

Study on the gut coiling morphogenesis in *Xenopus* larvae

両生類アフリカツメガエル幼生腸管の巻きの形態形成の研究

豊泉龍児研究室

秋永 薫

(201870181)

【序論】

脊椎動物の腸管は、消化吸収を担う消化管上皮構造と高度に組織化し蠕動運動を担う平滑筋による筋構造を有する。発生過程において腸管の消化管上皮がその面積を拡充する際には、腸管は伸長しつつかつ同時に固有のパターンで巻いて折りたたまれ、左右非対称な形態形成を行う。動物の内臓の左右非対称性は神経胚期から尾芽胚期にかけての側板中胚葉における左右非対称な遺伝子発現により決定され、胚全体の左右極性は、腸管の左右非対称な、腹側から見て反時計回りにぜんまいのような形状で回転しつつ伸長する巻きの向きの決定にも関与している。脊椎動物の左右軸の確立の遺伝学的なメカニズムについては、いずれの脊椎動物においても、後期神経胚期から初期尾芽胚期にかけての *nodal* => *pitx2* 経路でなされると理解されている。しかし、決定した左右極性の情報を基に、実際に左右非対称な内臓形態がどのように形成されるのかについて、そのメカニズムについてはまだ不明な点が多い。本研究では腸管に大量に含まれる actomyosin に注目した。actomyosin は myosin と actin の複合体であり、myosin は I 型や II 型などに大別される多様な分子種を持ち、巨大な遺伝子ファミリーを形成している。内臓の左右非対称性には myosin I が関与していることが、ショウジョウバエ胚やツメガエル胚を用いた研究で報告されている (Hozumi et al., 2006, Okumura et al., 2015, McDowell et al., 2016)。myosin I は、神経胚後期に左右非対称性を決定する領域である後期オルガナイザー領域での原腸蓋板の繊毛形成に必要であり、この領域での繊毛運動による繊毛流がツメガエルの内臓の左右非対称性の確立に必須であることが報告されている (Tingler et al., 2018)。しかし、他の myosin ファミリーメンバー、例えば、筋収縮に関与する myosin II が腸管の器官形成に関与しているのかについては不明な点が多い。そこで筆者は、アフリカツメガエル初期幼生を用いて、「幼若な腸管の形態形成にはその平滑筋の actomyosin 系の時空間的に制御された収縮活性が必要である」との作業仮説をもとに実験研究を行った。本研究で使用したアフリカツメガエルは通年で受精卵を採取できる。また、初期幼生では腹側の表皮や腹筋が透明で、心臓や腸管の形態を非侵襲的に生きたまま観察できることが本研究でツメガエル幼生を研究対象とした利点として挙げられる。ツメガエルの腸管の形態は初め直線状で、発生段階が進むと S 字状になり、初期幼生には腹側から見た時に反時計回りに coiling する。その複雑な巻きのパターンは発生段階ごとに厳密に決まっていることから、確率的に達成されたものではなく、ゲノムによって高度に制御されたメカニズムにより折りたたまれていくと予想される。本研究の流れとしては、初めに、ツメガエルの腸管において平滑筋がどのように分化していくのかを免疫染色法により調べた。次いで、腸管の巻きは中枢神経系の支配が必要なのか、あるいは器官独自に行われるのかについて断頭した半胚実験により検討した。その結果、腸管がある程度組織自律的に巻くことが判ったので、腸管を単離し、培養する実験系の作出を試み、これに成功した。そこで更に、その培養系を用いて actomyosin の収縮に影響する特異的な薬剤の投与実験を組み合わせて実施した。

【材料と方法】

本研究では実験動物として両生類無尾目ピパ科のアフリカツメガエル *Xenopus laevis* を使用した。ツメガエルの受精卵は、成体にヒト絨毛性ゴナトロピンを雄 300 units、雌 500 units を皮下注射して得た。得られた受精卵はチオグリコール酸ナトリウム (pH=8.6) により脱ゼリーを行い、10% Steinberg 氏液により洗浄し、16°C または 24°C の恒温器内で飼育し、目的の発生段階まで飼育し、後期胚や初期幼生を実験に使用した。

