



Title	ゼブラフィッシュとメダカは脊髄損傷後の応答が異なる
Author(s)	青木, 駿
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/101464
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

博 士 学 位 論 文

ゼブラフィッシュとメダカは脊髄損傷後の応答が異なる

Response after spinal cord injury is different between zebrafish and medaka

学生氏名 青木 駿

修了年月 2024 年 12 月

Abstract

In mammals, spinal cord injury often results in permanent impairment of motor function due to ineffective tissue regeneration. Unlike mammals, zebrafish have remarkable ability to regenerate many tissues including the spinal cord. Cross-species comparison is an attractive approach to reveal regeneration specific mechanisms, but far evolutionary distance between them sometimes hinders direct comparison. Recent studies revealed another model fish species medaka have low regenerative ability in some tissues, making comparison of them advantageous to reveal regeneration specific mechanisms. Recently, our laboratory has revealed that the recovery of swimming speed after spinal cord injury was significantly lower in medaka than zebrafish and bridging of glia and neural tissue were thinner at the injured site of spinal cord in medaka than zebrafish, but the underlying mechanism remains unclear. Here, I investigated the underlying causes of the difference between the spinal regeneration ability of zebrafish and medaka. I confirmed that the ability to recover function is lower in medaka than zebrafish by behavioral test that allows measurement of the swimming distance of each individual. I labeled long projecting axons using axonal tracer, and found axonal extension across the injured site was observed in zebrafish, whereas it was not clear in medaka. Finally, we evaluated the gene expression profile of injured spinal cord in zebrafish and medaka. Genes involved in “Regeneration” were upregulated in zebrafish, whereas genes involved in “Synaptic signaling” were downregulated in medaka. Three genes (*myom1a*, *lox13b*, and *baiap211a*) were upregulated in zebrafish and downregulated in medaka after spinal cord injury. On the other hand, 4 genes (*dkk2*, *atp9b*, *hs3st3a1* and *ndp*) were downregulated in zebrafish and upregulated in medaka after spinal cord injury. These results suggest that differences in gene expression profiles between zebrafish and medaka may underlie differences in spinal cord regeneration

capacity.

要旨

哺乳類では、中枢神経系損傷後、損傷部にグリア瘢痕が形成され、軸索再生を阻害するため、機能的な回復が限定されている。また、軸索再生を促進する有効な治療方法は存在していないため、新規治療方法の創出が喫緊の課題である。哺乳類とは異なり、ゼブラフィッシュは脊髄において高い再生能力を有する。脊髄再生能力の異なる生物の種間比較は再生特異的な分子機構を明らかにするための魅力的なアプローチであるが、両者の進化距離が遠い場合は直接比較することが難しい。近年、当研究室は行動解析や組織学解析によりゼブラフィッシュと同じ小型魚類であるメダカはゼブラフィッシュと比較して脊髄再生能力が低いことを見出したが、根底にある分子機構は不明であった。今回私はゼブラフィッシュとメダカの脊髄再生能力の違いを規定する要因を調査した。

まず脊髄損傷前後の各個体の遊泳距離を経時的に測定し、比較した。その結果、以前の結果と一致して、メダカの運動機能の回復能力がゼブラフィッシュよりも低いことを確認した。次に、損傷した軸索の伸長を観察するために、軸索トレーサー注入により、脊髄損傷部において軸索を経時的に観察したところ、ゼブラフィッシュでは脊髄損傷 6 週間後に軸索伸長が観察された一方で、メダカでは観察されなかった。最後に、RNA シーケンス解析により、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷部における遺伝子発現プロファイルを比較した。脊髄損傷後、「再生」に関わる遺伝子はゼブラフィッシュで上方制御されていたのに対し、「シナプス伝達」に関わる遺伝子はメダカで下方制御されていた。また、ゼブラフィッシュとメダカで反対の発現変化を示した遺伝子が認められた。3 遺伝子 (*myom1a*, *lox13b*, *baiap211a*) は脊髄損傷後のゼブラフィッシュで上方制御され、脊髄損傷後のメダカで下方制御された。一方で 4 遺伝子 (*dkk2*, *atp9b*, *hs3st3a1*, *ndp*) は脊髄損傷後のゼブラフィッシュで下方制御され、脊髄損傷後のメ

ダカで上方制御された。qRT-PCR による遺伝子発現の比較により、RNA シーケンスとほぼ同様の発現変化を確認した。以上より、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷部の遺伝子プロファイルの違いが、脊髄再生能力の違いの根底にあることが示唆された。

本研究はゼブラフィッシュとメダカが脊髄において異なる軸索再生能力と異なる遺伝子プロファイルを有することを示した初めての研究である。今後、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄再生能力の比較が、脊髄再生能力を決定する新規因子を解明する有望な研究分野となり、脊髄損傷の新規治療標的の同定につながることを期待する。

General introduction

脊髄損傷は損傷部の下流で重篤な機能障害を引き起こし、社会生活に著しく支障をきたす。損傷した軸索を再生する有効な治療方法は存在せず、現在の治療方法であるリハビリテーションはわずかに機能を改善させるに過ぎない。そのため、損傷脊髄において軸索再生を促進する有効な治療方法の確立が喫緊の課題である。

中枢神経系の再生能力は生物種によって異なることが知られている。ヒトなどの哺乳類の成体とは異なり、ゼブラフィッシュの成体では脊髄の完全切断後に損傷部においてグリア細胞が形成した橋（グリア架橋）を足場として顕著に軸索が再生する。脊髄再生能力の異なる生物の種間比較は再生特異的な分子機構を明らかにするための魅力的なアプローチであるが、両者の進化距離が遠い場合は直接比較することが難しい。そこで当研究室はゼブラフィッシュと比較するモデル生物としてメダカに着目した。メダカはゼブラフィッシュと生物学的特徴が似ている小型魚類にもかかわらず、心臓や網膜などの臓器においてゼブラフィッシュより再生能力が低いことが知られている。近年、当研究室は脊髄損傷前後の遊泳距離の測定による行動解析や神経組織およびグリア架橋の標識による組織学解析により、メダカはゼブラフィッシュより脊髄の再生能力が低いことを見出した。しがしながらゼブラフィッシュとメダカの脊髄再生能力の差異の根底にある分子機構は未解明であるため、本研究では種間比較により調査した。

最初にゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷前後の遊泳距離を測定することにより、運動機能の回復能力を比較した結果、ゼブラフィッシュの運動機能は脊髄損傷後に経時的に回復したのに対し、メダカの運動機能は回復しなかった。そのため、これまでの当研究室の結果と一致してメダカの運動機能の回復能力はゼブラフィッシュと比較して低いことが示された。次に、軸索を標識できるトレーサーを脊髄

損傷部の吻側に注入することにより、脊髄損傷部における損傷軸索の様子を可視化し、経時的に比較した。その結果、ゼブラフィッシュでは脊髄損傷 6 週間後に脊髄損傷部において軸索伸長が観察された一方で、メダカでは観察されなかった。最後に遺伝子発現を網羅的に解析する手法である RNA シーケンスを使用してゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷部における遺伝子発現を比較した結果、脊髄損傷後、「再生」に関わる遺伝子はゼブラフィッシュで上方制御されていたのに対し、「シナプス伝達」に関わる遺伝子はメダカで下方制御されていた。また、同一の祖先に由来する相同な遺伝子であり通常は異なる種において同様の機能を保持することが知られているオーソログ遺伝子に着目したところ、ゼブラフィッシュとメダカで反対の発現変化を示した遺伝子が認められた。3 遺伝子 (*myom1a*, *lox13b*, *baiap211a*) は脊髄損傷後のゼブラフィッシュで上方制御され、脊髄損傷後のメダカで下方制御された一方で、4 遺伝子 (*dkk2*, *atp9b*, *hs3st3a1*, *ndp*) は脊髄損傷後のゼブラフィッシュで下方制御され、脊髄損傷後のメダカで上方制御された。遺伝子発現量を定量化する手法である qRT-PCR を用いて遺伝子発現を比較したところ、RNA シーケンスとほぼ同様の発現変化を確認し、特に *dkk2* はゼブラフィッシュで有意に下方制御され、メダカでは有意に上方制御された。以上より、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷部の遺伝子発現プロファイルの違いが脊髄再生能力の差異の根底にあることが示唆され、特に *dkk2* がゼブラフィッシュとメダカの脊髄再生能力を規定する重要な因子である可能性がある。

本研究はゼブラフィッシュとメダカが脊髄において異なる軸索再生能力と異なる遺伝子発現プロファイルを有することを示した初めての研究である。今後、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄再生能力の比較が、脊髄再生能力を決定する新規因子を解明する有望な研究分野となり、脊髄損傷の新規治療標的の同定につながることを期待する。

目次

要旨 1-6

序論 8-10

実験方法 11-15

実験結果 16-29、35-41

考察 30-34

参考文献 42-44

謝辞 45

業績 46

序論

脊髄損傷

脊髄損傷は脊髄の損傷によって引き起こされ、多くの合併症も引き起こす。世界で 250 万人以上の受傷者が確認されている¹。脊髄損傷の主な原因は、交通事故や転倒などの事故による外傷である。リハビリテーション以外に効果的な治療法はなく、運動機能の回復は限定的である。このような背景から、脊髄損傷後の神経機能を回復させる新規治療方法の開発が求められている。

哺乳類の脊髄損傷後の軸索再生

哺乳類では、脊髄損傷後の損傷部に瘢痕が形成される²。瘢痕は間質由来の線維芽細胞、炎症性免疫細胞および反応性アストロサイトで構成されており、物理的かつ化学的に軸索再生を阻害し、脊髄損傷後の機能回復を妨げる。

ゼブラフィッシュの脊髄損傷後の軸索再生

ゼブラフィッシュは損傷した脊髄において高い再生能力を有する。ゼブラフィッシュでは、初期段階で免疫細胞が浸潤し、ミエリン断片を急速に除去する³。その後、放射状グリアおよび上衣細胞と類似した特徴を有する上衣放射状グリアによって形成されるグリア架橋が形成され、足場として損傷部をまたいだ軸索再生を誘導する⁴。最終的に、損傷した脊髄はほぼ正常な構造に再構築され、中心管は形態を回復し、損傷部は無傷の脊髄とほとんど区別がつかなくなる⁵。この形態学的な再生に伴い、ゼブラフィッシュでは脊髄損傷後において運動機能も回復することが知られ、脊髄損傷 1 週間後、ゼブラフィッシュの遊泳距離は著しく減少するが、約 6 週間後には回復する⁶。以上のように、ゼブラフィッシュは高い脊髄再生能力を有しており、この再生能力を規定する分子機構を理解することで、脊髄損傷に対

する新規治療方法の開発につながると考えられる。

ゼブラフィッシュとメダカの再生能力の比較

メダカは、世代交代時間が短く、リファレンスゲノムが完全に解読されており、効率的なゲノム編集方法も確立されており、遺伝学的解析に適したモデル生物である⁷。メダカは大きさ・食事・器官系・肉眼的解剖学・生活環境など、多くの生物学的特徴がゼブラフィッシュと類似している。最近の研究によると、多くの臓器が損傷後に再生するゼブラフィッシュとは異なり、メダカは心臓や網膜など一部の組織で再生能力が低い⁸⁻¹²。以上のように、共通の生物学的特徴を有しながら、異なる再生能力を示すゼブラフィッシュとメダカの比較解析は、再生特異的な分子機構を明らかにするのに有用である。

近年、当研究室では、運動機能解析や組織学解析を用いて、ゼブラフィッシュとメダカにおける脊髄再生能力を比較した。その結果、ゼブラフィッシュと比較して、メダカの遊泳能力は脊髄損傷後に回復せず、グリア架橋や軸索束の厚さが薄かった。以上より、メダカはゼブラフィッシュと同様の生物学的特徴を有する一方で、脊髄再生能力が低いため、脊髄再生能力を規定する分子機構を解明するためにゼブラフィッシュとメダカの比較は適していると考えられる。

本研究内容

本研究ではゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷後における損傷部の軸索再生能力および遺伝子発現プロファイルの違いを明らかにした。

これまでに当研究室ではゼブラフィッシュと比較してメダカの機能回復能力が低いことを見出しており、その再現性を確認した。また、脊髄損傷部の吻側に軸索を標識するトレーサーを注入し、経時的に脊髄損傷部における損傷軸索の伸長を比較した。さらに、脊髄再生能力を規定する要因を調査するた

めに RNA シーケンス解析を実施し、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷部の遺伝子発現プロファイルと比較した。

本研究では、以前の結果と一致して、メダカはゼブラフィッシュと比較して遊泳能力の回復が低いことが確認された。また、ゼブラフィッシュでは脊髄損傷 6 週間後に脊髄損傷部をまたいだ軸索伸長が観察された一方で、メダカでは観察されないことを明らかにした。さらに、脊髄損傷後、「再生」に関わる遺伝子はゼブラフィッシュで上方制御されていたのに対し、「シナプス伝達」に関わる遺伝子はメダカで下方制御されていた。また、ゼブラフィッシュとメダカで反対の発現変化を示した遺伝子が認められた。3 遺伝子 (*myom1a*、*lox13b*、*baiap211a*) は脊髄損傷後のゼブラフィッシュで上方制御され、脊髄損傷後のメダカで下方制御された。一方で 4 遺伝子 (*dkk2*、*atp9b*、*hs3st3a1*、*ndp*) は脊髄損傷後のゼブラフィッシュで下方制御され、脊髄損傷後のメダカで上方制御された。qRT-PCR による遺伝子発現の比較により、RNA シーケンスとほぼ同様の発現変化を確認し、特に *dkk2* の発現はゼブラフィッシュで有意に低下し、メダカで有意に上昇した。

これまでの多くの研究は、ゼブラフィッシュの脊髄再生能力に焦点を当てており、近縁種と脊髄再生能力を比較した研究はない。したがって、本研究は、ゼブラフィッシュの近縁種でありながら脊髄再生能力が低いメダカとゼブラフィッシュの脊髄における軸索再生能力と遺伝子発現プロファイルを比較した初めての研究であり、ゼブラフィッシュが高い脊髄再生能力を持つ要因を理解するために重要である。

