced core facilities for medaka bioresources

補助事業担当者 (日本語) 自然科学研究機構基礎生物学研究所 特任教授 成瀬 清  
所属 役職 氏名： (英語) National Institute of Natural Sciences, National Institute for Basic  
Biology, Specially Appointed Professor, Kiyoshi Naruse

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) メダカ先導的バイオリソース拠点形成 (ライブリソースの拠点形成)  
分担課題名： (英語) Establishments of the advanced core facilities for medaka bioresources,  
(Establishment of the core facilities for medaka live resources)

補助事業分担者 (日本語) 国立大学法人新潟大学 理学部 教授 酒泉 満  
所属 役職 氏名： (英語) National University Corporation, Niigata University, Faculty of Science,  
Professor, Mituru Sakaizumi

分担研究 (日本語) 先導的バイオリソースの拠点形成 (凍結精子のバックアップ保管)  
分担課題名： (英語) Establishments of the advanced core facilities for medaka  
bioresources, (Backup of cryopreserved medaka sperm)

補助事業分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所脳科学総合研究センター 岡本 仁 シ  
ニアチームリーダー  
所属 役職 氏名： (英語) Riken, Brain Science Institute, Hitoshi Okamoto, Senior Team Leader

分担研究 (日本語) 先導的バイオリソースの拠点形成 (大腸菌クローンのバックアップ保管)  
分担課題名： (英語) Establishments of the advanced core facilities for medaka  
bioresources, (Backup of cryopreserved medaka sperm)

補助事業分担者 (日本語) 国立大学法人宮崎大学 農学部 教授 明石 良

所属 役職 氏名： (英 語) National University Corporation, Miyazaki University, Faculty of agriculture, Professor, Ryo Akashi

## II. 成果の概要 (総括成果報告)

### (1) 補助事業成果の概要

#### 収集・保存・提供事業

第3期事業開始当初に設定した目標は、1) ライブラリーの収集数、2) 平成25年度、27年度及び28年度のクローン提供数、3) 平成25年度の孵化酵素提供数の3項目を除き、すべての項目で達成している。平成28年度の提供数は421系統で、達成率は2倍となっている。近交系、遺伝子導入系統、原因遺伝子の判明している変異系統では、遺伝的モニタリングを実施しながら系統を維持・提供している。逆遺伝学的手法による TILLING ライブラリーのスクリーニング系の提供を平成23年度より開始し、現在もこれを継続している。ゲノム編集技術の成果を取り込み、NBRP Medaka でも CRISPR/CAS9 によるゲノム編集をサポートできる体制を平成25年度に整備し、プラスミド構築から RNA の顕微注入までを行うことができる共通のプラットフォームをメダカコミュニティに提供している。これにより、年平均で3~4組の研究グループが基礎生物学研究所を訪問し、ゲノム編集によって変異体を得ているという実績が挙がっている。また平成25年度より、近縁種 BAC ライブラリーのスクリーニング系を整備し、クローンの提供も開始した。

#### リソース要求窓口の一元化・データベースの高度化整備

内部データベースと外部データベースの連携のため、アプリケーションプログラミングインタフェースを整備した。その結果、内部データベースをアップデートすることで外部データベースもアップデートできる体制が完成した。データベースの整備では、メダカゲノム配列を利用した CRISPR 認識サイトの検索 (<http://viewer.shigen.info/medakavw/crisprtool/>)、近縁種 BAC クローン提供ページ (<https://shigen.nig.ac.jp/medaka/est/relatedSpeciesBACPlateAction.do?jsessionid=533FECE64E4380DFA0CD7C67A2CF89EB>) などの提供を継続している。PacBioRSII を用いたメダカの新たなゲノムアセンブリがリリースされたことから、新たなゲノムブラウザー (<http://viewer.shigen.info/medaka/index.php>) を構築し、公開した。現在、このブラウザーについて、メダカコミュニティによるβテスト(パスワードによるアクセス制限付きテスト)を実施中である。

#### プロジェクトの総合的推進

国内における普及活動として、分子生物学会と実験動物学会においてブースを設置し、広報活動を行っている。毎年開催される小型魚類研究会においてコミュニティ会議を行い、利用者の意見を聴取するとともに、新たなリソースを紹介し、利用の促進を図っている。高校生を対象としてサイエンスパートナーシッププログラムを実施するなど、未来の研究者への普及活動も積極的に行っている。国外における普及活動として、米国及びEUで開催される zebrafish meeting に参加し、国際的な小型魚類コミュニティに対する広報も行っている。日本、スペイン、オーストラリアで3回の The Strategic Meeting for Medaka Research (メダカ PI 会議) を開催した。また平成24年度、26年度、28年度には国内外の若手研究者を中心とした International Practical Course を開催した。平成27年度にはヒト疾患モデル研究と環境毒性学分野での水生動物の利用を促進するため、NBRP 水生モデル動物 4 リソースが合同で International Meeting on Aquatic Model Organisms for Human Disease and Toxicology Research を開催するなど、個別リソースを超えた活動も開始した。平成28年度には 8th Aquatic Animal Models of Human Disease Conference (平成29年1月7-12日、Birmingham、Alabama) において NBRP Medaka のブースを設置して国際的な広報を行った。