免疫染色は以下の方法で行った。免疫染色で使用するサンプルは 4% パラホルムアルデヒド/PBS (-) で固定し、100% メタノールに置換した。メタノール下降系列により PBST にサンプルを置換後、Blocking を行い、一次抗体をサンプルに反応させた。一次抗体反応後、PBST で洗浄し、Blocking 後に二次抗体反応を行った。二次抗体反応後、サンプルを PBST で洗浄後、PBS (-) に置換し、蛍光実体顕微鏡または共焦点レーザー顕微鏡 (以下 CLSM) で観察を行った。一次抗体として、平滑筋 actin の免疫染色には anti-alpha-Smooth Muscle actin (SM-actin) mouse monoclonal antibody (Sigma-Aldrich Co., St. Louis,

Missouri, USA)、リン酸化 myosin 軽鎖の免疫染色には anti-phospho-Myosin Light Chain 2 (Ser19) rabbit polyclonal antibody (Cell signaling Technology, USA)、骨格筋の免疫染色には 12/101 mouse monoclonal antibody known to recognize skeletal muscle (provided by the Developmental Studies Hybridoma Bank [DSHB])の 3 種類を使用した。蛍光標識二次抗体として、Alexa Fluor 488-conjugated AffiniPure Fab Fragment goat anti-Mouse IgG H+L (Thermo Fisher Scientific Co., Waltham, Massachusetts, USA)と Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Secondary Antibody, DyLight 594 (Thermo Fisher Scientific Co., Waltham, Massachusetts, USA)を使用した。細胞膜の対比染色には CellMask[®] (Thermo Fisher Scientific Co., Waltham, Massachusetts, USA)を使用した。

ツメガエルの腸管平滑筋に豊富に含まれる myosin II の収縮を阻害し、そうすることでの腸管の形態への影響を調べるために、ツメガエル後期尾芽胚に myosin II の阻害剤である Blebbistatin を投与した。ツメガエル後期尾芽胚 st. 38-39 を 0.05 μM または 0.1 μM (\pm)-Blebbistatin に 6 時間浸漬した。浸漬後、10% Steinberg 氏液に移行し、初期幼生期であり腸管が反時計回りにぜんまい巻きをするに至る st.46 まで対照群の発生段階が進んだタイミングで腸管の形態を判定した。Blebbistatin には、R-(+)-Blebbistatin と S-(-)-Blebbistatin の 2 種類の光学異性体がある。ラセミ体を構成する光学異性体 2 種のうちのいずれが腸管の形態形成に影響を与えたのか調べるために、それぞれの光学異性体を上記の Blebbistatin の浸漬処理と同じ実験条件で浸漬し、ツメガエルの腸管の形態への影響を判定した。

ツメガエル胚の切断実験は、st. 32-33 の尾芽胚を 0.1% phenoxyethanol で麻酔をかけ、ウェツケルを用いて以下の(i)-(iii)のように切断した。(i) 心臓と尾部を残して前頭部を切断した胚、(ii) 心臓を含めて頭部を切断した胚、(iii) 頭部と尾部を切断した胚、これら(i)-(iii)の胚はペニシリンストレプトマイシン溶液を添加した 10% Steinberg 氏液に入れ、16°Cの恒温器内で飼育した。対照群の発生段階が st. 46 に到達した段階で腸管の形態の判定を行った。

ツメガエルの単離腸管の組織培養は以下の方法で行った。腸管の coiling が開始される直前の st. 41 のツメガエル胚からウェツケルとピンセットを用いて腸管を単離した。単離した腸管は抗生物質を添加した 70% CO₂-independent medium に投入し、24°Cの恒温器内で 1 日培養した。培養した腸管の形態を looping, U-shape, No loop の 3 種の形態基準で排他的に判定した。培養液には、actomyosin の収縮を阻害する薬剤をそれぞれ 1 種類ずつ、50 μM CK-666 (actin filament 形成阻害剤), 50 μM ML-9 (myosin light chain kinase(MLCK)阻害剤), 10 μM W-7 (MLCK を正に制御する calmodulin の antagonist), 50 μM Y-27632 (細胞運動に関与する Rho-kinase の阻害剤)を調整し、単離腸管の形態への影響を調べた。一方、Blebbistatin の単離腸管への投与に関しては培養液として HBSS with 10 mM HEPES を使用した。