1. 実験方法

1-1. 実験動物

実験に用いた野生型 AB 系統ゼブラフィッシュは大阪大学大学院医学系研究科附属最先端医療イノベーションセンターから提供された。野生型 OK-Cab 系統メダカはナショナルバイオリソースプロジェクトメダカから提供された。全ての魚は大阪大学大学院医学系研究科附属最先端医療イノベーションセンターにて飼育した。受精後 3-10 カ月の成魚を用いた。全ての動物実験は動物実験委員会の承認のもと行い(承認番号：動医 01-014-010)、大阪大学大学院医学系研究科動物実験規定を遵守し、動物の個体数や苦痛は最小限に抑えた。

1-2. 脊髄損傷モデル

手術手法は先行研究を参考にした¹³。MS-222(0.02%, Sigma)溶液中で魚を麻酔し、Vannas Spring Scissors (FST 15000-00, Canada) で第 15 椎骨と第 16 椎骨の間で脊髄を完全に切断し、ゲンタマイシン溶液 (10 mg/L, Wako) で覚醒させた。

1-3. 行動試験

本試験は、先行研究を改変して実施した¹⁴。アクリル製水槽 (L 20 cm × W 3 cm × H 20 cm、水深 15 cm) に魚を入れて自由に泳がせ、少なくとも 10 分間の馴化後、15 分間録画した。水槽は透明なアクリル板の上に置き、その下に傾斜した鏡を置いて、正面と底面を同時に観察した (図 1B)。本試験の 1 回目の録画後に脊髄損傷を実施し、1, 2, 4 週間後 (week post injury, wpi) に再度本試験を実施した。idTracker

を使用して、正面と底面の追跡画像から魚の三次元座標を特定した¹⁵。座標を取得できなかったフレームを除外し、残りのフレームを使用して10分間当たりの遊泳距離へと補正した。

1－4．軸索トレーシング

本試験は、先行研究を改変して実施した¹⁶。Tetramethyl rhodamine dextran (RDA、10%、Invitrogen) を超純水に溶解し、-80℃で保存した。RDA 溶液を風乾して結晶化させ、脊髄のトレーサー注入に使用した。MS-222 (0.02%) 溶液中で魚を麻酔し、脊髄損傷部の4 mm 吻側で非常に小さな脊髄組織を切除し、RDA 結晶を注入した。手術後、ゲンタマイシン溶液 (10 mg/L, Wako) で覚醒させた。48 時間後、魚を安楽死させ、4%パラホルムアルデヒドで固定した。PBS で洗浄後、CUBIC (Clear, Unobstructed Brain/Body Imaging Cocktails and Computational analysis、東京化学工業)¹⁷を使用して魚を透明化し、共焦点レーザー顕微鏡 (FV3000) を使用して撮影した。

1－5．RNA シーケンス解析

2 wpi で脊髄組織を1 mm (損傷部の吻側 500 μ m から尾側 500 μ m) 採取した。脊髄損傷の処置を実施していない魚の脊髄組織を比較対象とした。RNeasy micro kit (Qiagen, 74104) と RNase-Free DNase Set (Qiagen, 79254) を使用して組織から RNA を抽出した。シーケンス用のライブラリは増幅した mRNA から構築され、DNBSEQ-G400RS (MGITech) を使用して1 サンプルあたり 5,100 万～8,800 万の 100 bp ペアリードを生成した。STAR を使用して、ゼブラフィッシュのリファレンスゲノム (GRCz11) とメダカのリファレンスゲノム (HdrR109) に得られたリードデータをマッピングした¹⁸。

Danio_rerio.GRCz11.109.gtf または Oryzias_latipes.ASM223467v1.109.gtf をリファレンス遺伝子モデルとし¹⁸、HTSeq を使用して read count を取得した¹⁹。R を使用して、発現変動遺伝子の統計的検定を実施し²⁰、DESeq2 により正規化された read count を取得した²¹。発現変動遺伝子の Gene Ontology (GO) enrichment 解析は、ShinyGO v0.80 を使用して実施した²²。また、RNA データは DNA Data Bank of Japan に寄託した (accession number : PRJDB18466)。

1 – 6. 定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (qRT-PCR)

本試験は、先行研究を参考にした²³。組織採取と RNA 抽出は 1 – 5. RNA シーケンスで記載したように実施した。各サンプルにおいて 2 匹の魚の脊髄組織をプールした。相補的 DNA は High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, cat.4368814) を使用して合成した。qRT-PCR は、Fast SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, 4385612) および QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR System (Applied Biosystems) を使用して実施した。相対的発現レベルは、cDNA の段階希釈を基準とし、相対検量線法によって決定した。基準とした対数線形の範囲よりも低い場合は定量下限未満とみなした。使用したプライマーは表 1 のとおりである。ハウスキーピング遺伝子として *rplp0* を使用した。

表 1. qRT-PCR で使用したプライマー

Gene	Species	Primer sequence
<i>dkk2</i>	zebrafish	Forward: 5'-caggctcaggtgaactccat-3' Reverse: 5'-cggtcccaccacacactct-3'
	medaka	Forward: 5'-taaccgctctgctgttgta-3' Reverse: 5'-agtaactgccacactgcat-3'
<i>hs3st3a1</i>	zebrafish	Forward: 5'-cgcaactctttgaccggaatt-3' Reverse: 5'-acgggacatggcgtagatc-3'
	medaka	Forward: 5'-ttcgaccgccactatggaaa-3' Reverse: 5'-ggagcctctctggtcacaaa-3'
<i>ndp</i>	zebrafish	Forward: 5'-ggcagagagtgacacttagg-3' Reverse: 5'-cgagaagtgtggctacagtga-3'
	medaka	Forward: 5'-ggaaaccatcaagcacccaatt-3' Reverse: 5'-gttctgaagggtgcttgag-3'
<i>myom1a</i>	zebrafish	Forward: 5'-actgaagcgctgttgata-3' Reverse: 5'-gcagctcaatggccatttca-3'
	medaka	Forward: 5'-tgagcaccaagtcgtctgtt-3' Reverse: 5'-ccctggctgtcttggtat-3'
<i>lox13b</i>	zebrafish	Forward: 5'-actgccagtggatcgacatt-3' Reverse: 5'-cctgtggccgtcatattgc-3'
	medaka	Forward: 5'-atccccggctttgtggatt-3' Reverse: 5'-cagccattcctgtgcttcac-3'
<i>rplp0</i>	zebrafish	Forward: 5'-aagacagggccacgtggaa-3' Reverse: 5'-cgcccacgatgaacacttg-3'
	medaka	Forward: 5'-aagacagggccacgtggaa-3' Reverse: 5'-tgctcccacgatgaagcatt-3'

1 - 7. 統計処理

データは全て平均 ± 標準誤差で表記した。2群間の比較については Student's t-test または Wald test を、2群間の反復比較については Two-way ANOVA および Sidak's multiple comparisons test を用いて評価した。結果は $P < 0.05$ または adjusted $P < 0.05$ の場合に有意であるとみなした。

2. 実験結果

2－1. メダカは脊髄損傷後の運動機能回復能力がゼブラフィッシュよりも低い

まず、当研究室の過去の結果の再現性を確認するために、各個体の遊泳距離を測定する手法を用いて、脊髄損傷後のゼブラフィッシュとメダカの運動機能はそれぞれ回復するか検討した（図 1）。脊髄切断前（pre-surgery, pre）と比較して、脊髄損傷 1 週間後（wpi）では、ゼブラフィッシュとメダカの両方で遊泳距離（swimming distance）が減少した（図 1C）。しかし、2 wpi と 4 wpi ではゼブラフィッシュの遊泳距離が回復したのに対し、メダカでは回復しなかった。以上よりメダカはゼブラフィッシュと比較して脊髄切断後に運動機能を回復させる能力が低いことが示唆された。

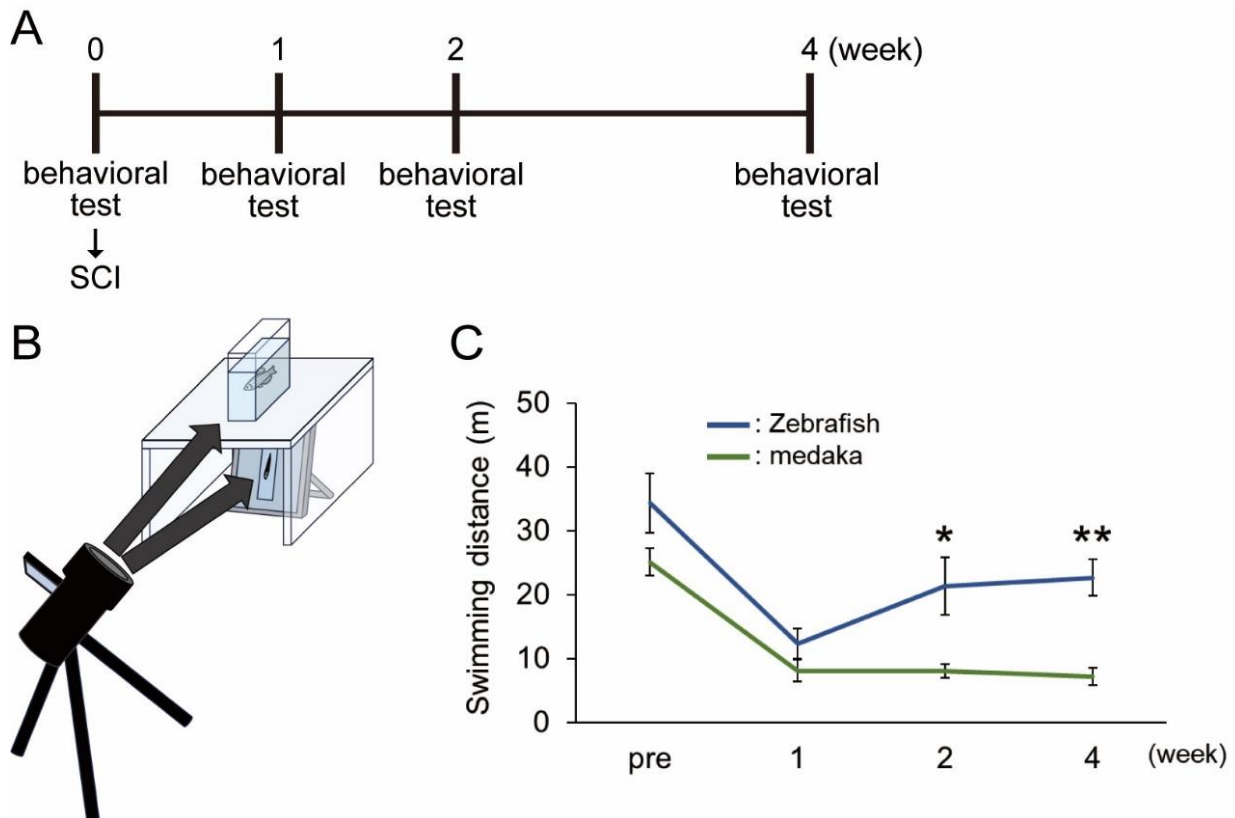


図 1. メダカはゼブラフィッシュと比較して脊髄損傷後の機能回復能が低い

A) 行動試験と脊髄損傷の実験タイムコース B) 行動試験の模式図

C) 行動試験における平均遊泳距離。緑は脊髄損傷（Spinal Cord Injury, SCI）を受けたメダカ、青は SCI を受けたゼブラフィッシュを示す。縦軸は、10 分間の遊泳距離を示す。横軸は、損傷後の週数を表す。

ゼブラフィッシュ; n = 5、メダカ; n = 4、平均 ± 標準誤差、* p < 0.05、** p < 0.01、

assessed by two-way ANOVA with Sidak's multiple comparisons test

2-2. ゼブラフィッシュでは脊髄損傷部をまたぐ軸索再生が観察されるが、メダカでは観察されない

脊髄損傷部における損傷軸索の伸長の様子をゼブラフィッシュとメダカで比較するために、軸索トレーサーを脊髄損傷部の4 mm 吻側に注入し、脊髄損傷部をまたいだ損傷軸索の伸長を観察した（図2）。一部の領域（*で表示）ではシグナルが観察されなかったが、これはメラニン色素の沈着によるものであると考えられ、観察には影響しなかった。脊髄損傷直後にトレーサーを注入した0 wpi では、標識した軸索は損傷部の吻側で観察された一方で、損傷部ではシグナルは全く観察されず、軸索が完全に切断されている様子が確認された。ゼブラフィッシュでは、標識された軸索が損傷部を通過し、6 wpi で損傷部の尾側にシグナルが観察された。これは先行研究と一致している¹³。一方で、メダカでは、標識された軸索のシグナルは損傷部の吻側でのみ観察され、6 wpi においても損傷部の尾側では観察されなかった。以上より、ゼブラフィッシュでは完全に切断された軸索が脊髄損傷部を越えて再生する能力があるのに対し、メダカでは再生能力があるとしても限定的であることが示唆された。