## **(1) Summary of NBRP Medaka activities**

### **Collection, preservation and provision of medaka resources**

The targets set at the beginning of the 3rd term of NBRP have been achieved except for the number of libraries collected, the number of clones provided in FY2013, FY2015 and FY2016, and the number of hatching enzymes provided in FY2010. In FY2016, the number of live resources provided was 421 and the achievement rate was doubled. In inbred strains, transgenic strains, and mutant strains whose causative genes are known, they are maintaining and providing strains after conducting genetic monitoring. We are providing a screening system for the TILLING library. Incorporating the results of genome editing technology, we established a system that can support genome editing by CRISPR/Cas9 in FY 2013. On average, 3-4 pairs visit the NIBB and create mutants by genome editing. In addition, the screening system of the closely related species BAC library has been established since FY2013, and the provision of clones has also started.

### **Unification of resource request window and improvement of medaka resource database**

We have developed an API for cooperation between internal database and external database. As a result, the system which can update the external database by updating the internal database has been completed. In the maintenance of the database, we are providing the search of the CRISPR recognition site using the medaka genome sequence (<http://viewer.shigen.info/medakavw/crisprtool/>), the provision of closely related species BAC clone providing page, etc. New medaka genome assembly using PacBioRSII was released, thus a new genome browser (<http://viewer.shigen.info/medaka/Index.php>) was constructed and made public. Currently we conduct beta testing by the medaka community (with password access restrictions).

### **Comprehensive promotion of the project**

In the promotion activities, we set up booths at several scientific meetings such as Biochemistry and Molecular Biology meeting, Japanese Association for laboratory Animal Science meeting, Zoological Society meeting etc. and are conducting public relations activities. We hold a community meeting at the annual small freshwater fish meeting and hear opinions of users, introduce new resources, and promote the use of new resources. We are also conducting dissemination activities to future researchers by implementing Science Partnership Program for high school students. We participated in the zebrafish meeting to be held in the U.S. and the EU. Strategical Meeting for Medaka Research organized by NBRP Medaka was held in Japan, Spain and Australia. In addition, International Practical Course centered for young researchers both in Japan and abroad was held in FY 2012, FY2014, and FY2016. In FY2015, to promote the use of aquatic animals in human disease model research and environmental toxicology field, 4 aquatic model animal resources in NBRP jointly organized the International Meeting on Aquatic Model Organisms for Human Disease and Toxicology Research, and activities beyond individual resources were also started. In FY2016, we set up a booth at NBRP Medaka at the 8th Aquatic Animal Models of Human Disease Conference (Birmingham, Alabama January 7-12, 2016), and made international public relations.

## **III. 成果の外部への発表**

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2 件、国際誌 110 件)

1. Homma N, Harada Y, Uchikawa T, Kamei Y, Fukamachi S. Protanopia (red color-blindness) in medaka: a simple system for producing color-blind fish and testing their spectral sensitivity.