ツメガエルの腸管の coiling の形態形成に Wnt signaling が関与しているのか調べるために、以下の実験を行った。単離腸管の組織培養系を利用し、Wnt signaling を阻害する 10 μM Wnt C-59(Wnt ligand の分泌阻害剤で Wnt 受容体下流の 3 細胞内経路全てを阻害する)処理を行い、腸管の形態への影響を上記の 3 基準で判定した。さらに、whole-mount の st. 38-39 のツメガエル胚に 10 μM Cardionogen-1(Wnt 古典経路阻害剤)で浸漬処理を行い、対照群が st. 46 に到達した段階で腸管の形態の判定を行った。

【結果】

初めに、ツメガエル初期幼生期の各発生段階で腸管の平滑筋がどのように分布しているのかについて、平滑筋特異的な細胞骨格成分である SM-actin を抗原とした一次抗体を用いた免疫染色により評価した。SM-actin の分布と配向を可視化するために、whole-mount のツメガエル幼生をサンプルとして抗-SM-actin 抗体による蛍光免疫染色を行い、CLSM 等で観察した。その結果、ツメガエル初期幼生の腸管において SM-actin の発現領域が発生段階依存的に拡大していくことを見出した。初めに、st. 43 の腸管では十二指腸領域で SM-actin のシグナルが局在し、st. 44 では十二指腸領域と巻きの形態形成の中心領域の 2 箇所に限定的に SM-actin が発現し、st. 46 で腸管全体に SM-actin の発現領域が拡大した(Fig. 1)。さらに、腸管の長軸(伸長方向)と直交する横断方向(円周方向)に腸管平滑筋がまずは配向し、次いで腸管の軸に沿った長軸方向に腸管平滑筋が配向することも発見した。しかも、こうして生成された腸管平滑筋がつくる縦横の格子には、腸管の巻きの中心のみで異方性 (anisotropic)を示す振れが生じることも新たに見出した(Fig. 1)。その他の領域では、長軸方向の平滑筋と横断方向の平滑筋は直交していた。actin と対をなす myosin の配向を、SM-actin と同様に免疫染色により可視化した。活性化した状態の

myosin を検出する抗リン酸化 myosin 軽鎖抗体を用いた免疫染色により、ツメガエル正常幼生の myosin についても、SM-actin の場合と同様に、腸管において横断方向にリン酸化 myosin 陽性細胞が配向し、次いで腸管の軸に沿った長軸方向にリン酸化 myosin 陽性細胞が配向した。リン酸化 myosin 陽性細胞の縦横の格子にも、抗-SM-actin 抗体で染めた場合と同様に腸管の巻きの形態形成の中心のみで異方性を示す捩れが生じていた。2 つの抗体で染

めた細胞は、SM-actin が主要な平滑筋マーカーであることから、共に腸管平滑筋細胞であると思われる。これら二つの相互に符合する発見は、捩れによる機械的な収縮力が腸管の左右非対称な巻きの形態形成に関与していることを示唆している。

腸管の巻きに平滑筋の機械的な収縮力が関与していることがツメガエル幼生の免疫染色の観察結果から示唆されたことから、次に myosin II ATPase の阻害を通じて actomyosin の相互作用を廃する Blebbistatin をツメガエル後期尾芽胚期に投与し、腸管の巻きの形態形成への影響を評価した。その結果、腸管は巻きの形態形成の程度が弱まるか、左右相称に背腹方向のみに蛇行し螺旋状には巻かなくなった (0.05 μM , n=45/45; 0.1 μM , n=51/51)。加えて、抗 SM-actin 抗体により免疫染色を行ったところ、Blebbistatin 処理群の腸管では SM-actin が分布していない領域が生じていた。これらの観察結果は、腸管の巻きの形態形成に actomyosin の収縮が必要であること、ひいては腸管において SM-actin を含む平滑筋細胞が適切に配向されることが腸管の正常な形態形成に必要であることが示唆された。一方で、Blebbistatin は R-(+)-Blebbistatin と S-(-)-Blebbistatin の 2 種類の光学異性体を持つ。この 2 種類の光学異性体のうち、いずれの光学異性体がツメガエルの腸管の巻きに影響を与えたのか検討するため、それぞれの光学異性体をツメガエル胚に投与した。その結果、S-(-)-Blebbistatin で処理した群の幼生の腸管で巻きの形態形成の程度が弱まるか、左右相称の形態を示した (0.05 μM , n=19/19; 0.1 μM , n=29/29; Fig.2 C)。しかし、R-(+)-Blebbistatin の処理群では正常に腸管が巻いた (0.05 μM , n=36/36; 0.1 μM , n=35/36; Fig.2 B)。この結果から 2 種類の光学異性体のうち、S-(-)-Blebbistatin が腸管の巻きの形態形成に影響を与えていたことが分かった。