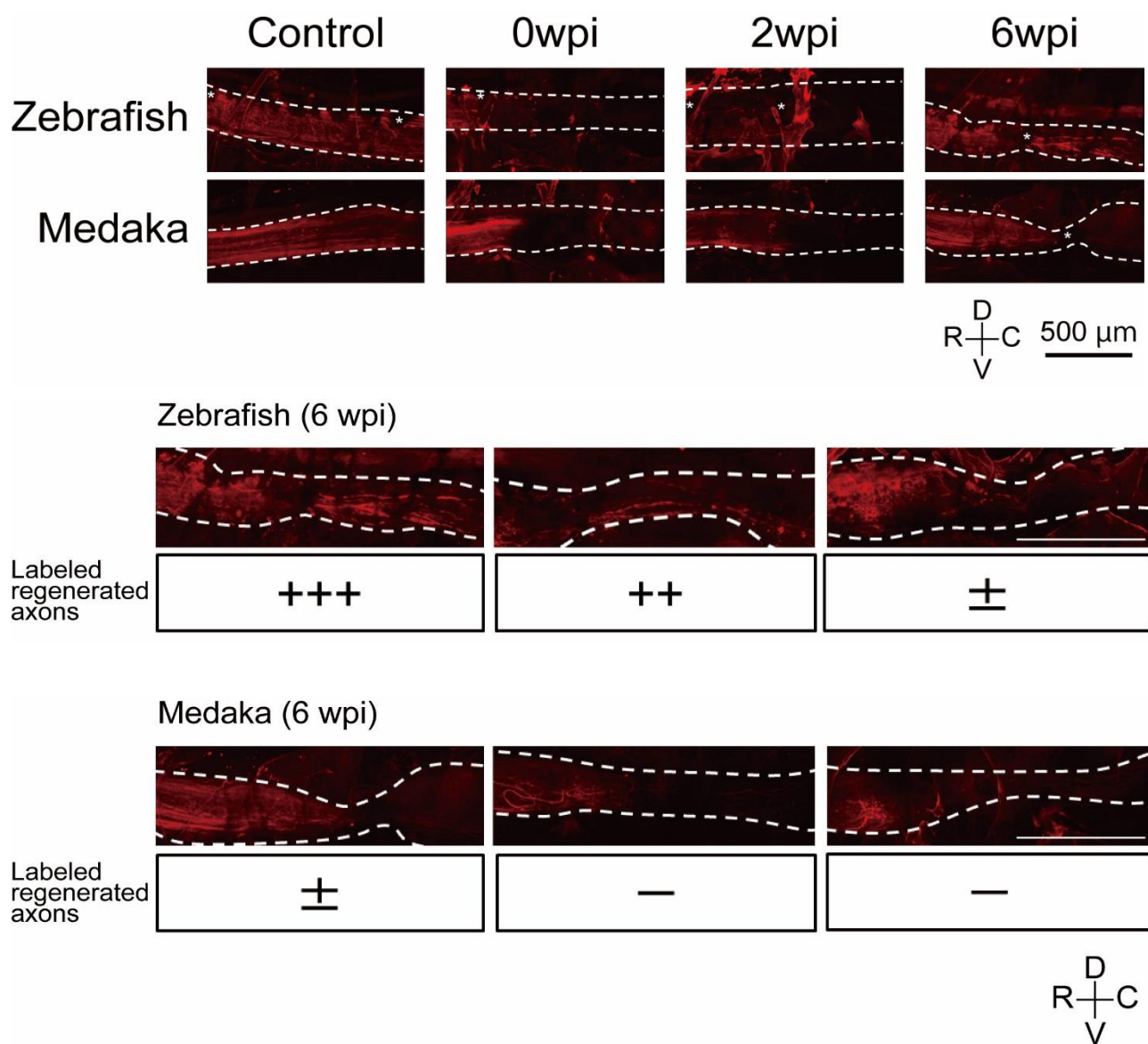


図 2. 脊髄損傷 6 週間後、ゼブラフィッシュでは損傷部をまたぐ軸索の伸長が認められるが、メダカでは確認されない

軸索トレーサーで標識された脊髄損傷部の矢状断面の代表的な画像。破線は脊髄を示す。Labeled regenerated axons は脊髄損傷部を越えた軸索再生のレベルを示す。* メラニン色素により、シグナルは観察されなかったと思われる。

D、背側；V、腹側；R、吻側；C、尾側。スケールバー：500 μm

2-3. ゼブラフィッシュとメダカでは脊髄損傷部の遺伝子発現プロファイルが異なる

図1では、運動機能の回復は2 wpiで始まっている。また、一部の軸索およびグリア細胞の突起は約2週間後までに脊髄損傷部を越えて伸長する²。さらに、当研究室はこれまでに2 wpiにおいて、ゼブラフィッシュが脊髄損傷部でグリア架橋および軸索束を形成することを観察している。そのため、脊髄損傷2週間後の時点は、脊髄損傷後の機能的/組織学的回復に関与する因子が増加/減少する重要なポイントである可能性がある。ゼブラフィッシュとメダカの再生能力の違いを決定する可能性のある因子を明らかにするために、2 wpiでの損傷脊髄組織におけるRNAシーケンスを実施し、遺伝子発現の変化を比較した。クラスター分析により、ゼブラフィッシュ（図3A）とメダカ（図3B）の両方で同じグループ（無処置であるControl群またはSpinal cord injury（SCI）群）が同一クラスターに属することが明らかになり、RNAシーケンスデータの再現性が示唆された。次に、発現変動遺伝子の統計的検定を実施した結果、ゼブラフィッシュまたはメダカの脊髄損傷後に上方制御された遺伝子（adjusted $P < 0.05$, \log_2 fold change > 0 ）または下方制御された遺伝子（adjusted $P < 0.05$, \log_2 fold change < 0 ）が認められた。これらの遺伝子から背後にある生物学的プロセスを推測するために、Shiny GOを使用してGO enrichment解析を実施した。ゼブラフィッシュで脊髄損傷後に上方制御された遺伝子における上位のGO termは「Anatomical structure development」、「Developmental process」、「Multicellular organism development」、「Regeneration」、「Cellular component organization or biogenesis」であった（図3C、表2A）。ゼブラフィッシュで脊髄損傷後に下方制御された遺伝子における上位のGO termは「Inorganic ion transmembrane transport」、「ATP metabolic process」、「Inorganic cation transmembrane transport」、「Transport」、「Cellular respiration」であった（図3D、表2B）。一方で、メダカで脊髄損傷後に上方制御された遺伝子における

上位の GO term は「Developmental process」、「Anatomical structure development」、「Animal organ development」、「Cytoskeleton organization」、「System development」であった（図 3E、表 2C）。メダカで脊髄損傷後に下方制御された遺伝子における上位の GO term は「Chemical synaptic transmission」、「Anterograde trans-synaptic signaling」、「Trans-synaptic signaling」、「Transmembrane transport」、「Synaptic signaling」であった（図 3F、表 2D）。以上より、ゼブラフィッシュで脊髄損傷後に上方制御された遺伝子には「再生」に関する遺伝子が含まれ、メダカの脊髄損傷後に下方制御された遺伝子には「シナプス伝達」に関する遺伝子が含まれた。これはそれぞれの脊髄再生能力に寄与していると考えられる。

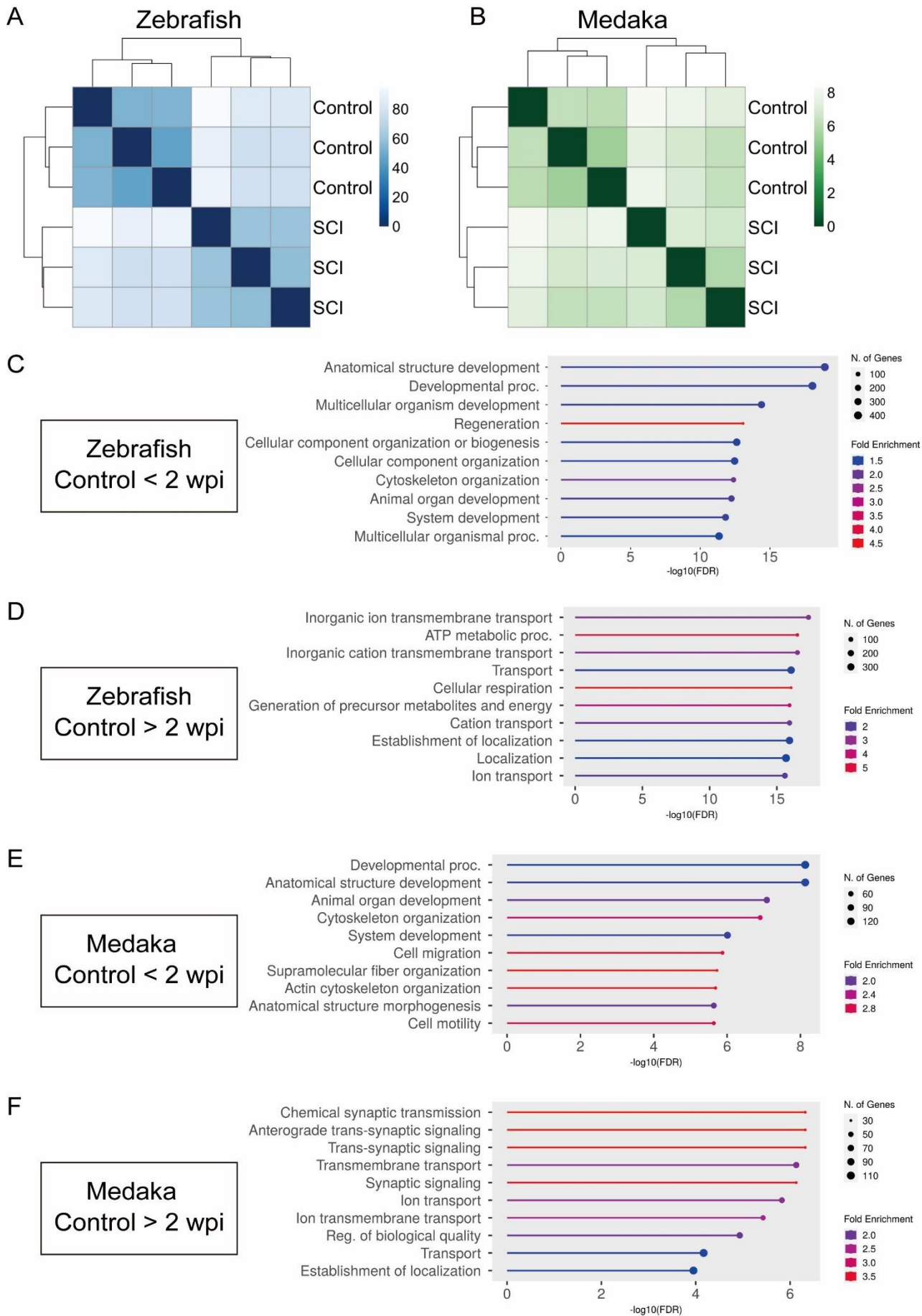


図 3. 脊髄損傷 2 週間後においてゼブラフィッシュとメダカで上方／下方制御された遺伝子は異なる遺伝子機能を示す

A、B) 距離行列に基づくサンプルのヒートマップクラスタリング。DESeq2 パッケージで取得した距離行列のヒートマップで、RNA シーケンスのサンプル間の類似点と相違点の概要を示す。ヒートマップでは、ゼブラフィッシュ (A) とメダカ (B) で Control 群と SCI 群のサンプルが 2 つの異なるグループに分類された。色が濃いほど、サンプル間の距離が近いことを示す。

C–F) Gene ontology enrichment 解析。横軸は $-\log_{10}(\text{FDR})$ を表す。赤色は Fold Enrichment が大きいことを示し、青色は Fold Enrichment が小さいことを示す。円のサイズは遺伝子の数を示す。ゼブラフィッシュ (C、D) またはメダカ (E、F) の脊髄損傷後に上方制御された (C、E) または下方制御された (D、F) 発現変動遺伝子の上位 10 個の enriched terms を示す。

ゼブラフィッシュでは、Control 群と比較して SCI 群において、916 遺伝子の発現が著しく上昇しており (adjusted $P < 0.05$, \log_2 fold change > 2)、783 遺伝子の発現が著しく低下していた (adjusted $P < 0.05$, \log_2 fold change < -2) (図 4A)。メダカでは、Control 群と比較して SCI 群において、339 遺伝子で著しく発現上昇し、363 遺伝子で著しく発現低下していた (図 4B)。以上の遺伝子から、ゼブラフィッシュとメダカの間で逆の発現変化を示す遺伝子を同定するために、同一の祖先に由来する相同な遺伝子であるオースロガス遺伝子に着目した (図 4C)。ゼブラフィッシュとメダカの両方において、51 遺伝子は Control 群と比較して SCI 群で発現が上昇し、31 遺伝子は低下していた。3 遺伝子 (*myom1a*、*lox13b*、*baiap211a*) がゼブラフィッシュの SCI 群で発現上昇してメダカの SCI 群で発現低下しており、4 遺伝子 (*dkk2*、*atp9b*、*hs3st3a1*、*ndp*) がゼブラフィッシュの SCI 群で発現低下してメダカの SCI 群で発現上昇していた。

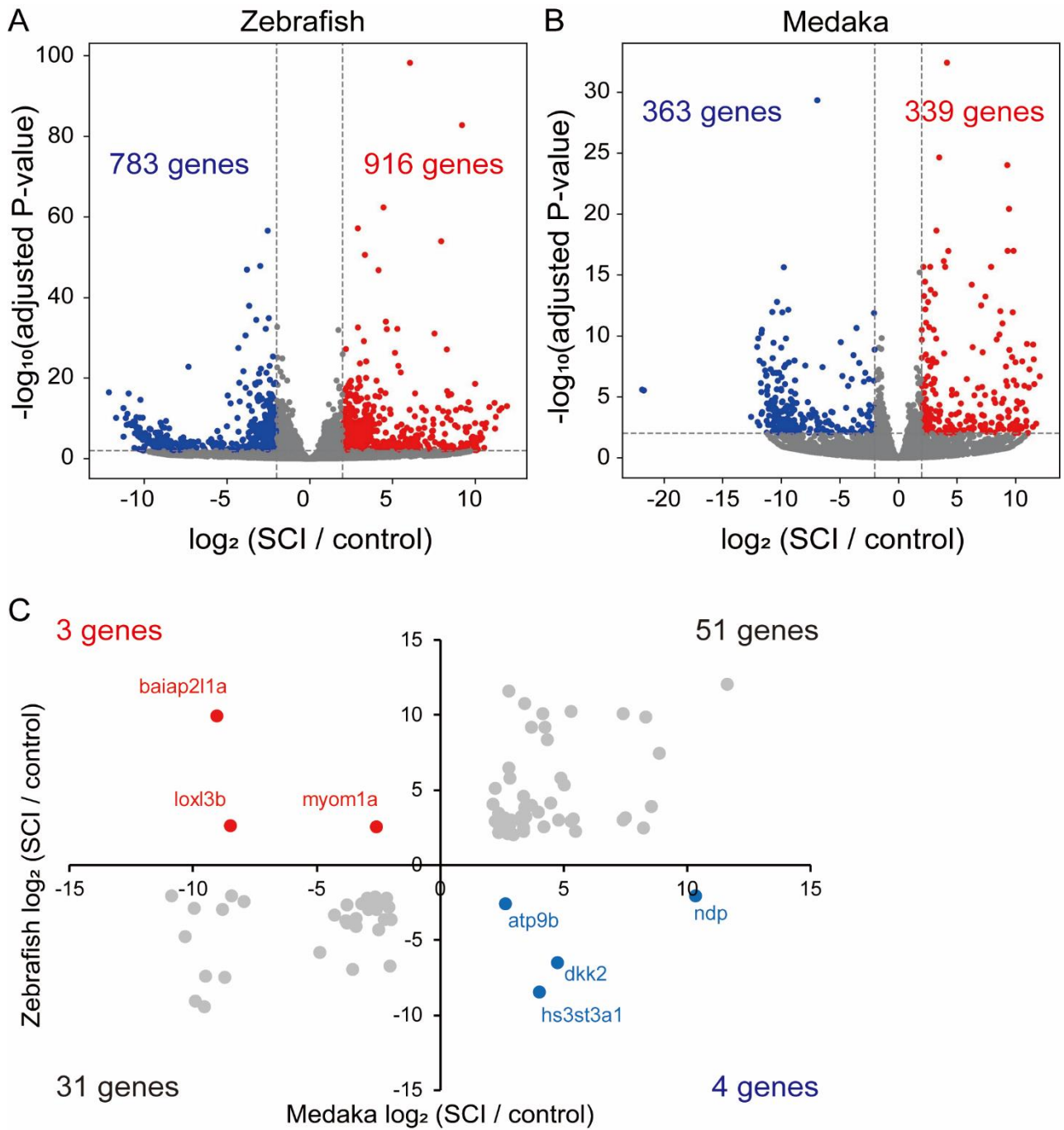


図 4. RNA シーケンスにより、ゼブラフィッシュとメダカで反対の発現変化を示す遺伝子を特定した

A、B) ゼブラフィッシュ (A) またはメダカ (B) におけるボルケーノプロット (SCI vs control)。横軸は control 群と比較した SCI 群の発現レベルの \log_2 fold change を表し、縦軸は $-\log_{10}(\text{adjusted P value})$ を表