2. Sagai T, Amano T, Maeno A, Kimura T, Nakamoto M, Takehana Y, Naruse K, Okada N, Kiyonari H, Shiroishi T. Evolution of Shh endoderm enhancers during morphological transition from ventral lungs to dorsal gas bladder. *Nat Commun* 8 14300 2017
3. Nakano M, Arai Y, Kotera I, Okabe K, Kamei Y, Nagai T. Genetically encoded ratiometric fluorescent thermometer with wide range and rapid response. *PLoS ONE* 12(2) e0172344 2017
4. Igarashi K, Kobayashi J, Katsumura T, Urushihara Y, Hida K, Watanabe-Asaka T, Oota H, Oda S, Mitani H. An Approach to Elucidate NBS1 Function in DNA Repair Using Frequent Nonsynonymous Polymorphism in Wild Medaka (*Oryzias latipes*) Populations. *PLoS ONE* 12(1) e0170006 2017
5. Seki S, Kusano K, Lee S, Iwasaki Y, Yagisawa M, Ishida M, Hiratsuka T, Sasado T, Naruse K, Yoshizaki G. Production of the medaka derived from vitrified whole testes by germ cell transplantation. *Sci Rep* 7 43185 2017
6. Takeyama K, Chatani M, Inohaya K, Kudo A. TGF $\beta$ -2 signaling is essential for osteoblast migration and differentiation during fracture healing in medaka fish. *Bone* 86 68-78 2016
7. Mantoku A, Chatani M, Aono K, Inohaya K, Kudo A. Osteoblast and osteoclast behaviors in the turnover of attachment bones during medaka tooth replacement. *Dev. Biol.* 409(2) 370-81 2016
8. Yu T, Graf M, Renn J, Scharl M, Larionova D, Huysseune A, Witten PE, Winkler C. A vertebrate-specific and essential role for osterix in osteogenesis revealed by gene knockout in the teleost medaka. *Development* 144(2) 265-271 2016
9. Nagashima H, Sugahara F, Watanabe K, Shibata M, Chiba A, Sato N. Developmental origin of the clavicle, and its implications for the evolution of the neck and the paired appendages in vertebrates. *J. Anat.* 229(4) 536-48 2016
10. Kagawa N, Honda A, Zenno A, Omoto R, Imanaka S, Takehana Y, Naruse K. Arginine vasotocin neuronal development and its projection in the adult brain of the medaka. *Neurosci. Lett.* 613 47-53 2016
11. Zhang X, Guan G, Li M, Zhu F, Liu Q, Naruse K, Herpin A, Nagahama Y, Li J, Hong Y. Autosomal gsdf acts as a male sex initiator in the fish medaka. *Sci Rep* 6 19738 2016
12. Gladys FM, Matsuda M, Lim Y, Jackin BJ, Imai T, Otani Y, Yatagai T, Cense B. Developmental and morphological studies in Japanese medaka with ultra-high resolution optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 6(2) 297-308 2015
13. Yamamoto T, Tsukahara T, Ishiguro T, Hagiwara H, Taira M, Takeda H. The medaka dhc2 mutant reveals conserved and distinct mechanisms of Hedgehog signaling in teleosts. *BMC Dev. Biol.* 15 9 2015
14. Taimatsu K, Takubo K, Maruyama K, Suda T, Kudo A. Proliferation following tetraploidization regulates the size and number of erythrocytes in the blood flow during medaka development, as revealed by the abnormal karyotype of erythrocytes in the medaka TFDP1 mutant. *Dev. Dyn.* 244(5) 651-68 2015
15. Reinhardt R, Centanin L, Tavhelidse T, Inoue D, Wittbrodt B, Concordet JP, Martinez-Morales JR, Wittbrodt J. Sox2, Tlx, Gli3, and Her9 converge on Rx2 to define retinal stem cells in vivo. *EMBO J.* 34(11) 1572-88 2015
16. Hosono K, Kikuchi Y, Miyanishi H, Hiraki-Kajiyama T, Takeuchi A, Nakasone K, Maehiro S, Okubo

- K. Teleocortin: A Novel Member of the CRH Family in Teleost Fish. *Endocrinology* 156(8) 2949–57 2015
17. Porazinski S, Wang H, Asaoka Y, Behrndt M, Miyamoto T, Morita H, Hata S, Sasaki T, Krens SF, Osada Y, Asaka S, Momoi A, Linton S, Miesfeld JB, Link BA, Senga T, Castillo-Morales A, Urrutia AO, Shimizu N, Nagase H, Matsuura S, Bagby S, Kondoh H, Nishina H, Heisenberg CP, Furutani-Seiki M. YAP is essential for tissue tension to ensure vertebrate 3D body shape. *Nature* 521(7551) 217–21 2015
  18. Uemura N, Koike M, Ansai S, Kinoshita M, Ishikawa-Fujiwara T, Matsui H, Naruse K, Sakamoto N, Uchiyama Y, Todo T, Takeda S, Yamakado H, Takahashi R. Viable neuronopathic Gaucher disease model in Medaka (*Oryzias latipes*) displays axonal accumulation of alpha-synuclein. *PLoS Genet.* 11(4) e1005065 2015
  19. Nishimura T, Sato T, Yamamoto Y, Watakabe I, Ohkawa Y, Suyama M, Kobayashi S, Tanaka M. Sex determination. *foxl3* is a germ cell-intrinsic factor involved in sperm-egg fate decision in medaka. *Science* 349(6245) 328–31 2015
  20. Iida Y, Hibiya K, Inohaya K, Kudo A. Eda/Edar signaling guides fin ray formation with preceding osteoblast differentiation, as revealed by analyses of the medaka all-fin less mutant *afl*. *Dev. Dyn.* 243(6) 765–77 2014
  21. Centanin L, Ander JJ, Hoeckendorf B, Lust K, Kellner T, Kraemer I, Urbany C, Hasel E, Harris WA, Simons BD, Wittbrodt J. Exclusive multipotency and preferential asymmetric divisions in post-embryonic neural stem cells of the fish retina. *Development* 141(18) 3472–82 2014
  22. Hasebe M, Kanda S, Shimada H, Akazome Y, Abe H, Oka Y. *Kiss1* neurons drastically change their firing activity in accordance with the reproductive state: insights from a seasonal breeder. *Endocrinology* 155(12) 4868–80 2014
  23. Crespo CL, Vernieri C, Keller PJ, Garre M, Bender JR, Wittbrodt J, Pardi R. The PAR complex controls the spatiotemporal dynamics of F-actin and the MTOC in directionally migrating leukocytes. *J. Cell. Sci.* 127(20) 4381–95 2014
  24. Takehana Y, Matsuda M, Myosho T, Suster ML, Kawakami K, Shin-I T, Kohara Y, Kuroki Y, Toyoda A, Fujiyama A, Hamaguchi S, Sakaizumi M, Naruse K. Co-option of *Sox3* as the male-determining factor on the Y chromosome in the fish *Oryzias dancena*. *Nat Commun* 5 4157 2014
  25. Liedtke D, Erhard I, Abe K, Furutani-Seiki M, Kondoh H, Schartl M. *Xmrk*-induced melanoma progression is affected by *Sdf1* signals through *Cxcr7*. *Pigment Cell Melanoma Res* 27(2) 221–33 2014
  26. Nagao Y, Suzuki T, Shimizu A, Kimura T, Seki R, Adachi T, Inoue C, Omae Y, Kamei Y, Hara I, Taniguchi Y, Naruse K, Wakamatsu Y, Kelsh RN, Hibi M, Hashimoto H. *Sox5* functions as a fate switch in medaka pigment cell development. *PLoS Genet.* 10(4) e1004246 2014
  27. Kimura T, Nagao Y, Hashimoto H, Yamamoto-Shiraishi Y, Yamamoto S, Yabe T, Takada S, Kinoshita M, Kuroiwa A, Naruse K. Leucophores are similar to xanthophores in their specification and differentiation processes in medaka. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111(20) Aug–43 2014
  28. Okuyama T, Yokoi S, Abe H, Isoe Y, Suehiro Y, Imada H, Tanaka M, Kawasaki T, Yuba S, Taniguchi Y, Kamei Y, Okubo K, Shimada A, Naruse K, Takeda H, Oka Y, Kubo T, Takeuchi H. A neural mechanism underlying mating preferences for familiar individuals in medaka fish. *Science* 343(6166) Apr–91 2014