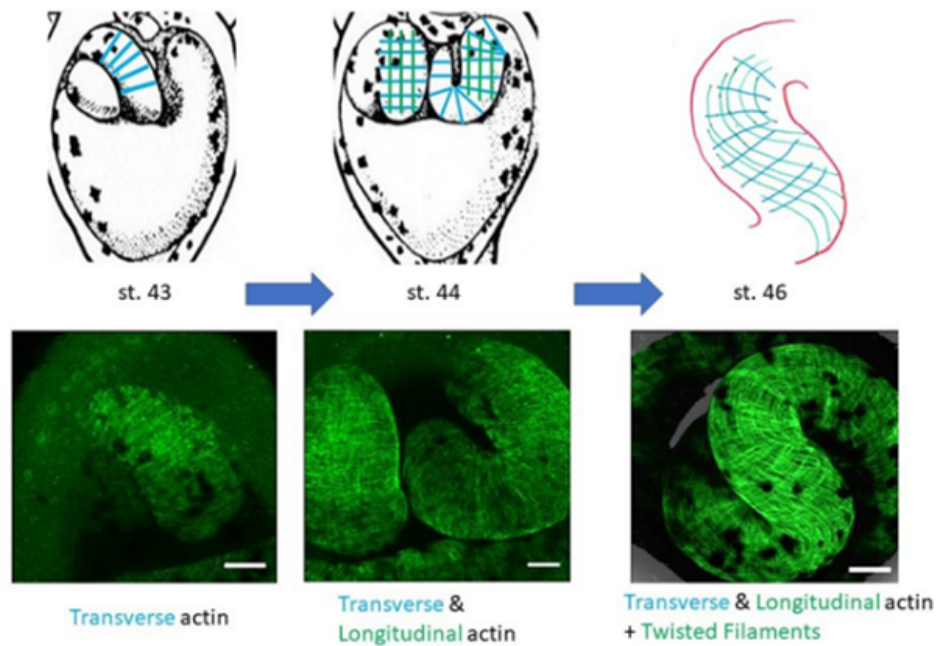


Fig. 1 腸管の平滑筋細胞は発生段階依存的かつ領域依存的に捩じれて配向する。腸管の平滑筋は最初に十二指腸領域で横断方向に配向し(図左)、次いで同領域の長軸方向に平滑筋が配向し、巻き領域での平滑筋の配向が同様の順序で続くことが判った(図中央)。巻きの中心では平滑筋が anisotropic に捩れることも判った(図右)。scale bar= 100 μm 。

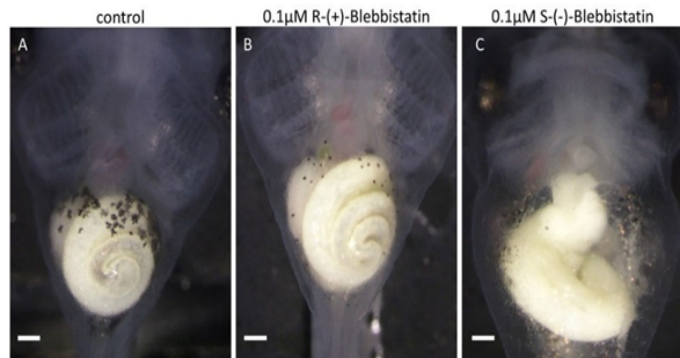


Fig. 2 S-(-)-Blebbistatin は腸管の巻きを弱めた。対照群(A)と R-(+)-Blebbistatin 投与群(B)では腸管の巻きは正常だった。S-(-)-Blebbistatin 投与群(C)の腸管の巻きは弱まるか、廃された。scale bar=200 μm 。