す。赤は adjusted $P < 0.05$ (Wald test) で 4 倍以上上方制御された遺伝子を示す。青は adjusted $P < 0.05$ (Wald test) で 4 倍以上下方制御された遺伝子を示す。水平の破線は adjusted $P = 0.05$ を示し、垂直の破線は $\log_2(\text{SCI/control}) = 2$ を示す。

C) ゼブラフィッシュとメダカにおけるオーソログ遺伝子の対応。adjusted $P < 0.05$ かつ $|\log_2 \text{fold change}| > 2$ の遺伝子がマッピングされた。横軸はメダカにおける control 群と比較した SCI 群の発現量の $\log_2 \text{fold change}$ を表し、縦軸はゼブラフィッシュにおける control 群と比較した SCI 群の発現量の $\log_2 \text{fold change}$ を表す。赤はゼブラフィッシュでは上方制御されたがメダカでは下方制御された遺伝子を示し、青はゼブラフィッシュでは下方制御されたがメダカでは上方制御された遺伝子を示す。

ゼブラフィッシュとメダカで異なる発現変化を示した 5 遺伝子 (*dkk2*、*hs3st3a1*、*ndp*、*myom1a*、*lox13b*) の発現量を qRT-PCR で調べた (図 5A-D)。ゼブラフィッシュにおいて、qRT-PCR では *dkk2*、*hs3st3a1* および *ndp* の相対発現量は脊髄損傷後に有意に低下し、RNA シーケンス解析の結果と一致した。また、RNA シーケンスで有意に上方制御された *myom1a* と *lox13b* の相対発現量は、qRT-PCR でも脊髄損傷後に上昇する傾向があった。メダカでは、*dkk2* の相対発現量は脊髄損傷後に有意に上昇し、RNA シーケンス解析の結果と一致した。RNA シーケンスで有意に上方制御された *hs3st3a1* の相対発現量は、qRT-PCR では脊髄損傷後に上昇しなかった。RNA シーケンスで有意に下方制御された *myom1a* の相対発現量は、qRT-PCR で低下する傾向があった。*ndp* および *lox13b* の発現量は、qRT-PCR の定量下限未満であった。以上より、qRT-PCR の結果は RNA シーケンスの結果と類似しており、qRT-PCR を実施した遺伝子の中で、*dkk2* はゼブラフィッシュとメダカの両方において qRT-PCR で最も強い発現変化を示した。

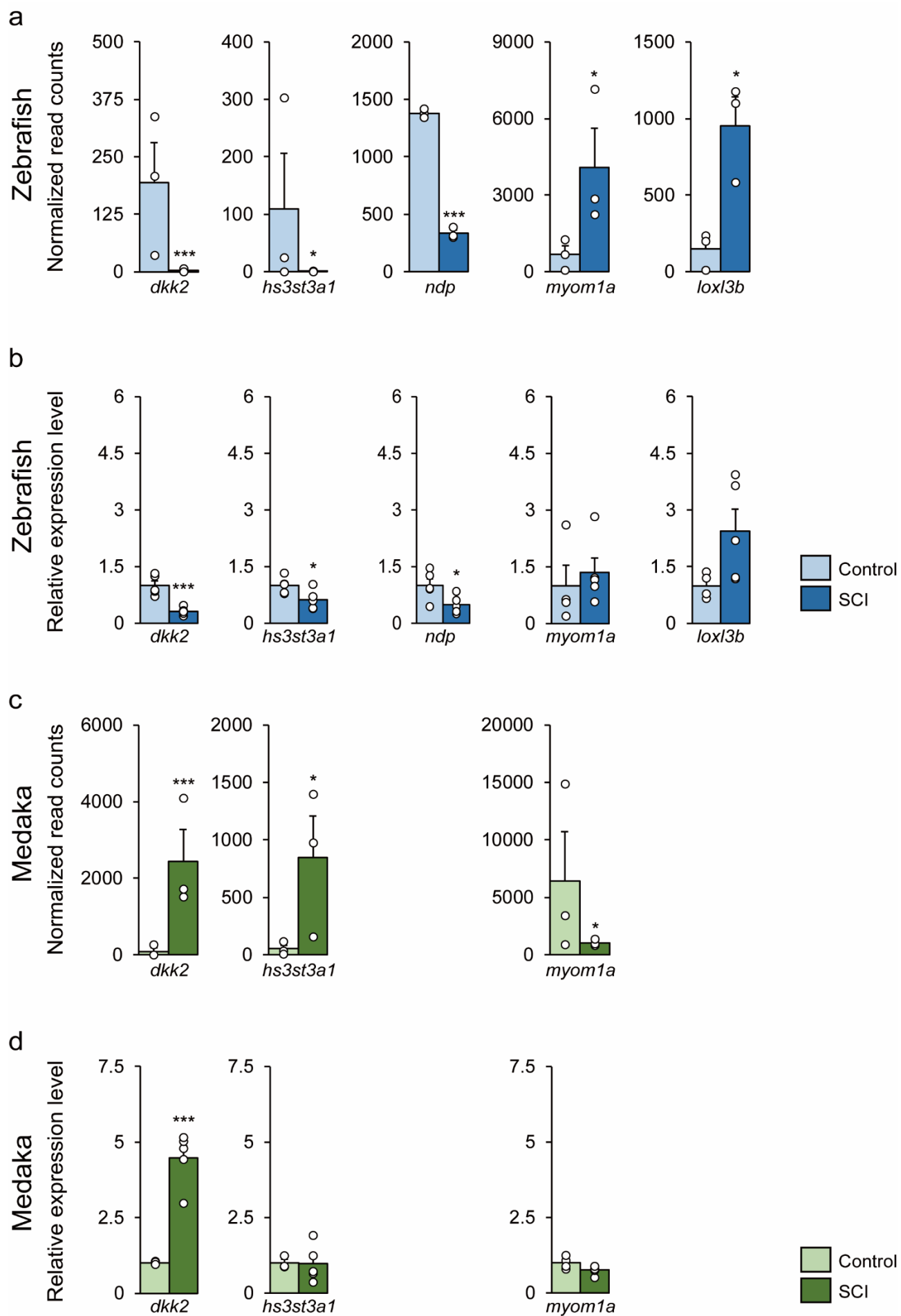


図 5. qRT-PCR において RNA シーケンスとほぼ同様の発現変化を確認した。

A-D) RNA シーケンス (A、C) と qRT-PCR (B、D) で測定した遺伝子発現レベルの比較 (SCI vs control)。

ゼブラフィッシュ (A、B) またはメダカ (C、D)。縦軸は正規化された read count (A、C)、または control

群の値を 1 とした相対発現量 (B、D) を表す。定量下限未満の値はプロットしていない。平均 ± 標準

誤差、n=3 (A、C) または n=5 (B、D)、* adjusted $P < 0.05$ 、*** adjusted $P < 0.001$ (A、C、Wald test)、

* $P < 0.05$ 、*** $P < 0.001$ (B、D、Student's t-test)

3. 考察

本研究では、行動試験と軸索トレーシングによりゼブラフィッシュとメダカの脊髄再生能力を比較し、RNA シーケンスと qRT-PCR により遺伝子発現プロファイルを比較した。その結果、メダカの脊髄損傷後の運動機能の回復能力はゼブラフィッシュよりも低いという先行研究の結果が再現され、脊髄損傷部をまたいで損傷軸索が伸長しないことが示唆された。また、ゼブラフィッシュとメダカでは脊髄損傷部の遺伝子発現プロファイルが異なることを明らかにした。私の知る限りでは、本研究はゼブラフィッシュとメダカの脊髄再生能力に着目し、メダカの軸索再生能力が低く、脊髄損傷部の遺伝子発現がゼブラフィッシュと異なることを示唆した初めての研究である。

行動試験では、ゼブラフィッシュの SCI 群の遊泳距離は 2 wpi 以降で有意に回復したが、メダカの遊泳距離は非常に低いままであった（図 1）ため、これまでの当研究室の結果と一致して、ゼブラフィッシュと比較してメダカの運動機能の回復能力は低いことが確認された。ただし、このゼブラフィッシュとメダカの種間比較の結果は慎重に解釈する必要がある。ゼブラフィッシュとメダカで同様の高位で脊髄を切断し、可能な限り同じ条件下での行動実験を実施したが、ゼブラフィッシュとメダカで遊泳に与する神経回路が異なる可能性があり、機能回復を正確に比較することは難しい。ゼブラフィッシュでは遊泳に関する神経回路の一部と脊髄損傷後のその回路再生が研究されている²⁴が、メダカの遊泳に与する神経回路は不明であり、今後メダカの遊泳に与する神経回路を明らかにすることが、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷後の機能回復に関するさらなる理解につながると思われる。

軸索トレーシングにより、ゼブラフィッシュでは損傷部をまたいだ軸索再生が認められる一方で、メダカでは損傷部をまたいだ軸索再生が認められないことを明らかにした（図 2）。哺乳類では、皮質脊髄

路などの中枢神経系の長い軸索の再生は非常に稀であり²⁵、ゼブラフィッシュとは対照的である¹⁶。本研究では特定の神経路の長い軸索に着目した検討は行っていないが、未処置の Control 群においてゼブラフィッシュとメダカの両方で軸索が強く標識されており、メダカでは 6 wpi においても軸索の伸長を観察できなかったことをふまえると、メダカの長い軸索の再生能力はゼブラフィッシュより低いことが示唆される。今後、長い軸索の再生能力を正確に評価するために、標識した長い軸索を計測し、再生率を計算する必要がある。

最後に、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄再生能力の違いを規定する要因を明らかにするために、RNA シーケンスと qRT-PCR を使用して、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷部の遺伝子発現を比較した（図 3-5）。GO 解析（図 3C-F）により、軸索再生に関連する遺伝子がゼブラフィッシュで上方制御されていることが確認されており（表 2A）、これは以前の報告と一致している²⁶⁻²⁸。一方で、メダカでは、「再生」に関連する GO term は脊髄損傷後に上方制御された上位 10 GO term に含まれておらず、「シナプス伝達」に関連する遺伝子は下方制御されていた。以上より、ゼブラフィッシュとメダカの脊髄損傷後の遺伝子発現制御は 2 wpi ですでに異なっていることを示唆しており、行動試験においてゼブラフィッシュでは 2 wpi ですでに機能回復が認められていることと一致している。

growth associated protein 43 (*gap43*)、tenascin C (*tnc*) および legumain (*lgmn*) の 3 遺伝子は、ゼブラフィッシュの「再生」で上方制御されている遺伝子の中に含まれており（表 2A）、これらは軸索再生に関与している²⁶⁻²⁸。*gap43* は、ラットの軸索末端でのアクチン動態と前シナプス小胞のサイクリングを調節することで、軸索の成長と再生を促進する^{29,30}。また、GAP43 によって促進される F-アクチンの蓄積は、発達中や再生中の神経突起の伸長に重要である³¹。本研究において、F-アクチン突起の形成を促

進するタンパク質をコードする ³²bar/imd domain containing adaptor protein 2 like 1a (*baiap2l1a*) や、アクチンフィラメント結合活性に関連する *myomesin 1a* (*myom1a*) の発現はゼブラフィッシュで上昇しており、メダカでは低下していた。そのため、*baiap2l1a* および *myom1a* はアクチン形成を介してゼブラフィッシュの高い脊髄再生能力およびメダカの低い脊髄再生能力に関与しているかもしれない。

本研究の GO 解析により、ゼブラフィッシュの「再生」で上方制御されている遺伝子に *six homeobox 3b* (*six3b*) が含まれている (表 2A)。ゼブラフィッシュの網膜再生には、*six3b* による TGFβ シグナル伝達の制御を介したミュラーグリアの分化能が重要である ³³。また、ゼブラフィッシュではミュラーグリアと同じく放射状グリアの一種である上衣放射状グリアが脊髄再生に重要である ⁵ ため、脊髄再生においても *six3b* が上衣放射状グリアの分化に重要である可能性がある。一方で、メダカでは *six3b* の発現上昇が認められておらず、メダカのミュラーグリアは限られた数の網膜神経細胞種にしか分化できない ¹¹ ことを考えると、メダカでは損傷後の *six3b* を介した放射状グリアの分化が全般的に生じないのかもしれない。当研究室の先行研究では、脊髄損傷後のメダカのグリア架橋が薄いことを見出しているが、上記機構によって上衣放射状グリアが分化しないことが原因の可能性はある。