29. Magadan-Mompo S, Zimmerman AM, Sanchez-Espinel C, Gambon-Deza F. Immunoglobulin light chains in medaka (*Oryzias latipes*). Immunogenetics 65(5) 387-96 2013
30. Ishikawa T, Okada T, Ishikawa-Fujiwara T, Todo T, Kamei Y, Shigenobu S, Tanaka M, Saito TL, Yoshimura J, Morishita S, Toyoda A, Sakaki Y, Taniguchi Y, Takeda S, Mori K. ATF6  $\alpha/\beta$  mediated adjustment of ER chaperone levels is essential for development of the notochord in medaka fish. Mol. Biol. Cell 24(9) 1387-95 2013

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Establishment of medaka full length cDNA resources, Naruse, K., Yoshimura, Y., Shen, X., Okubo, T., Shin-I, T., Minakuchi, Y., Kagoshima, H., Ohishi, K., Toyoda, A., Aizu, T. Watanabe, T., Yamazaki, Y., Fujiyama, A. and Kohara, Y. 平成 24 年 6 月 19-26 日 10th International Conference on Zebrafish Development and Genetics (Madison, Wisconsin) (ポスター)
2. Medaka community meeting, Naruse, K. 平成 24 年 9 月 22-23 日 第 18 回小型魚類研究会 (京都大学 京都) (口頭)
3. National BioResource Project Medaka (NBRP Medaka): Comprehensive Resources for Biology and Biomedical Science K. Naruse, T. Sasado, M. Tanaka, T. Sato and M. Sakaizumi 平成 24 年 10 月 16-20 日 4<sup>th</sup> ANRRC International meeting (Jeju, Korea) (ポスター)
4. Establishment of medaka full length cDNA resources. Naruse, K., Yoshimura, Y., Shen, X., Okubo, T., Shin-I, T., Minakuchi, Y., Kagoshima, H., Ohishi, K., Toyoda, A., Aizu, T. Watanabe, T., Yamazaki, Y., Fujiyama, A. and Kohara, Y. 平成 24 年 11 月 21 日 第 3 期 NBRP 開始記念ナショナルバイオリソースプロジェクトシンポジウム—第 3 期の挑戦—(品川 東京) (口頭)
5. Medaka community meeting. 成瀬 清 平成 25 年 9 月 20-21 日 第 20 回小型魚類研究会 (慶應義塾大学 東京) (口頭)
6. Cryopreservation of testicular tissues and the re-establishment of the strains from cryopreserved spermatogonial stem cells using surrogate system in medaka. Seki, S., Lee, S., Iwasaki, Y., Hiratsuka, T., Kusano, K., Endo, S., Sasado, T., Yoshizaki, G. and Naruse, K. 平成 25 年 7 月 9-13 日 8th European Zebrafish Meeting (Barcelona, Spain). (口頭)
7. Medaka as a model animal, current status of medaka biological resources and the community support from NIBB. Naruse, K. 平成 25 年 10 月 16-18 日 1st Zebrafish for Personalized/Precision Medicine Conference (Toronto, Canada) (ポスター)
8. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 25 年 12 月 3-5 日 第 36 回日本分子生物学会特別企画実物付きパネル展示バイオリソース勢揃い (神戸国際会議場 神戸) (ポスター)
9. 様々な動物をもちいたヒト疾患・病態モデル解析へのアプローチ 成瀬 清、谷口善仁 平成 25 年 9 月 26-28 日 第 84 回日本動物学会シンポジウム (岡山大学 岡山) (口頭)
10. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 26 年 5 月 15-17 日 日本実験動物科学技術さっぽろ 2014 (札幌コンベンションセンター、札幌) (ポスター)
11. Medaka community meeting. 成瀬 清 平成 26 年 9 月 19-20 日 第 21 回小型魚類研究会 (大阪大学、大阪) (口頭)
12. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 26 年 10 月 23-