上述の whole-mount の実験系では Blebbistatin 投与による他の組織への副次的な影響で腸管の形態形成が阻害されたにすぎないとの懸念があった。そこで筆者は *in vitro* で腸管の巻きの形態形成を評価するモデル培養系の作出を行い、これに成功した。それに先立ち、最初にいわゆる半胚の作成により、腸管の形態形成への影響の評価を行った。神経胚期から尾芽胚期にかけてのツメガエル胚は胴部を二つに切断しても数日間は生存する高度な傷口修復能力を備えている (Yoshii et al., 2005)。この性質を活かして、以下の3つのパターンで切断した半胚を短期間培養し、腸管の形態形成を評価した。前頭部を切断しかつ心臓を残した胚では、98.5%の胚で腸管は正常に st.46 の巻き方で巻いた (n=69/70, Fig. 3 B)。頭部とともに心臓も除外するように前胸部も切断した胚でも 21.1%は途中まで正常に巻いた (n=15/71)。頭部と尾部の双方を切断した胚では、一部の個体で途中まで腸管が巻いた (n=4/35)。これらの結果から腸管の巻きの形態形成はある程度自律的に進行することが分かった。

以上のように、筆者が新規に開発した腸管原基を含む外植体の培養結果からは、ツメガエル幼生の腸管の巻きのかなりの程度、他の器官との相互作用無しに進行することが明らかとなった。そこで、次に単離腸管だけで巻く器官培養の系を作出することを試みた。腸管が巻き出す直前の発生段階である st. 41 のツメガエル胚から腸管を単離し、CO₂ 非依存培地を用いて通常気相下で培養した。その結果、外植体に巻きの形態形成を誘導することに成功した (n=44/48, Fig. 4)。このことから、*in vitro* で単離腸管が組織自律的に巻くことが分かったといえる。

この筆者独自の腸管外植体培養系を用いて薬剤投与実験を行った。筋収縮の阻害剤や F-actin 細胞骨格の集積に関与する分子の活性を阻害する薬剤をそれぞれ投与することで actomyosin の収縮を阻害し、外植体への影響を評価した。初めに、myosin と相互作用する actin フィラメントのネットワーク形成を阻害する CK-666 を外植体に投与すると、腸管が巻かない、または巻きの途中で停止するサンプルの頻度が対照群と比較して統計学的に有意に増加した (U-shape, n=30/72; No loop, n=13/72; $p < 0.01$)。加えて、抗 SM-actin 抗体で CK-666 処理した単離腸管を免疫染色したところ、CK-666 投与群では actin フィラメントの形成が阻害された。この結果から、腸管の巻きには actin フィラメントの形成が必要であることが示唆された。次に myosin の収縮を制御する myosin light chain kinase (MLCK) を阻害する ML-9 を単離腸管に投与した。その結果、腸管は巻かない、または巻きの途中で止まるサンプルの頻度が ML-9 投与群では対照群と比較して統計学的に有意に増加した (U-shape, n=28/49; No loop, n=10/49; $p < 0.01$)。平滑筋の actomyosin の収縮の際に必要なカルシウムイオンを供給する calmodulin のアンタゴニスト W-7 を外植体に投与した。その結果、W-7 投与群の単離腸管では巻かない、または巻きの途中で止まったサンプルの頻度が対照群と比較して統計学的に有意に増加した (U-shape, n= 30/64; No loop, n=9/64; $p < 0.01$)。これらの結果から腸管の巻きには actomyosin の収縮が必要であることが示唆された。whole-mount の実験で投与した