メダカの「シナプス伝達」で下方制御されている遺伝子の中に、dopamine receptor D3 (*drd3*) が含まれていた (表 2D)。ドパミンは中枢神経系に存在する神経伝達物質で、運動活動、情動行動、認知機能に関連しており、ドパミン伝達の機能不全はうつ病などの神経精神疾患やパーキンソン病などの神経変性疾患に関与している ³⁴。また、ゼブラフィッシュでは、D2 クラスドパミン受容体 (D2、D3、D4) に対するアゴニストが再生した運動ニューロンを増加させることが報告されており ³⁵、運動ニューロンの形成にはドパミンが必要である。特に、DRD3 はドパミンとの親和性が高く ³⁶、運動活動などのいくつ

かの機能において重要な役割を果たしており^{34,37}、最近では *drd3* が神経細胞の発達、構造可塑性の促進、神経保護に関与していることが報告されている³⁴。以上より、メダカの脊髄における *drd3* の発現低下が、本研究で認められたメダカの脊髄再生能力の低さの一因かもしれない。また、メダカで発現低下がみられる「シナプス伝達」の遺伝子には、 β -synuclein (*sncb*) が含まれていた (表 2D)。*SNCB* は神経保護作用があるため、*drd3* と同様にメダカの脊髄における *sncb* の低下はメダカの脊髄再生が低いことの一因かもしれない。興味深いことに、DRD3 はニコチン性アセチルコリン受容体の $\beta 2$ サブユニットとヘテロ複合体を形成し、 α -synuclein の蓄積を阻害し、ドパミンニューロンにおける神経保護を誘導する³⁴。*SNCB* もまた in vitro では α -synuclein の凝集を阻害する³⁸ ことや、*SNCB* を α -synuclein と共発現させると α -synuclein の細胞毒性が減少すること³⁹ が報告されており、どちらも α -synuclein の阻害を介して神経保護作用を示しているかもしれない。メダカの脊髄において、*drd3* および α, β -synuclein が脊髄再生を阻害しているのかを明らかにするため、今後機能解析や組織学解析が必要である。

WNT シグナル経路に関連する dickkopf WNT signaling pathway inhibitor 2 (*dkk2*) は、RNA シーケンスと qRT-PCR の両方で、脊髄損傷後にゼブラフィッシュで有意に下方制御され、メダカで上方制御された。*wnt* シグナル経路はゼブラフィッシュの脊髄再生を促進する⁴⁰。*DKK2* は主に WNT 拮抗薬として作用することが知られているため、*dkk2* はメダカの *wnt* シグナル経路を介した脊髄再生を阻害する可能性がある。興味深いことに、成体マウスでは、*Dkk2* の発現レベルは脊髄損傷 3 日後以降に徐々に上昇する⁴¹。そのため、成体マウスでも同様に *Dkk2* が *Wnt* シグナル経路を介した脊髄再生を阻害する可能性がある。ただし、*DKK2* も状況依存的に WNT シグナル伝達を促進する⁴² ことや、WNT リガンドは軸索に対して濃度依存的な影響を及ぼし、結合する受容体に応じて反対の活動を誘発する⁴³ ことなどが報告さ

れており、WNT シグナル経路は大変複雑である。そのため、WNT シグナル伝達と脊髄再生能力の関係に関しては今後さらなる研究が必要であるが、*dkk2* を介した *wnt* シグナル経路はゼブラフィッシュ、メダカ、マウスの脊髄再生能力の差の根底にある可能性がある。本研究では DKK2 のタンパク質発現量は測定できていない。タンパク質発現量は必ずしも遺伝子発現量と一致しないため慎重な調査が必要である。また、発現している細胞腫なども特定できていない。発現している細胞の特定は脊髄再生能力の根底にあるメカニズムのさらなる理解につながるため、今後さらなる検討が必要である。最後に本研究では *dkk2* の機能解析は実施していない。*dkk2* の機能獲得実験や機能喪失実験、レスキュー実験などを実施することで *dkk2* と脊髄再生の関与について今後検討していかなければならない。

本研究では、ゼブラフィッシュとメダカは異なる軸索再生能力を示し、脊髄損傷後の遺伝子発現プロファイルの変化が異なることを示した。本研究は、ゼブラフィッシュとメダカの種間比較が、脊髄再生能力を決定する新たな因子を解明する有望なモデルとなり得ることを示している。本研究をもとに、脊髄再生能力を規定する要因を解明し、新規標的として治療方法の創出につながることを期待する。

表 2. GO enrichment 解析において各 enriched term に含まれる遺伝子

A) ゼブラフィッシュの脊髄損傷後に上方制御された遺伝子の GO enrichment 解析

B) ゼブラフィッシュの脊髄損傷後に下方制御された遺伝子の GO enrichment 解析

C) メダカの脊髄損傷後に上方制御された遺伝子の GO enrichment 解析

D) メダカの脊髄損傷後に下方制御された遺伝子の GO enrichment 解析

表 2A Zebrafish 0 wpi < 2 wpi

Pathway	Genes
GO:0048856 anatomical structure development	lamb2 mmp14a meis1a marcksa stmn1a rhogb prkcsb sox4a anos1b enpp1 csrp1a itgb1bp1 rnd3b marcksb nphp1 mef2cb myog thbs1b gsna dpf2 coll1a1a actn3a sulf2b ildr2 pdlim3b eya1 cdh6 dag1 cap1 casp3a acvr1l igf2a sparc fn1a pdlim1 spag6 lama4 foxd3 alas1 rhoca cdh11 armc2 xkr9 anxala bmp1a tnnt3a flvcr1 cdk16 sidkey-11p23.7 igf2b cebpa dpf2l rac2 myl9a sulf1 xkr8.3 wnt4b vii1 cryba2b cxcr4b stmn4l lmod2b arf6b mylpfa myl2b six3b her9 serpine1 CU234171.1 msna desma taok3a cdc42ep5 gal3st1a manf pak2a lamc2 tnnt3b vsir serpinf1 actl6a rac1a NCKAP1L dspb rnd3a plekho1b sox11a col12a1a pbx3a hapln1a lamc3 sox4b vasna gap43 CU861477.1 dusp1 lamb1a RSPH1 scinla stmnd1 neola plp1a myl2a ecm1b ccnb1 pgrmc1 spi1b adam8a kifc1 palmda foxm1 neurod4 kif4 myof recql serinc5 gtf2e2 myhz2 jag1b dkk1a kif23 irf9 myo10 myofl elk3 elf1 stat3 trip13 adgrg1 vangl2 fzd7b stat4 rps19 pppdfb sich211-207d6.2 kif9 ndrg1a pkd1b rps10 gpr157 myhc4 tp53 angptl4 myo1g lfng nrp2b h1-0 nfkb2 e2f5 plaub pa2g4a cdc42l capn3b notch2 tp63 tes rbpjb pkz egf kif6 cripl araf rel foxc1b foxp3a irf8 fh1b zgc:110425 fzd7a crb2a rasgrp4 arhgap45b ndnf myh9a nid1a pa2g4b dkk3b myo10l3 adgrg3 hbegfa foxp4 stat1b hspg2 myo9b arhgef10 ajuba myh7 prkd3 mustn1b efemp2a myha etvl nid1b sh3pxd2b pax6a cd248a sich211-246m6.5 kalrna plek tnc prph prdx5 ctsba ttn.1 atpl1a1a.1 grna nfkb1aa fam49a hdac6 cd74a arf1 eaf2 sdcbp2 gadd45bb hdac1 mmp2 tgfb3 cfl1 ctnnb2 cav3 gli2a gna12a ttn.2 crabbp2b abrab tph1b acta1a cd74b rps14 slc3a2b mipa fst1b ctsk id1 kif2a mmp9 jun snailb aldh1a2 lgals2a acta1b tyrp1b tph2 plcd4a ccl19a.1 tgif1 st14a lpar6a jupa bcl6aa furinb gna13a abca1a tsc22d3 chrdl2 hmcn2 pfn1 uhrf1 elovl1b cav1 igfbp7 h2az2b tuba1a rcan1a loxa ppp1caa hsp90b1 rpl3 copa ybx1 tpm3 rpl28 tcf3a odc1 slc2a1b caspa wls rpl22l1 msil rplp2l snrpd1 plod2 dcn inhbaa nop56 atplb1a myl1 npmla smarce1 npc1 pabpc1a tnfrsf1a tram1 chrnd ptbp1a ugdh colla2 rpl5a snx5 ahr2 rplp1 plecb ccn1 emilin1a nolc1 cd63 arpc1b rab32a tnni2a.4 uchl3 epb4l15 ptp1a tagln2 xbp1 tctn2 dync1li2 mdka rgs18 col18a1a canx tubb5 nsfb lgmn pitpnaa fosl2 rps29 pp1h hsbp1b rfc4 actc1a tyms ccn2a ctsz etf1b peli1b spp1 islr2 col4a6 kctd12.2 coro1a armc4 slc7a7 id2a bambia smtnl atp6v0ca kitlgb tax1bp3 tfpi2 slx4 col6a2 ece1 stra6l galnt11 tbata gck zgc:153115 gli3 tuba8l3 dyrk3 rps15 ppm1g icam3 col6a3 smarca4a mych cdca7a ppp2r3a tmsb4x rnf111 cerkl prmt5 cdk1 macroh2a2 smarcd2 ngfrb ponzr1 lepa igfbp3 eef2b atp6v0e1 mob1a il4r.1 mcm2 sar1b ndst1b nme2b.1 postnb il6st snx7 il4r.2 ACTC1 sich211-248e11.2
GO:0032502 developmental proc.	spi1b lamb2 mmp14a meis1a marcksa stmn1a rhogb prkcsb sox4a anos1b enpp1 csrp1a itgb1bp1 rnd3b marcksb nphp1 mef2cb myog thbs1b gsna dpf2 coll1a1a actn3a ppp1r13l sulf2b ildr2 pdlim3b eya1 cdh6 dag1 cap1 casp3a acvr1l igf2a elk3 sparc ptbp1a fn1a pdlim1 spag6 elf1 lama4 foxd3 alas1 rhoca cdh11 armc2 cav3 xkr9 anxala bmp1a tnnt3a flvcr1 pparg cdk16 sidkey-11p23.7 igf2b cebpa dpf2l rac2 myl9a sulf1 fst1b xkr8.3 wnt4b vii1 id1 cryba2b cxcr4b stmn4l lmod2b arf6b mylpfa myl2b six3b id2a tyrp1b her9 serpine1 CU234171.1 fstb msna desma taok3a cdc42ep5 gal3st1a manf pak2a lamc2 tnnt3b vsir serpinf1 tnk1 actl6a rac1a NCKAP1L dspb rnd3a plekho1b sox11a col12a1a pbx3a hapln1a lamc3 sox4b vasna gap43 CU861477.1 dusp1 lamb1a etvl RSPH1 scinla stmnd1 neola plp1a cav1 myl2a ecm1b ccnb1 pgrmc1 adam8a kifc1 palmda foxm1 neurod4 spata6l kif4 myof recql serinc5 gtf2e2 myhz2 jag1b dkk1a usf1l kif23 irf9 myo10 myofl frzb ahr2 stat3 trip13 adgrg1 vangl2 fzd7b stat4 rps19 pppdfb sich211-207d6.2 kif9 ndrg1a pkd1b rps10 gpr157 myhc4 tp53 angptl4 myo1g atoh8 lfng nrp2b h1-0 nfkb2 e2f5 plaub pa2g4a cdc42l capn3b notch2 tp63 tes rbpjb pkz tsga10 egf kif6 cripl araf rel foxc1b foxp3a irf8 fh1b zgc:110425 fzd7a crb2a rasgrp4 arhgap45b ndnf myh9a nid1a pa2g4b dkk3b myo10l3 adgrg3 hbegfa foxp4 stat1b hspg2 zgc:195173 myo9b mych arhgef10 ajuba myh7 prkd3 mustn1b efemp2a myha metrnla nid1b sh3pxd2b pax6a cd248a sich211-246m6.5 kalrna plek tnc prph prdx5 ctsba ttn.1 atpl1a1a.1 grna nfkb1aa fam49a hdac6 cd74a arf1 eaf2 sdcbp2 gadd45bb hdac1 mmp2 tgfb3 cfl1 ctnnb2 gli2a gna12a ttn.2 crabbp2b abrab tph1b acta1a cd74b rps14 slc3a2b mipa ctsk kif2a mmp9 jun snailb aldh1a2 lgals2a acta1b tph2 plcd4a ccl19a.1 tgif1 st14a lpar6a jupa bcl6aa furinb gna13a abca1a tsc22d3 chrdl2 hmcn2 pfn1 uhrf1 elovl1b igfbp7 h2az2b tuba1a rcan1a loxa ppp1caa hsp90b1 rpl3 copa ybx1 tpm3 rpl28 tcf3a odc1 slc2a1b caspa wls rpl22l1 msil rplp2l snrpd1 plod2 dcn inhbaa nop56 atplb1a myl1 npmla smarce1 npc1 pabpc1a tnfrsf1a tram1 chrnd ugdh colla2 rpl5a snx5 rplp1 plecb ccn1 emilin1a nolc1 cd63 arpc1b rab32a tnni2a.4 uchl3 epb4l15 ptp1a tagln2 xbp1 tctn2 dync1li2 mdka rgs18 col18a1a canx tubb5 nsfb lgmn pitpnaa fosl2 rps29 pp1h hsbp1b rfc4 actc1a tyms ccn2a ctsz etf1b peli1b spp1 islr2 col4a6 kctd12.2 coro1a armc4 slc7a7 bambia smtnl atp6v0ca kitlgb tax1bp3 tfpi2 slx4 col6a2 ece1 stra6l galnt11 tbata gck zgc:153115 gli3 tuba8l3 dyrk3 rps15 ppm1g icam3 col6a3 smarca4a cdca7a ppp2r3a tmsb4x rnf111 cerkl prmt5 cdk1 macroh2a2 smarcd2 ngfrb ponzr1 lepa igfbp3 eef2b atp6v0e1 mob1a il4r.1 mcm2 sar1b ndst1b nme2b.1 postnb il6st snx7 il4r.2 ACTC1 sich211-248e11.2