- 24日 Cryopreservation conference 2014 (基礎生物学研究所、岡崎) (ポスター)
13. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 26 年 11 月 25-27 日第 37 回日本分子生物学会 (パシフィコ横浜、横浜) (ポスター)
  14. Medaka as a model animal, current status of medaka biological resources and the community support from NIBB. Naruse, K. 平成 26 年 12 月 13-18 日 7th Aquatic models of human disease conference (Austin, Texas) (口頭)
  15. メダカのメスが見知ったオスを選び好む配偶者選択行動の神経基盤 奥山 輝大 平成 27 年 1 月 20 日 NBRP 成果報告会 (東京コンファレンスセンター品川、東京) (口頭)。
  16. Medaka community meeting. 成瀬 清 平成 28 年 8 月 20-21 日 第 22 回小型魚類研究会 (基礎生物学研究所、岡崎) (口頭)
  17. Medaka as a model animal, current status of medaka biological resources and the community support from NIBB Naruse, K., Takehana, Y., Kamei, Y., Sato, T., Sakaizumi, M., Akashi, R. and Okamoto, H. 平成 28 年 9 月 20-22 日 ANRRC 2016(紫蘭会館、京都) (ポスター)、
  18. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 28 年 11 月 10-11 日 Cryopreservation conference 2016(岡崎コンファレンスホール、岡崎) (ポスター)
  19. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 28 年 11 月 30 日-12 月 2 日 第 39 回日本分子生物学会特別企画実物付きパネル展示バイオリソース勢揃い (横浜国際会議場、横浜) (ポスター)
  20. Aquatic models in National BioResource Project (NBRP) in Japan. Naruse, K. and Takahana, Y. 平成 29 年 1 月 7-12 日 8th Aquatic Animal Models of Human Disease Conference (Birmingham, Alabama) (ポスター)
  21. How to make your fish see-through? Medaka irridophore mutant, guanineless was caused by mutation in purine nucleoside phosphorylase 4a Kimura, T. and Naruse, K. 平成 29 年 1 月 7-12 日 8th Aquatic Animal Models of Human Disease Conference (Birmingham, Alabama) (口頭)

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 87 回大会 (那覇) 平成 28 年 11 月 17-19 日
2. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 86 回大会 (新潟) 平成 27 年 9 月 17-19 日
3. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 85 回大会 (仙台) 平成 26 年 9 月 11-13 日
4. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 84 回大会 (岡山) 平成 25 年 9 月 26-28 日
5. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 83 回大会 (大阪) 平成 24 年 9 月 13-15 日

### (4) 特許出願

なし

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金  
成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト  
(英語) National Bioresource Project

補助事業課題名： (日本語) メダカ先導的バイオリソース拠点形成  
(英語) Establishments of the advanced core facilities for medaka  
bioresources

補助事業担当者 (日本語) 自然科学研究機構基礎生物学研究所 特任教授 成瀬 清  
所属 役職 氏名： (英語) National Institute of Natural Sciences, National Institute for Basic  
Biology, Specially Appointed Professor, Kiyoshi Naruse

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) メダカ先導的バイオリソース拠点形成 (ライブリソースの拠点形成)  
分担課題名： (英語) Establishments of the advanced core facilities for medaka bioresources,  
(Establishment of the core facilities for medaka live resources)

補助事業分担者 (日本語) 国立大学法人新潟大学 理学部 教授 酒泉 満  
所属 役職 氏名： (英語) National University Corporation, Niigata University, Faculty of  
Science, Professor, Mituru Sakaizumi

分担研究 (日本語) 先導的バイオリソースの拠点形成 (凍結精子のバックアップ保管)  
分担課題名： (英語) Establishments of the advanced core facilities for medaka  
bioresources, (Backup of cryopreserved medaka sperm)

補助事業分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所脳科学総合研究センター 岡本 仁 シ  
ニアチームリーダー  
所属 役職 氏名： (英語) Riken, Brain Science Institute, Hitoshi Okamoto, Senior Team Leader

分担研究 (日本語) 先導的バイオリソースの拠点形成 (大腸菌クローンのバックアップ保管)  
分担課題名： (英語) Establishments of the advanced core facilities for medaka  
bioresources, (Backup of cryopreserved medaka sperm)

補助事業分担者 (日本語) 国立大学法人宮崎大学 農学部 教授 明石 良



所属 役職 氏名： (英 語) National University Corporation, Miyazaki University, Faculty of  
agriculture, Professor, Ryo Akashi