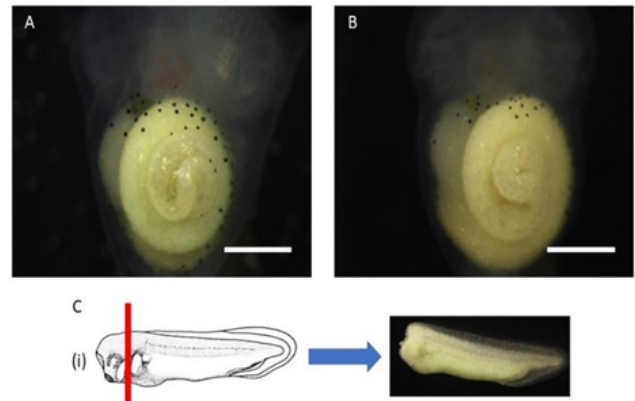


Fig. 3 頭部を切断した場合でも腸管は正常に巻く。胚の頭部を切断した場合でも、対照群(A)と同様に切断胚でも腸管は巻いた(B)。(C)に切断した断頭位置を示す。scale bar= 500 μ m。

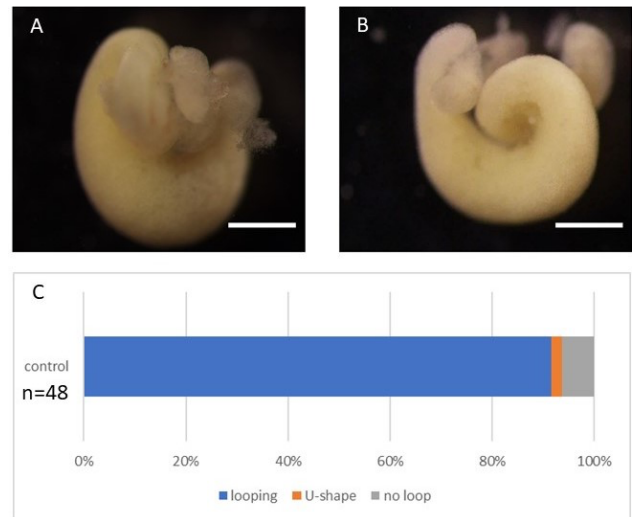


Fig. 4 単離した腸管は組織自律的に巻く。単離した腸管は培養液内で自律的に巻き、綺麗に巻くものでは st.43 の巻きの形態になった(A 及び B)。scale bar= 500 μ m。

Blebbistatin について、この単離した腸管の組織培養系でもその投与を試みた。しかし、70% CO₂ 非依存培地では試薬が沈殿してしまったため、Hanks'氏液(HBSS)ベースの別の組織培養液を使用した。単離した腸管への Blebbistatin の投与は組織培養液として HBSS with 10 mM HEPES を使用した。Blebbistatin を投与した実験群では濃度依存的に腸管が巻かなくなった (0.01 μM, n=29/71; 0.05-0.1 μM, n=118/144; $p < 0.01$, Fig. 5)。この結果からも腸管の巻きの形態形成に actomyosin の収縮が必要であることが示唆された。また、細胞骨格の集積に参与する ROCK に特異的な阻害剤 Y-27632 を投与した単離腸管は全く巻かなかった (n=57/57; $p < 0.01$)。加えて、抗 SM-actin 抗体を用いた免疫染色にサンプルを供したところ、Y-27632 投与群において actin フィラメントが形成されていなかった (Fig. 6 B)。この結果からも、CK-666 投与群の結果と同様に、腸管の巻きの形成には actin フィラメントの配向が必要であることが示唆された。

まとめると以上の *in vitro*での外植体を用いた実験結果から以下のことが言える。単離腸管への W-7、ML-9、Blebbistatin の投与群の観察結果から、ツメガエル幼生の腸管の巻きの形態形成には actomyosin の収縮が関与していることが示唆された。次いで、単離腸管への CK-666 及び Y-27632 の投与群の観察結果から、腸管の巻きの形態形成には actin フィラメントの形成とその配向も必要であることが示唆された。