GO:0007275 multicellular organism development	mmp14a meisla marcksa stmn1a rhogb prkcsh anos1b enpp1 marcksb mef2cb thbs1b gsna dpf2 col1a1a sulf2b pdlim3b dag1 casp3a acvr1l fn1a pdlim1 spag6 alas1 anxala bmp1a flvcr1 cdk16 sidkey-11p23.7 cebpa dpf2l rac2 sulfi wnt4b cryba2b cxcr4b stmn4l arf6b myl2b six3b her9 serpine1 CU234171.1 taok3a gal3st1a manf pak2a vsir serpinf1 act16a rac1a NCKAP1L sox11a col12a1a pbx3a hapln1a wasna gap43 CU861477.1 dusp1 scinla stmnd1 neola plp1a myl2a ecm1b kifc1 foxm1 neurod4 kif4 serinc5 myhz2 jag1b dkk1a eya1 kif23 myo10 lama4 foxd3 vangl2 pdpdpf sic:h211-207d6.2 kif9 ndrg1a pkd1b myhc4 angptl4 myo1g lfng nrp2b notch2 kif6 foxc1b foxp3a ndnf myh9a nid1a dkk3b myo10i3 foxp4 hspg2 arhgef10 myh7 mustn1b myha etvl sh3pxd2b kalrna spilb sox4a grna nfkbiaa fam49a hdac6 nphpl cd74a arf1 eaf2 sdcbp2 gadd45bb hdac1 mmp2 igf2a sparc tgfb3 cfl1 cttnb2 cav3 gli2a gna12a adgrgl fzd7b crabp2b igf2b abrab tph1b cd74b rps14 mipa fstl1b ctsk id1 kif2a jun snailb rbpbj aldh1a2 lgals2a tyrp1b tph2 plcd4a ccl19a.1 tgf1l fzd7a lpar6a jupa bcl6aa furinb gna13a abcala tsc22d3 chrnd2 hmcn2 pfn1 sox4b uhrf1 cav1 igfbp7 h2az2b tuba1a lamb2 atp1a1a rcan1a loxa rpl3 copa ybx1 rpl28 csrpl1a odcl1 slc2a1b caspa wls rpl22l1 msi1 rplp2l snrpd1 plod2 dcn nop56 npmla cdh6 cap1 smarcel npc1 pabpcla tram1 ptbpl1a ugdh col1a2 rpl5a snx5 cdh11 ahr2 rplp1 tnc stat3 emilin1a nolc1 cd63 arpc1b tt1.2 stat4 rab32a rps19 epb41i5 ptpria xbp1 tctn2 dync1li2 mdka rgs18 canx nfk1b2 nsfb lgmn pitpnaa fosl2 rps29 ppih hsbplb rfc4 actc1a mmp9 tyms ccn2a ctsz etf1b peli1b spp1 islr2 col4a6 egf kctd12.2 cripl pgrmc1 corola ctsba armc4 slc7a7 rel id2a bambia acta1b smtnl irf8 fh1b atp6v0ca kitlgb mnsa crb2a tfpi2 slx4 col6a2 ece1 rasgrp4 stra6l galnt11 tbat2a gck zgc:153115 gli3s tuba8l3 rps15 hbegfa ppm1g icam3 stat1b col6a3 smarca4a cdca7a ppp2r3a tmsb4x ajuba rnf111 cerkl cdk1 macroh2a2 smarc2d ngfrb ponzr1 lepa lamc3 igfbp3 eef2b lamb1a atp6v0e1 mobla il4r.1 mcm2 sar1b ndst1b elov1b nme2b.1 il6st snx7 il4r.2 sic:h211-248e11.2
GO:0031099 regeneration	anxala gap43 mustn1b dkk1a prph cxcr4b notch2 prdx5 ctsba stat3 six3b tgf1l hbegfa col12a1a hapln1a csrpl1a myog col1a1a sdcbp2 inhbaa hdac1 tnfrsf1a tnc ccn1 igf2b mdka tubb5 lgmn mmp9 ccn2a aldh1a2 fh1b gck gli3s smarca4a lamb1a il4r.1 uhrf1 cav1 il6st il4r.2
GO:0071840 cellular component organization or biogenesis	kifc1 tuba1a lamb2 mmp14a maprelb loxa rpl3 pfn2 marcksa stmn1a tmed9 atl3 rhogb mad2l1 zgc:86764 tpm3 kif4 myof tuba8l4 csrpl1a itgblbp1 recql rnd3b arpc1a atp11a pole3 tmed5 marcksb col11a1b col16a1 zgc:112437 efhcl1 vim eif4bb bin2b rab34b gsna snrpd1 col1a1a col5a1 snap23.1 cfl1l nedd1 actn3a sulf2b stard8 pdlim3b npmla cdh6 ehd1b ranbp1 lamp2 kif23 rpl5b dag1 mmp2 ddx6l arpc5b tram1 haus5 rpl7a fn1a pdlim1 col1a2 spag6 rpl5a baxa lama4 cfl1 rhoca cdh11 plecb armc2 cav3 wasf2 col5a2b xkr9 anxala tmed2 arpc1b sept2 prph gmfb krt18b tmed3 rab32a rab1ab tram2 tnnt3a tppp3 rps19 baxb col5a2a ift140 cdk16 epb41i5 sidkey-11p23.7 lrpap1 rpl37 tctn2 dync1li2 myo1g spata4 col18a1a rps14 tubb5 rac2 myl9a sulfi h1-0 pih1d3 arpc5a nasp xkr8.3 mcm4 cdc42l vii1 tuba8l mmp9 eml1 maprela nop2 rps5 postna stmn4l etf1b lgals3b tapbp.2 sh3gbl1a rps16 rab34a lmod2b mmp30 ccn1b col4a6 stx4 shmt1 arf6b gemin8 arpc4 corola ebna1bp2 tyrp1b CU234171.1 wdr34 mcm6 atl2 arpc3 msna arpc4l dync1li2 zgc:110425 cfap70 sic:h211-71m22.1 desma adamts3 taok3a slx4 iquv arhgap17b hmgn7 cdc42ep5 ndnf manf snx18a sh3gl1a pak2a vamp5 lamc2 tnnt3b jhy snx9b maip1 lman1 tuba8l3 vamp3 top1l dyrk3 rps15 tgfbi trmt112 pdzrn3a tuba4l knstrn rac1a NCKAP1L bub3 snrpd3l dspb rnd3a emel1 plekho1b tmsb4x arhgef10 ajuba tor1 pacsin2 ttll4 mfn1b tapbp.1 sic:h211-166a6.5 sic:h73-234b20.5 dnah5 pfn1 mki67 sic:h211-284e13.9 zmp:0000001323 zfand6 sic:h211-1o7.2 wasna hmgn2 gap43 mmp13b lamb1a zgc:123107 cfap52 atp6v0e1 RSPH1 cert1b scinla stmnd1 mcm2 neola sar1b plp1a cav1 postnb plek L0018188.1 cxcr4b nusap1 ruvbl1 sorbs2a nup88 tfg pin4 katnb1 fam49a adamts8a abila ezh2 b9d1 nop56 abi2b hdac1 cap1 smarcel rsph9 dsccl eif6 lcp1 mcm3 tor1l3 tt1.2 itgb4 baiap2l1a cnn3b cdc65 ndrg1a adamts15b tp53 corolca cnn2 nrp2b nsfb pitpnaa drc1 capn3b cyfipl tp63 rplp0 spata18 actr2a cdccl03 kctd12.2 tmsb dffa eif5a2 ifit16 hells scinlb rsph4a jupa cfap126 wipflb ndc80 rab5if cenpo sidkey-27p23.3 garl sic:h211-199g17.9 pbrrml1 smarca4a sic:h73-222h13.1 macroh2a2 smarc2d actr3 cenpt efemp2a cnn3a snrpg capgb cdc40 cfap53 cttnal sh3pxd2b uhrf1 kalrna igfbp7 nop58 snrpf twf1a tt1.1 grna casp3a gna12a slc3a2b wnt4b gna13a col12a1a hmcn2 atp1a1a.1 myog plod2 sdcbp2 chrnd tnc stat3 gli2a adgrgl tnni2a.4 tagln2 lgmn havcr1 hsbp1 islr2 atp6v0ca tfpi2 col6a2 stra6l myh9a col6a3 ppp2r3a myh7 lamc3 orc4 antrx2a il6st sic:h211-248e11.2
GO:0016043 cellular component organization	kifc1 tuba1a lamb2 mmp14a maprelb loxa rpl3 pfn2 marcksa stmn1a tmed9 atl3 rhogb mad2l1 zgc:86764 tpm3 kif4 myof tuba8l4 csrpl1a itgblbp1 recql rnd3b arpc1a atp11a pole3 tmed5 marcksb col11a1b col16a1 zgc:112437 efhcl1 vim eif4bb bin2b rab34b gsna snrpd1 col1a1a col5a1 snap23.1 cfl1l nedd1 actn3a sulf2b stard8 pdlim3b npmla cdh6 ehd1b ranbp1 lamp2 kif23 rpl5b dag1 mmp2 ddx6l arpc5b tram1 haus5 fn1a pdlim1 col1a2 spag6 rpl5a baxa lama4 cfl1 rhoca cdh11 plecb armc2 cav3 wasf2 col5a2b xkr9 anxala tmed2 arpc1b sept2 prph gmfb krt18b tmed3 rab32a rab1ab tram2 tnnt3a tppp3 rps19 baxb col5a2a ift140 cdk16 epb41i5 sidkey-11p23.7 lrpap1 rpl37 tctn2 dync1li2 myo1g spata4 col18a1a rps14 tubb5 rac2 myl9a sulfi h1-0 pih1d3 arpc5a nasp xkr8.3 mcm4 cdc42l vii1 tuba8l mmp9 eml1 maprela rps5 postna stmn4l etf1b lgals3b tapbp.2 sh3gbl1a rab34a lmod2b mmp30 ccn1b col4a6 stx4 shmt1 arf6b gemin8 arpc4 corola tyrp1b CU234171.1 wdr34 mcm6 atl2 arpc3 msna arpc4l dync1li2 zgc:110425 cfap70 sic:h211-71m22.1 desma adamts3 taok3a slx4 iquv arhgap17b hmgn7 cdc42ep5 ndnf manf snx18a sh3gl1a pak2a vamp5 lamc2 tnnt3b jhy snx9b maip1 lman1 tuba8l3 vamp3 top1l dyrk3 rps15 tgfbi pdzrn3a tuba4l knstrn rac1a NCKAP1L bub3 snrpd3l dspb rnd3a emel1 plekho1b tmsb4x arhgef10 ajuba tor1 pacsin2 ttll4 mfn1b tapbp.1 sic:h211-166a6.5 sic:h73-234b20.5 dnah5 pfn1 mki67 sic:h211-284e13.9 zmp:0000001323 zfand6 sic:h211-1o7.2 wasna hmgn2 gap43 mmp13b lamb1a zgc:123107 cfap52 RSPH1 cert1b scinla stmnd1 mcm2 neola sar1b plp1a cav1 postnb plek L0018188.1 cxcr4b nusap1 ruvbl1 sorbs2a tfg katnb1 fam49a adamts8a abila ezh2 b9d1 abi2b hdac1 cap1 smarcel rsph9 dsccl eif6 lcp1 mcm3 tor1l3 tt1.2 itgb4 baiap2l1a cnn3b cdc65 ndrg1a adamts15b tp53 corolca cnn2 nrp2b nsfb pitpnaa drc1 capn3b cyfipl tp63 spata18 actr2a cdccl03 kctd12.2 tmsb dffa eif5a2 hells scinlb rsph4a jupa cfap126 wipflb ndc80 rab5if cenpo sidkey-27p23.3 sic:h211-199g17.9 pbrrml1 smarca4a sic:h73-222h13.1 macroh2a2 smarc2d actr3 cenpt efemp2a cnn3a snrpg capgb cdc40 cfap53 cttnal sh3pxd2b uhrf1 kalrna igfbp7 snrpf twf1a tt1.1 grna casp3a gna12a slc3a2b wnt4b gna13a col12a1a hmcn2 atp1a1a.1 myog plod2 sdcbp2 chrnd tnc stat3 gli2a adgrgl tnni2a.4 tagln2 lgmn havcr1 hsbp1 islr2 atp6v0ca tfpi2 col6a2 stra6l myh9a col6a3 ppp2r3a myh7 lamc3 orc4 antrx2a il6st sic:h211-248e11.2
GO:0007010 cytoskeleton organization	kifc1 tuba1a maprelb pfn2 marcksa stmn1a rhogb zgc:86764 tpm3 kif4 tuba8l4 csrpl1a rnd3b arpc1a marcksb efhcl1 vim gsna cfl1l nedd1 actn3a stard8 pdlim3b npmla ranbp1 kif23 arpc5b haus5 pdlim1 spag6 cfl1 rhoca plecb armc2 wasf2 anxala arpc1b prph gmfb krt18b tnnt3a epb41i5 sidkey-11p23.7 dync1li2 myo1g spata4 tubb5 rac2 myl9a pih1d3 arpc5a vii1 tuba8l eml1 maprela stmn4l lmod2b arpc4 corola arpc3 arpc4l desma arhgap17b cdc42ep5 tnnt3b jhy tuba8l3 tuba4l knstrn rac1a NCKAP1L dspb rnd3a tmsb4x arhgef10 ajuba pacsin2 ttll4 dnah5 pfn1 sic:h211-1o7.2 RSPH1 scinla stmnd1 plek L0018188.1 nusap1 sorbs2a katnb1 fam49a abila abi2b cap1 lcp1 baiap2l1a cnn3b cdc65 corolca cnn2 drc1 capn3b cyfipl actr2a cdccl03 tmsb scinlb wipflb actr3 cnn3a capgb cdc40 cttnal twf1a tt1.1 gna12a tt1.2 gna13a chrnd cav3 tnni2a.4 tagln2 havcr1 tfpi2 ppp2r3a myh7 antrx2a sic:h211-248e11.2
GO:0048513 animal organ development	lamb2 meisla prkcsh enpp1 mef2cb myog sulf2b ildr2 pdlim3b dag1 casp3a acvr1l fn1a pdlim1 lama4 alas1 anxala flvcr1 sidkey-11p23.7 cebpa sulfi cryba2b cxcr4b mylpfa myl2b six3b CU234171.1 desma lamc2 vsir dspb pbx3a lamc3 lamb1a myl2a ecm1b csrpl1a eyal stat3 stat4 pkd1b tp53 nfkfb wnt4b notch2 tp63 tes rbpbj egf cripl1 araf rel fh1b crb2a rasgrp4 arhgap45b stat1b myo9b ajuba prkd3 mustn1b efemp2a nid1b sh3pxd2b cd248a sic:h211-246m6.5 tnc myh7 tt1.1 spilb mmp14a atp1a1a.1 sox4a grna nfkbiaa fam49a nphpl cd74a arf1 eaf2 hdac1 igf2a sparc tgfb3 foxd3 cfl1 cav3 gna12a fzd7b tt1.2 crabp2b igf2b abrab tph1b acta1a cd74b rps14 mipa nrp2b fstl1b ctsk kif2a jun arf6b aldh1a2 acta1b tyrp1b tph2 tgf1l fzd7a jupa bcl6aa furinb gna13a sox11a hmcn2 sox4b uhrf1 elov1b loxa hsp90b1 rpl3 marcksa copa anos1b odcl1 caspa hdac6 marcksb wls rpl22l1 snrpd1 plod2 dcn col1a1a nop56 myh2 atp1b1a dkk1a myl1 npmla cdh6 smarcel npc1 pabpcla tram1 ugdh snx5 cdh11 ahr2 rplp1 plecb emilin1a nolc1 gli2a arpc1b rab32a rps19 epb41i5 xbp1 rgs18 col18a1a nsfb fosl2 rps29 hsbplb rfc4 actc1a mmp9 tyms ccn2a etf1b peli1b spp1 snailb kif6 kctd12.2 pgrmc1 corola lgals2a armc4 slc7a7 id2a irf8 atp6v0ca kitlgb tfpi2 slx4 col6a2 ece1 ndnf myh9a gck zgc:153115 gli3s hbegfa tsc22d3 icam3 hspg2 smarca4a mych cdca7a ppp2r3a tmsb4x cerkl prmt5 macroh2a2 smarc2d ngfrb ponzr1 lepa igfbp3 atp6v0e1 scinla mcm2 sar1b cav1 kalrna postnb snx7 ACTC1