## II. 成果の概要 (総括成果報告)

補助事業代表者：自然科学研究機構基礎生物学研究所 特任教授 成瀬 清  
総括成果報告を参照。

## III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2 件、国際誌 110 件)

1. Homma N, Harada Y, Uchikawa T, Kamei Y, Fukamachi S. Protanopia (red color-blindness) in medaka: a simple system for producing color-blind fish and testing their spectral sensitivity. BMC Genet. 18(1) 10 2017
2. Sagai T, Amano T, Maeno A, Kimura T, Nakamoto M, Takehana Y, Naruse K, Okada N, Kiyonari H, Shiroishi T. Evolution of Shh endoderm enhancers during morphological transition from ventral lungs to dorsal gas bladder. Nat Commun 8 14300 2017
3. Nakano M, Arai Y, Kotera I, Okabe K, Kamei Y, Nagai T. Genetically encoded ratiometric fluorescent thermometer with wide range and rapid response. PLoS ONE 12(2) e0172344 2017
4. Igarashi K, Kobayashi J, Katsumura T, Urushihara Y, Hida K, Watanabe-Asaka T, Oota H, Oda S, Mitani H. An Approach to Elucidate NBS1 Function in DNA Repair Using Frequent Nonsynonymous Polymorphism in Wild Medaka (*Oryzias latipes*) Populations. PLoS ONE 12(1) e0170006 2017
5. Seki S, Kusano K, Lee S, Iwasaki Y, Yagisawa M, Ishida M, Hiratsuka T, Sasado T, Naruse K, Yoshizaki G. Production of the medaka derived from vitrified whole testes by germ cell transplantation. Sci Rep 7 43185 2017
6. Takeyama K, Chatani M, Inohaya K, Kudo A. TGF $\beta$ -2 signaling is essential for osteoblast migration and differentiation during fracture healing in medaka fish. Bone 86 68-78 2016
7. Mantoku A, Chatani M, Aono K, Inohaya K, Kudo A. Osteoblast and osteoclast behaviors in the turnover of attachment bones during medaka tooth replacement. Dev. Biol. 409(2) 370-81 2016
8. Yu T, Graf M, Renn J, Scharl M, Larionova D, Huysseune A, Witten PE, Winkler C. A vertebrate-specific and essential role for osterix in osteogenesis revealed by gene knockout in the teleost medaka. Development 144(2) 265-271 2016
9. Nagashima H, Sugahara F, Watanabe K, Shibata M, Chiba A, Sato N. Developmental origin of the clavicle, and its implications for the evolution of the neck and the paired appendages in vertebrates. J. Anat. 229(4) 536-48 2016
10. Kagawa N, Honda A, Zenno A, Omoto R, Imanaka S, Takehana Y, Naruse K. Arginine vasotocin neuronal development and its projection in the adult brain of the medaka. Neurosci. Lett. 613 47-53 2016
11. Zhang X, Guan G, Li M, Zhu F, Liu Q, Naruse K, Herpin A, Nagahama Y, Li J, Hong Y. Autosomal gsdf acts as a male sex initiator in the fish medaka. Sci Rep 6 19738 2016

12. Gladys FM, Matsuda M, Lim Y, Jackin BJ, Imai T, Otani Y, Yatagai T, Cense B. Developmental and morphological studies in Japanese medaka with ultra-high resolution optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 6(2) 297–308 2015
13. Yamamoto T, Tsukahara T, Ishiguro T, Hagiwara H, Taira M, Takeda H. The medaka *dhc2* mutant reveals conserved and distinct mechanisms of Hedgehog signaling in teleosts. *BMC Dev. Biol.* 15 9 2015
14. Taimatsu K, Takubo K, Maruyama K, Suda T, Kudo A. Proliferation following tetraploidization regulates the size and number of erythrocytes in the blood flow during medaka development, as revealed by the abnormal karyotype of erythrocytes in the medaka TFDPI mutant. *Dev. Dyn.* 244(5) 651–68 2015
15. Reinhardt R, Centanin L, Tavhelidse T, Inoue D, Wittbrodt B, Concordet JP, Martinez-Morales JR, Wittbrodt J. Sox2, Tlx, Gli3, and Her9 converge on Rx2 to define retinal stem cells in vivo. *EMBO J.* 34(11) 1572–88 2015
16. Hosono K, Kikuchi Y, Miyanishi H, Hiraki-Kajiyama T, Takeuchi A, Nakasone K, Maehiro S, Okubo K. Teleocortin: A Novel Member of the CRH Family in Teleost Fish. *Endocrinology* 156(8) 2949–57 2015
17. Porazinski S, Wang H, Asaoka Y, Behrndt M, Miyamoto T, Morita H, Hata S, Sasaki T, Krens SF, Osada Y, Asaka S, Momoi A, Linton S, Miesfeld JB, Link BA, Senga T, Castillo-Morales A, Urrutia AO, Shimizu N, Nagase H, Matsuura S, Bagby S, Kondoh H, Nishina H, Heisenberg CP, Furutani-Seiki M. YAP is essential for tissue tension to ensure vertebrate 3D body shape. *Nature* 521(7551) 217–21 2015
18. Uemura N, Koike M, Ansai S, Kinoshita M, Ishikawa-Fujiwara T, Matsui H, Naruse K, Sakamoto N, Uchiyama Y, Todo T, Takeda S, Yamakado H, Takahashi R. Viable neuronopathic Gaucher disease model in Medaka (*Oryzias latipes*) displays axonal accumulation of alpha-synuclein. *PLoS Genet.* 11(4) e1005065 2015
19. Nishimura T, Sato T, Yamamoto Y, Watakabe I, Ohkawa Y, Suyama M, Kobayashi S, Tanaka M. Sex determination. *foxl3* is a germ cell-intrinsic factor involved in sperm-egg fate decision in medaka. *Science* 349(6245) 328–31 2015
20. Iida Y, Hibiya K, Inohaya K, Kudo A. Eda/Edar signaling guides fin ray formation with preceding osteoblast differentiation, as revealed by analyses of the medaka all-fin less mutant *afl*. *Dev. Dyn.* 243(6) 765–77 2014
21. Centanin L, Ander JJ, Hoeckendorf B, Lust K, Kellner T, Kraemer I, Urbany C, Hasel E, Harris WA, Simons BD, Wittbrodt J. Exclusive multipotency and preferential asymmetric divisions in post-embryonic neural stem cells of the fish retina. *Development* 141(18) 3472–82 2014
22. Hasebe M, Kanda S, Shimada H, Akazome Y, Abe H, Oka Y. Kiss1 neurons drastically change their firing activity in accordance with the reproductive state: insights from a seasonal breeder. *Endocrinology* 155(12) 4868–80 2014
23. Crespo CL, Vernieri C, Keller PJ, Garre M, Bender JR, Wittbrodt J, Pardi R. The PAR complex controls the spatiotemporal dynamics of F-actin and the MTOC in directionally migrating leukocytes. *J. Cell. Sci.* 127(20) 4381–95 2014
24. Takehana Y, Matsuda M, Myosho T, Suster ML, Kawakami K, Shin-I T, Kohara Y, Kuroki Y,