上記の器官培養系の実験結果から腸管の巻きの形態形成において actomyosin の関与は非常に濃厚になったと判断したので、筆者は次に腸管の巻きを司る細胞間シグナル伝達経路を探索することにした。筆者はここでツメガエル後期胚-幼生期の腸管において発現している分泌因子 Wnt のシグナル伝達経路に注目した。Wnt リガンドの分泌を阻害する阻害剤 Wnt C-59 を単離した腸管に投与したところ、単離腸管が巻く頻度が統計学的に有意に低下した (U-shape, n=28/60; No loop, n=6/60; $p < 0.01$)。加えて、抗 SM-actin 抗体を用いた免疫染色に供したところ、実験群の腸管において actin フィラメントの配向が生じていなかった。この結果から、Wnt シグナルが腸管の actin フィラメントの正常な配向に関与していることが示唆された。一方で、whole-mount で Wnt シグナルの細胞内経路のうち古典経路のみを阻害する Cardionogen-1 を投与したところ、ツメガエル幼生の腸管の巻きは弱まるか、停止した (n=139/144)。また、抗 SM-actin 抗体を用いた免疫染色に供したところ、実験群において腸管平滑筋細胞の格子状構造が乱れ、平滑筋細胞の非分布領域が生じていた。この結果から、腸管の巻きの形態形成には Wnt シグナル依存的な平滑筋細胞の適切な配向が必要であり、その配向に Wnt 古典経路が少なくとも部分的には関与していることが示唆された。Wnt に関する *in vitro* 実験の結果と whole-mount 幼生での平滑筋細胞の配向性についての新規知見や実験結果を総合すると、腸管の巻きの形態形成には平滑筋特異的な SM-actin フィラメントの腸管での適切な配向が必要であり、Wnt シグナル伝達経路がこのフィラメントの配向の生成に関与している可能性が示唆された。

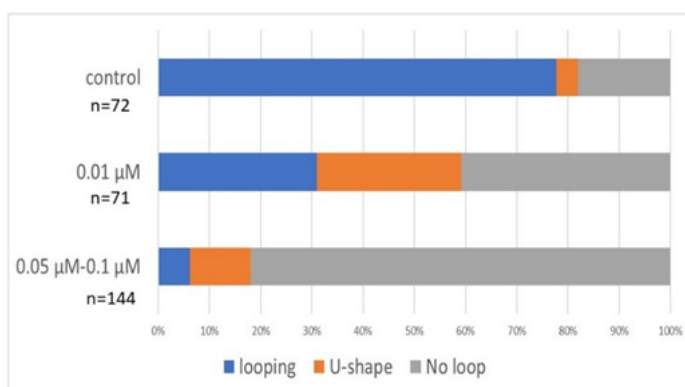


Fig. 5 Blebbistatin は単離腸管の巻きを止めた。単離した腸管の巻きは Blebbistatin の濃度依存的に止まった。

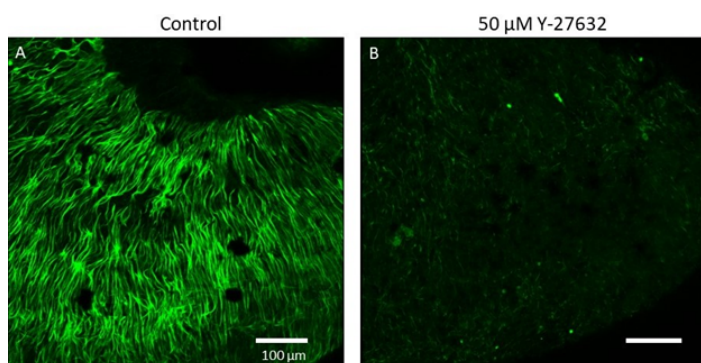


Fig. 6 Y-27632 は actin フィラメントの形成を阻害した。対照群では actin フィラメントが横断方向に配向していた (A)。一方で Y-27632 処理群では actin フィラメントは配向していなかった。(B)。scale bar=100 μm。