GO:0048731 system development	mmp14a meis1a marcksa stmn1a rhogb prkcsh anos1b marcksb mef2cb thbs1b gsna dpf2 colla1a sulf2b pdlim3b dag1 casp3a acvr1l fn1a pdlim1 spag6 alas1 anxala flvcr1 cdk16 si:key-11p23.7 cebpa dpf2l rac2 sulfi wnt4b cryba2b cxcr4b stmn4l arf6b myl2b six3b her9 serpine1 CU234171.1 taok3a gal3st1a manf pak2a vsir serpinf1 actl6a rac1a NCKAP1L sox11a pbx3a hapln1a vasna gap43 CU861477.1 scinla stmnd1 neo1a plp1a myl2a kifc1 foxm1 neurod4 kif4 serinc5 myhz2 kif23 myo10 foxd3 bmp1a si:ch211-207d6.2 kif9 ndrg1a pkdlb myhc4 angptl4 myo1g nrp2b kif6 foxc1b foxp3a ndnf myh9a nid1a myo10i3 foxp4 hspg2 arhgef10 myh7 mustn1b myha etv1 sh3pxd2b kalrna spilb sox4a grna nfkb1a fam49a hdac6 nphp1 cd74a eaf2 eyal hdac1 mmp2 sparc tgfb3 lama4 cfl1 gli2a gna12a adgrg1 fzd7b crabp2b abrab tph1b cd74b rps14 mipa ctsk id1 kif2a notch2 jun snailb rbpjb aldh1a2 lgals2a tyrp1b tph2 tgif1 fzd7a lpar6a jupa bcl6aa furinb gna13a abcala coll2a1a sox4b uhrf1 igfbp7 tubala atpl1a1a.1 rcan1a loxa rpl3 csrpl1 odc1 slc2a1b casp1a wls rpl22l1 msi1 snrpd1 plod2 dcn sdcbp2 nop56 dkk1a npmla cdh6 smarcel npc1 pabpc1a igf2a tram1 ugdh colla2 snx5 cdh11 ahr2 rplp1 tnc stat3 emilin1a nolc1 arpc1b ttn.2 stat4 rps19 epb4i15 ptrja igf2b xbp1 mdka rgs18 canx nfkb2 nsfb lgmn pitpnaa fosl2 rps29 ppilb hsbp1b rfc4 actc1a mmp9 tyms ccn2a ctsz etf1b peli1b spp1 islr2 col4a6 egf kctd12.2 cripl pgrmcl corola armc4 slc7a7 rel id2a acta1b irf8 fh1b atp6v0ca kitlgb msna crb2a tfpi2 slx4 col6a2 ece1 rasgrp4 stra6l tbata gck zgc:153115 glis3 tuba8i3 hbegfa ppm1g tsc22d3 icam3 stat1b col6a3 smarca4a cdca7a ppp2r3a tmsb4x ajuba rnf111 cerkl macroh2a2 smarcd2 ngfrb ponzr1 lepa lamc3 igfbp3 lamb1a atp6v0e1 mob1a il4r.1 mcm2 sar1b ndst1b elov1b cav1 nme2b.1 il6st snx7 il4r.2
GO:0032501 multicellular organismal proc.	mmp14a zgc:153911 meis1a cd276 marcksa stmn1a rhogb prkcsh anos1b tpm3 enpp1 marcksb cd74a mef2cb thbs1b gsna dpf2 colla1a sulf2b pdlim3b dag1 mmp2 casp3a acvr1l chrnd acp5a fn1a pdlim1 spag6 alas1 ogas armc2 anxala bmp1a tnni2a.4 tnni2b.2 tnnt3a flvcr1 cdk16 si:key-11p23.7 lrpap1 tnni2b.1 cebpa cd74b dpf2l rac2 sulfi wnt4b id1 lgals9i3 cryba2b cxcr4b stmn4l dram2b cd226 lmod2b arf6b myl2b six3b id2a serpinb1 her9 serpine1 CU234171.1 scn1ba taok3a gal3st1a manf pak2a tnnt3b vsir admb serpinf1 lgals9i4 actl6a tnn2 rac1a myom2a NCKAP1L sox11a coll2a1a si:ch73- 234b20.5 pbx3a dhx58 hapln1a vasna zgc:174863 gap43 CU861477.1 dusp1 RSPH1 scinla zgc:194627 stmnd1 neo1a plp1a myl2a ecm1b si:ch211-196f2.6 casp1a caspb ccn1b pgrmcl kifc1 foxm1 neurod4 spata6l kif4 opn4.1 serinc5 myhz2 jag1b dkk1a eyal kif23 anxa5b myo10 lama4 foxd3 trip13 rom1b lslp1a vangl2 pppdfb si:ch211-207d6.2 kif9 ndrg1a pkdlb myhc4 angptl4 myo1g lfnr nrp2b mmp9 notch2 spp1 f13a1a.1 tlr5b tsga10 kif6 uts2a foxc1b foxp3a tfpi2 ndnf myh9a nid1a cart4 dkk3b myo10i3 foxp4 hspg2 arhgef10 myh7 mustn1b urp1 myha f3a lslp1b etv1 il4r.1 sh3pxd2b kalrna p2ryl1 il4r.2 spilb sox4a grna nfkb1a fam49a hdac6 nphp1 arf1 eaf2 sdcbp2 gadd45bb hdac1 igf2a sparc tgfb3 cfl1 cttnb2 cav3 gli2a gna12a adgrg1 fzd7b crabp2b igf2b abrab tph1b rps14 mipa fstl1b ctsk kif2a jun pawr snailb rbpjb aldh1a2 lgals2a tyrp1b tph2 plcd4a ccl19a.1 desma tgif1 fzd7a lpar6a jupa bcl6aa furinb gna13a abcala tsc22d3 chrd12 hmcn2 pfn1 sox4b uhrf1 cav1 igfbp7 h2az2b tubala lamb2 atpl1a1a.1 rcan1a loxa hsp90b1 rpl3 copa ybx1 rpl28 csrpl1 odc1 slc2a1b wls rpl22l1 msi1 rplp2l snrpd1 plod2 dcn nop56 npmla cdh6 cap1 smarcel npc1 pabpc1a tram1 ptbpl1a ugdh colla2 rpl5a snx5 cdh11 ahr2 rplp1 tnc stat3 emilin1a nolc1 cd63 arpc1b hmox1a ttn.2 stat4 rab32a rps19 epb4i15 ptrja xbp1 tctn2 cnn2 dync1li2 mdka rgs18 canx nfkb2 nsfb lgmn pitpnaa fosl2 hsbp1 rps29 ppilb hsbp1b rfc4 actc1a tyms ccn2a ctsz etf1b peli1b islr2 col4a6 egf kctd12.2 cripl corola ctsba armc4 slc7a7 rel bambia acta1b smtnl irf8 fh1b atp6v0ca kitlgb msna crb2a slx4 col6a2 ece1 rasgrp4 stra6l galnt11 tbata gck zgc:153115 glis3 tuba8i3 rps15 hbegfa tet1 ppm1g icam3 stat1b col6a3 smarca4a cdca7a ppp2r3a tmsb4x ajuba rnf111 cerkl cdk1 macroh2a2 smarcd2 ngfrb ponzr1 lepa lamc3 igfbp3 eef2b lamb1a atp6v0e1 mob1a cttna1 mcm2 sar1b ndst1b elov1b nme2b.1 postnrb il6st snx7 acta1a mylpfa ACTC1 si:ch211-248e11.2