- Toyoda A, Fujiyama A, Hamaguchi S, Sakaizumi M, Naruse K. Co-option of Sox3 as the male-determining factor on the Y chromosome in the fish *Oryzias dancena*. Nat Commun 5 4157 2014
25. Liedtke D, Erhard I, Abe K, Furutani-Seiki M, Kondoh H, Schartl M. Xmrk-induced melanoma progression is affected by Sdf1 signals through Cxcr7. Pigment Cell Melanoma Res 27(2) 221-33 2014
26. Nagao Y, Suzuki T, Shimizu A, Kimura T, Seki R, Adachi T, Inoue C, Omae Y, Kamei Y, Hara I, Taniguchi Y, Naruse K, Wakamatsu Y, Kelsh RN, Hibi M, Hashimoto H. Sox5 functions as a fate switch in medaka pigment cell development. PLoS Genet. 10(4) e1004246 2014
27. Kimura T, Nagao Y, Hashimoto H, Yamamoto-Shiraishi Y, Yamamoto S, Yabe T, Takada S, Kinoshita M, Kuroiwa A, Naruse K. Leucophores are similar to xanthophores in their specification and differentiation processes in medaka. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 111(20) Aug-43 2014
28. Okuyama T, Yokoi S, Abe H, Isoe Y, Suehiro Y, Imada H, Tanaka M, Kawasaki T, Yuba S, Taniguchi Y, Kamei Y, Okubo K, Shimada A, Naruse K, Takeda H, Oka Y, Kubo T, Takeuchi H. A neural mechanism underlying mating preferences for familiar individuals in medaka fish. Science 343(6166) Apr-91 2014
29. Magadan-Mompo S, Zimmerman AM, Sanchez-Espinel C, Gambon-Deza F. Immunoglobulin light chains in medaka (*Oryzias latipes*). Immunogenetics 65(5) 387-96 2013
30. Ishikawa T, Okada T, Ishikawa-Fujiwara T, Todo T, Kamei Y, Shigenobu S, Tanaka M, Saito TL, Yoshimura J, Morishita S, Toyoda A, Sakaki Y, Taniguchi Y, Takeda S, Mori K. ATF6 $\alpha$ / $\beta$  mediated adjustment of ER chaperone levels is essential for development of the notochord in medaka fish. Mol. Biol. Cell 24(9) 1387-95 2013

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Establishment of medaka full length cDNA resources, Naruse, K., Yoshimura, Y., Shen, X., Okubo, T., Shin-I, T., Minakuchi, Y., Kagoshima, H., Ohishi, K., Toyoda, A., Aizu, T. Watanabe, T., Yamazaki, Y., Fujiyama, A. and Kohara, Y. 平成 24 年 6 月 19-26 日 10th International Conference on Zebrafish Development and Genetics (Madison, Wisconsin) (ポスター)
2. Medaka community meeting, Naruse, K. 平成 24 年 9 月 22-23 日 第 18 回小型魚類研究会 (京都大学 京都) (口頭)
3. National BioResource Project Medaka (NBRP Medaka): Comprehensive Resources for Biology and Biomedical Science K. Naruse, T. Sasado, M. Tanaka, T. Sato and M. Sakaizumi 平成 24 年 10 月 16-20 日 4<sup>th</sup> ANRRC International meeting (Jeju, Korea) (ポスター)
4. Establishment of medaka full length cDNA resources. Naruse, K., Yoshimura, Y., Shen, X., Okubo, T., Shin-I, T., Minakuchi, Y., Kagoshima, H., Ohishi, K., Toyoda, A., Aizu, T. Watanabe, T., Yamazaki, Y., Fujiyama, A. and Kohara, Y. 平成 24 年 11 月 21 日 第 3 期 NBRP 開始記念ナショナルバイオリソースプロジェクトシンポジウム—第 3 期の挑戦— (品川 東京) (口頭)
5. Medaka community meeting. 成瀬 清 平成 25 年 9 月 20-21 日 第 20 回小型魚類研究会 (慶應義塾大学 東京) (口頭)
6. Cryopreservation of testicular tissues and the re-establishment of the strains from