【まとめと考察】

本研究によって、ツメガエル幼生腸管の巻きの形態形成においては腸管平滑筋の秩序だった高度な配列を基盤とした収縮活動が必要であることが示唆された。ツメガエルの腸管では発生段階依存的に腸管平滑筋細胞が順序だって配向しており、巻きの形態形成が進行するとその巻きの中心において平滑筋細胞の格子状構造の捩れを生じていた。この結果から、腸管の巻きの形態形成に腸管平滑筋の収縮が直接的に関与している可能性が示唆された。この結果を基に *in vivo* 及び *in vitro* で腸管平滑筋の収縮を薬理的に阻害したところ、腸管の巻きは弱まるか、止まった。これらの結果も腸管の巻きに平滑筋細胞の収縮力が関与していることを支持している。つまり、腸管の正常な巻きの形態形成には腸管平滑筋の正常な配向が必要であることが *in vivo* 及び *in vitro* の薬理的な投与実験からも示唆された。以上のことから、腸管の形態形成には平滑筋細胞の秩序だった配向と筋収縮が必要であることが考えられる。

脊椎動物の内臓諸器官は左右非対称な形態を示し、この左右非対称性の確立は *nodal* => *pitx2* の左側特異的な遺伝子発現による左右極性の決定から始まる。しかし、決定した左右極性を基に内臓器官の左右非対称な器官形態がどのように生まれるのかについては、まだ不明点が多い。そのような研究状況の中で、本研究は形成期の腸管を構成する幼若な平滑筋に注目し、一連の知見を得た。筆者としては、内臓諸器官において actomyosin 系が正常な形態形成(特に内臓の左右非対称性)を導く役割を担っている可能性を深く追求することが、基礎動物学的にも、幹細胞をもとにした臓器工学的にも、今後の重要な研究戦略となりうると考えている。特に消化管の形態形成については、多機能上皮である消化管上皮の主導する形態形成の分子機構にばかり注目が集まってきたが、平滑筋もその形態形成に参画することを本研究は示した。また、進化発生学(Evo-Devo)的観点からすると、actomyosin を構成する myosin と actin の相互作用は進化的にかなり保存された力学的機構であり、actin はアミノ酸配列の保存性も高い。両者の相互作用による力の発生が腸管の形態形成に関与することは、phylotypic な咽頭胚期(後期体節期)以降の胚発生においてシグナル伝達経路の下流のエフェクター分子として myosin 及び actin が他の内臓器官の形態形成原理にも使いまわされている(co-opted されている)可能性を期待させる。今後の展望としては、腸管において発生段階の進行とともにどの領域でどのくらいの強さの収縮力が働いて、腸管の巻きの形成を行うのかを明らかにすることが課題となるだろう。

【参考文献】

- Hozumi S, Maeda R, Taniguchi K, Kanai M, Shirakabe S, Sasamura T, Spéder P, Noselli S, Aigaki T, Murakami R, Matsuno K., 2006. An unconventional myosin in *Drosophila* reverses the default handedness in visceral organs. *Nature* 440: 798-802.
- McDowell GS, Lemire JM, Paré JF, Cammarata G, Lowery LA, Levin M., 2016. Conserved roles for cytoskeletal components in determining laterality. *Integr. Biol. (Camb)*. 8: 267-86.
- Okumura T, Sasamura T, Inatomi M, Hozumi S, Nakamura M, Hatori R, Taniguchi K, Nakazawa N, Suzuki E, Maeda R, Yamakawa T, Matsuno K., 2015. Class I myosins have overlapping and specialized functions in left-right asymmetric development in *Drosophila*. *Genetics* 199: 1183-99.
- Tingler M, Kurz S, Maerker M, Ott T, Fuhl F, Schweickert A, LeBlanc-Straceski JM, Noselli S, Blum M., 2018. A Conserved Role of the Unconventional Myosin 1d in Laterality Determination. *Curr. Biol.* 28: 810-816.e3.

【出版業績】

- Kaoru Akinaga, Yoshitaka Azumi, Kazue Mogi, and Ryuji Toyoizumi, 2021. Stage-dependent sequential organization of nascent smooth muscle cells and its implications for the gut coiling morphogenesis in *Xenopus* larvae. *Zoology*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.zool.2021.125905>
- Rika Fujimori, Tomomi Nemoto, Yuri Inoue, Saki Shimizu, Lee Kyong Ye, Kohei Kumagai, Kaoru Akinaga, Ryuji Toyoizumi and Yoshitaka Azumi, 2021. Chromosome behavior with 45S rDNA loci at meiosis of *Veronica persica*. *Chromosome Science*.