cryopreserved spermatogonial stem cells using surrogate system in medaka. Seki, S., Lee, S., Iwasaki, Y., Hiratsuka, T., Kusano, K., Endo, S., Sasado, T., Yoshizaki, G. and Naruse, K. 平成 25 年 7 月 9-13 日 8th European Zebrafish Meeting (Barcelona, Spain). (口頭)

7. Medaka as a model animal, current status of medaka biological resources and the community support from NIBB. Naruse, K. 平成 25 年 10 月 16-18 日 1st Zebrafish for Personalized/Precision Medicine Conference (Toronto, Canada) (ポスター)
8. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 25 年 12 月 3-5 日 第 36 回日本分子生物学会特別企画実物付きパネル展示バイオリソース勢揃い (神戸国際会議場 神戸) (ポスター)
9. 様々な動物をもちいたヒト疾患・病態モデル解析へのアプローチ 成瀬 清、谷口善仁 平成 25 年 9 月 26-28 日 第 84 回日本動物学会シンポジウム (岡山大学 岡山) (口頭)
10. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 26 年 5 月 15-17 日 日本実験動物科学技術さっぽろ 2014 (札幌コンベンションセンター、札幌) (ポスター)
11. Medaka community meeting. 成瀬 清 平成 26 年 9 月 19-20 日 第 21 回小型魚類研究会 (大阪大学、大阪) (口頭)
12. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 26 年 10 月 23-24 日 Cryopreservation conference 2014 (基礎生物学研究所、岡崎) (ポスター)
13. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 26 年 11 月 25-27 日 第 37 回日本分子生物学会 (パシフィコ横浜、横浜) (ポスター)
14. Medaka as a model animal, current status of medaka biological resources and the community support from NIBB. Naruse, K. 平成 26 年 12 月 13-18 日 7th Aquatic models of human disease conference (Austin, Texas) (口頭)
15. メダカのメスが見知ったオスを選び好む配偶者選択行動の神経基盤 奥山 輝大 平成 27 年 1 月 20 日 NBRP 成果報告会 (東京コンファレンスセンター品川、東京) (口頭)。
16. Medaka community meeting. 成瀬 清 平成 28 年 8 月 20-21 日 第 22 回小型魚類研究会 (基礎生物学研究所、岡崎) (口頭)
17. Medaka as a model animal, current status of medaka biological resources and the community support from NIBB Naruse, K., Takehana, Y., Kamei, Y., Sato, T., Sakaizumi, M., Akashi, R. and Okamoto, H. 平成 28 年 9 月 20-22 日 ANRRC 2016 (紫蘭会館、京都) (ポスター)、
18. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 28 年 11 月 10-11 日 Cryopreservation conference 2016 (岡崎コンファレンスホール、岡崎) (ポスター)
19. メダカ先導的バイオリソースの拠点形成 成瀬 清、佐藤忠、竹花佑介 平成 28 年 11 月 30 日 -12 月 2 日 第 39 回日本分子生物学会特別企画実物付きパネル展示バイオリソース勢揃い (横浜国際会議場、横浜) (ポスター)
20. Aquatic models in National BioResource Project (NBRP) in Japan. Naruse, K. and Takahana, Y. 平成 29 年 1 月 7-12 日 8th Aquatic Animal Models of Human Disease Conference (Birmingham, Alabama) (ポスター)
21. How to make your fish see-through? Medaka irridophore mutant, guaniniless was caused by mutation in purine nucleoside phosphorylase 4a Kimura, T. and Naruse, K. 平成 29 年 1 月 7-12 日 8th Aquatic Animal Models of Human Disease Conference (Birmingham,

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 87 回大会 (那覇) 平成 28 年 11 月 17-19 日
2. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 86 回大会 (新潟) 平成 27 年 9 月 17-19 日
3. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 85 回大会 (仙台) 平成 26 年 9 月 11-13 日
4. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 84 回大会 (岡山) 平成 25 年 9 月 26-28 日
5. 成瀬 清 竹花佑介 佐藤 忠 身近な実験動物～メダカってどんな生き物? 「動物学ひろば」日本動物学会第 83 回大会 (大阪) 平成 24 年 9 月 13-15 日

(4) 特許出願

なし