表 2B Zebrafish 0 wpi > 2 wpi

Pathway	Genes
GO:0098660 inorganic ion transmembrane transport	sid:key-28b4.8 kcn3a cacna1ab kcnab1a gabra4 slc24a4a htr2cl1 slc6a9 slmapb cacna1ba dpp6b sid:key-43k4.5 fgf12a atp2a2a kcn2d atp1b2b atp6v1aa kcnip1b cacna1aa kcnab1b fgf14 atp1b3b cax1 kcncl1a glrba gabrg2 knc3a kcn2d kcn2c ano3 kcnj19a gabrd scn4bb stim1a slc20a2 trpc1 kcnh4b kcnab2b cacnb4b kcnj3b hecw2a kcnj19b kcnh7 kcnal1a SLC24A2 slc6a5 trpc5a gabra5 KCNK12 ndufs7 kcn2d1 atp6v1ab slc9a7 atp1b1b micu3a gabrb2a wnk4b rnf207a gabrz smdt1a trpc3 scn4ba gabrb4 atp1b2a slc8a2b atp1a3b atp6v1h uqcrfs1 atp5fa1 atp6v1d atp5pf ankhh atp6v0a1b cox6a1 ucpl1 atp2b3b nnt atp6v1c1a cacna2d4a atp6v1e1b cacng2a atp6v0cb atp6v1b2 atp2b3a atp2b4 atp6v1f atpv0e2 itpr3 cacng7a micu1 atp2b2 atp5meb atp6v0d1 atp5f1b cacng7b cacng8b cacna2d3 kcnma1a lrcc38b cox5aa smdt1b RYR2 kcnk9 pkd1l2a cox7b ap1b1 dmxl2
GO:0046034 ATP metabolic proc.	uqcrfs1 atp5fa1 ndufv2 eno2 COX5B cox6a1 enola pfkpa cox4i1 ndufv1 cyc1 sdhc hk1 pklr ndufs8a pgk1 ndufs6 atp5f1b cox5aa atp5f1e pkma pfklb cox7c pgamlb atp5pf aldorb tpila atp6v1aa ndufb9 atp6v1b2 cox7a2a ndufa8 mt-nd2 mt-atp6 mt-co3 mt-nd4l mt-nd4 mt-nd5 atp5meb bpgm atp6v1ab cox8a cox8b ndufc2 cox7b
GO:0098662 inorganic cation transmembrane transport	sid:key-28b4.8 kcn3a cacna1ab kcnab1a slc24a4a htr2cl1 slc6a9 slmapb cacna1ba dpp6b sid:key-43k4.5 fgf12a atp2a2a kcn2d atp1b2b atp6v1aa kcnip1b cacna1aa kcnab1b fgf14 atp1b3b cax1 kcncl1a knc3a kcn2d kcnj19a scn4bb stim1a trpc1 kcnh4b kcnab2b cacnb4b kcnj3b hecw2a kcnj19b kcnh7 kcnal1a SLC24A2 slc6a5 trpc5a KCNK12 ndufs7 kcn2d1 atp6v1ab slc9a7 atp1b1b micu3a wnk4b rnf207a smdt1a trpc3 scn4ba atp1b2a slc8a2b atp1a3b atp6v1h uqcrfs1 atp5fa1 atp6v1d atp5pf atp6v0a1b cox6a1 ucpl1 atp2b3b nnt atp6v1c1a cacna2d4a atp6v1e1b cacng2a atp6v0cb atp6v1b2 atp2b3a atp2b4 atp6v1f atpv0e2 itpr3 cacng7a micu1 atp2b2 atp5meb atp6v0d1 atp5f1b cacng7b cacng8b cacna2d3 kcnma1a lrcc38b cox5aa smdt1b RYR2 kcnk9 pkd1l2a cox7b ap1b1 dmxl2
GO:0006810 transport	stx1b flot1a stxbp1a stxbp5a sid:key-28b4.8 epn3b slc25a6 kcn3a cacna1ab nsfa amph kcnab1a klc1a dnm1a abcb11a slc2a3a gabra4 lin7a sept5a picalmb SYT2 rab3c gripl1 slc24a4a snap91b scamp3 sgtb htr2cl1 slc6a9 cplx2l slc1a1 ap1b1 slmapb necap1 cacna1ba ucpl1 sh3gl2a arhgap1 dpp6b sid:key-43k4.5 tmem230a fgf12a stxbp6l htatip2 atp2a2a timm17a rab41 sybl1 vamp1 rab6bb syt6b scg5 cacng2a cd36 kcn2d pacsin1a atp1b2b rab6ba atp6v1aa kcnip1b ap2b1 atp11c tomm40l scamp1 XKR7 kif1b hspa8b cacna1aa actr10 slc36a4 kcnab1b fgf14 lgi3 pex10 atp8b3 atp1b3b dnajc5aa NKAIN4 napgb stx12l csnk1e cax1 clta syn2a slc7a10b kcncl1a glrba gabrg2 mff dtnbp1b prelid3a rab18a chrna6 hsp70l knc3a kcn2d3 gdi1 rab1bb chrna2b knc2c arl4ca ano3 rab1ba slc13a4 atpv0e2 arfp2a kcnj19a gabrd slc32a1 soat2 sybu scn4bb syn1 stim1a slc20a2 dync1l1 trpc1 C3H17orf75 myo5aa kif1aa kcnh4b kcnab2b cacnb4b kcnj3b si:ch211-233a24.2 snapin hecw2a mapk8ip3 kcnj19b kcnh7 kcnal1a cacng7a shisa7b SLC24A2 vps41 slc6a5 napbb trpc5a arf3a cacng7b cacng8b gabra5 abca5 kif5ba ABCA7 KCNK12 ndufs7 rims1a kcn2d1 adgrbl1a atp6v1ab slc9a7 atp1b1b slc13a5a micu3a nlgn2b gabrb2a zgc:194578 slco5a1a kif3a wnk4b rnf207a mpc1 gabrz smdt1a arfgap3 sgpl1a trpc3 snap91a scn4ba gabrb4 atp1b2a bniip3 CABZ01092282.1 slc8a2b sgip1b rims2a arl1 sytl2 slc25a12 trak2 nsg2 gramd2aa atp1a3b cplx2 L0017711.1 RIMS2 rab3b L0017845.1 optn chm asic4b slc45a1 slc18a3a atp6v1h slc25a39 cdh23 uqcrfs1 fth1b slc7a10a snupn slc9a6a atp5fa1 atp6v1d glra1 abca2 napba atp5pf rabgef1 ankhh atp6v0a1b slc4a8 rabgef1l ap3m2 abcg2d vps9d1 cox6a1 atp2b3b nnt atp6v1c1a slc25a23b synj1 cacna2d4a grin1a mtx2 tmem30aa atp6v1e1b otoa si:ch211-51a6.2 mb gria3a grin2aa cx27.5 clcn4 kcn2d slc24a6a atp6v0cb hmgn3 si:ch211-39a7.1 gria3b chmp5a slc25a33 cngb1b ical hook1 atp6v1b2 atp2b3a grid1b atp2b4 vdac1 atp6v1f kcn2b atg4b ctp2 osbp2 dop1b vps26a svopa letm1 slc29a4 slc25a47a sv2a sv2ca sv2bb atp2a3 itpr3 atp9b micu1 atp2b2 arfgef1 syt7a napaa tomm7 GJD2 SLC03A1 atp5meb atp6v0d1 osbp19 sfxn4 atp5f1b gria2a cadpsb chrm3a abch1 slc5a7a kcnq2a syt3 gabrb1 ppfia3 slc2a5 doc2a cacna2d3 esyt2b slc39a5 kcnma1a lrcc38b cox5aa sid:key-6b12.5 sid:key-15b23.3 cltcb snx17 vtg1 htr1aa sid:key-56f14.4 elmo1 smdt1b RYR2 gga3b sec22bb syn2b relch MCOLN3 kcnk9 SLC45A4 scn1bb pkd1l2a rph3ab gjd1a GRIK2 cox7b ocr1 tusc3 clstn1 adgrbl1b dmxl2 ndr2
GO:0045333 cellular respiration	sucla2 uqcrfs1 ndufv2 COX5B cox6a1 cox4i1 ndufv1 cyc1 sdhc ndufa5 mdh2 idh3b ndufs8a ndufs6 atp5f1b ndufs7 cox5aa atp5f1e slc25a12 cox7c sdha ndufb9 cox7a2a ndufa8 mt-nd2 mt-co3 mt-nd4l mt-nd4 mt-nd5 mt-cyb sdhb ogdhl cox8a cox8b ndufc2 cs cox7b pgk1
GO:0006091 generation of precursor metabolites and energy	sucla2 uqcrfs1 ugp2b ndufv2 pygmb eno2 COX5B hmglc cox6a1 enola nnt pfkpa cox4i1 ndufv1 cyc1 sdhc ndufa5 hk1 pklr mdh2 idh3b ndufs8a pgk1 ndufs6 atp5f1b ndufs7 cox5aa atp5f1e pkma pfklb slc25a12 cox7c L0018627.1 oxtcl1a pgamlb sdha aldorb tpila ndufb9 fdx2 ndufs4 cox7a2a ndufa8 mt-nd2 mt-co3 mt-nd4l mt-nd4 mt-nd5 mt-cyb bpgm sdhb ogdhl cox8a cox8b ndufc2 cs cox7b
GO:0006812 cation transport	sid:key-28b4.8 kcn3a cacna1ab kcnab1a SYT2 slc24a4a htr2cl1 slc6a9 slmapb cacna1ba dpp6b sid:key-43k4.5 fgf12a atp2a2a syt6b cacng2a kcn2d atp1b2b atp6v1aa kcnip1b cacna1aa slc36a4 kcnab1b fgf14 atp1b3b NKAIN4 cax1 slc7a10b kcncl1a knc3a kcn2d3 kcn2c kcnj19a scn4bb stim1a trpc1 kcnh4b kcnab2b cacnb4b kcnj3b hecw2a kcnj19b kcnh7 kcnal1a cacng7a shisa7b SLC24A2 slc6a5 trpc5a cacng7b cacng8b KCNK12 ndufs7 kcn2d1 atp6v1ab slc9a7 atp1b1b micu3a wnk4b rnf207a smdt1a trpc3 scn4ba atp1b2a slc8a2b syt12 gramd2aa atp1a3b asic4b atp6v1h uqcrfs1 fth1b slc9a6a atp5fa1 atp6v1d atp5pf atp6v0a1b slc1a1 cox6a1 ucpl1 atp2b3b nnt atp6v1c1a cacna2d4a atp6v1e1b kcn2d atp6v0cb cngb1b atp6v1b2 atp2b3a atp2b4 atp6v1f kcn2b letm1 slc13a4 atpv0e2 atp2a3 itpr3 micu1 atp2b2 atp5meb atp6v0d1 atp5f1b kcnq2a slc13a5a cacna2d3 slc39a5 kcnma1a lrcc38b cox5aa smdt1b RYR2 MCOLN3 kcnk9 scn1bb pkd1l2a cox7b tusc3 ap1b1 dmxl2
GO:0051234 establishment of localization	stx1b flot1a stxbp1a stxbp5a sid:key-28b4.8 epn3b slc25a6 kcn3a cacna1ab nsfa amph kcnab1a klc1a dnm1a abcb11a slc2a3a gabra4 lin7a sept5a picalmb SYT2 rab3c gripl1 slc24a4a snap91b scamp3 sgtb htr2cl1 slc6a9 cplx2l slc1a1 ap1b1 slmapb necap1 cacna1ba ucpl1 sh3gl2a arhgap1 dpp6b sid:key-43k4.5 tmem230a fgf12a stxbp6l htatip2 atp2a2a timm17a rab41 sybl1 vamp1 rab6bb syt6b scg5 cacng2a cd36 kcn2d pacsin1a atp1b2b rab6ba atp6v1aa kcnip1b ap2b1 atp11c tomm40l scamp1 XKR7 kif1b hspa8b cacna1aa actr10 slc36a4 kcnab1b fgf14 lgi3 pex10 atp8b3 atp1b3b dnajc5aa NKAIN4 napgb stx12l csnk1e cax1 clta syn2a slc7a10b kcncl1a glrba gabrg2 mff dtnbp1b prelid3a rab18a chrna6 hsp70l knc3a kcn2d3 gdi1 rab1bb chrna2b knc2c arl4ca ano3 rab1ba slc13a4 atpv0e2 arfp2a kcnj19a gabrd slc32a1 soat2 sybu scn4bb syn1 stim1a slc20a2 dync1l1 trpc1 C3H17orf75 myo5aa kif1aa kcnh4b kcnab2b cacnb4b kcnj3b si:ch211-233a24.2 snapin hecw2a mapk8ip3 kcnj19b kcnh7 kcnal1a cacng7a shisa7b SLC24A2 vps41 slc6a5 napbb trpc5a arf3a cacng7b cacng8b gabra5 abca5 kif5ba ABCA7 KCNK12 ndufs7 rims1a kcn2d1 adgrbl1a atp6v1ab slc9a7 atp1b1b slc13a5a micu3a nlgn2b gabrb2a zgc:194578 slco5a1a kif3a wnk4b rnf207a mpc1 gabrz smdt1a arfgap3 sgpl1a trpc3 snap91a scn4ba gabrb4 atp1b2a bniip3 CABZ01092282.1 slc8a2b sgip1b rims2a arl1 sytl2 slc25a12 trak2 nsg2 gramd2aa atp1a3b cplx2 L0017711.1 RIMS2 rab3b L0017845.1 optn chm asic4b slc45a1 slc18a3a atp6v1h slc25a39 cdh23 uqcrfs1 fth1b slc7a10a snupn slc9a6a atp5fa1 atp6v1d glra1 abca2 napba atp5pf rabgef1 ankhh atp6v0a1b slc4a8 rabgef1l ap3m2 abcg2d vps9d1 cox6a1 atp2b3b nnt atp6v1c1a slc25a23b synj1 pfah1b1b cacna2d4a grin1a mtx2 tmem30aa atp6v1e1b otoa si:ch211-51a6.2 mb gria3a grin2aa cx27.5 clcn4 kcn2d slc24a6a atp6v0cb hmgn3 si:ch211-39a7.1 gria3b chmp5a slc25a33 cngb1b ical hook1 atp6v1b2 atp2b3a grid1b atp2b4 vdac1 atp6v1f kcn2b atg4b ctp2 osbp2 dop1b vps26a svopa letm1 slc29a4 slc25a47a sv2a sv2ca sv2bb atp2a3 itpr3 atp9b micu1 atp2b2 arfgef1 syt7a napaa tomm7 GJD2 SLC03A1 atp5meb atp6v0d1 osbp19 sfxn4 atp5f1b gria2a cadpsb chrm3a abch1 get1 slc5a7a kcnq2a syt3 gabrb1 ppfia3 slc2a5 doc2a cacna2d3 esyt2b slc39a5 kcnma1a lrcc38b cox5aa sid:key-6b12.5 sid:key-15b23.3 cltcb snx17 vtg1 htr1aa sid:key-56f14.4 elmo1 smdt1b RYR2 gga3b sec22bb syn2b relch MCOLN3 kcnk9 SLC45A4 scn1bb pkd1l2a rph3ab gjd1a GRIK2 cox7b ocr1 tusc3 clstn1 adgrbl1b dmxl2 ndr2

GO:0051179 localization	<p>stx1b flot1a stxbp1a stxbp5a sidkey-28b4.8 dab1b rnd1b epn3b ywhah slc25a6 kcns3a cacna1ab fgf20a nsfa amph fth1b kcnab1a klc1a dnmla abcb11a MFN1 slc2a3a gabra4 lin7a sept5a picalmb SYT2 rab3c ntng1a grip1 slc24a4a snap91b scamp3 sgtb htr2c1 slc6a9 cplx2l slc1a1 ap1b1 slmapb necap1 tns1b cacna1ba ucpl1 sh3gl2a arhgap1 dpp6b sidkey-43k4.5 tmem230a fgf12a stxbp6l htatip2 atp2a2a timm17a rab41 rnd1a sybl1 vamp1 rab6bb syt6b scg5 cacng2a cd36 sinhcac kfnd2 pacsin1a atp1b2b rab6ba atp6v1aa kcnip1b ap2b1 atp11c tomm40l scamp1 XKR7 kif1b hspa8b wipi2 cacna1aa actr10 slc36a4 kcnab1b sst1.1 sidkey-49n23.1 fgf14 lgi3 pex10 atp8b3 atp1b3b dnajc5aa NKAIN4 napgb ank2b stx12l csnk1e cax1 cita syn2a slc7a10b kcncl1a glrba gabrg2 mff plin1 cxcl12b dtnbp1b prelid3a rab18a chrna6 hsp70l kcncl3a kcncl3a gdi1 kitb rab1bb carmil2 chrna2b kcncl2 arl4ca ano3 rab1ba ackr3b slc13a4 atpv0e2 arfip2a kcnj19a gabrd slc32a1 soat2 dab1a sybu scn4bb syn1 stim1a slc20a2 dyncl1l trpc1 ttc7b rab40c C3H17orf75 myo5aa kif1aa kcnh4b kcnab2b cacnb4b kcnj3b si:ch211-233a24.2 snapin hecw2a mapk8ip3 kcnj19b kcnh7 kcnal1a cacng7a shisa7b SLC24A2 vps41 slc6a5 astn1 si:ch211-261n11.7 napbb nbeaa vapb si:ch211-113g11.6 trpc5a arf3a cacng7b cacng8b gabra5 ywhag2 abca5 kif5ba ABCA7 KCNK12 ndufs7 rims1a kcncl1 ccl44 adgrb1a atp6v1ab slc9a7 atp1b1b tnksa slc13a5a micu3a tns1a nlgn2b gabrb2a zgc:194578 nectin1b slc05a1a ntng2b kif3a sema4gb wnk4b gphna nexmifa si:dkkey-6b12.5 rnf207a mpc1 gabrz smdt1a arfgap3 sgip1a trpc3 elmo1 snap91a pclob scn4ba gabrb4 atp1b2a nbeal1 bnip3 CABZ01092282.1 slc8a2b gphnb CABZ01095001.1 sgip1b rims2a arl1 sytl2 slc25a12 trak2 mapre3b sept15 nsg2 gramd2aa atp1a3b cplx2 LO017711.1 RIMS2 rab3b LO017845.1 optn anks1b chm asic4b slc45a1 slc18a3a atp6v1h slc25a39 cdh23 uqcrfs1 slc7a10a snupn slc9a6a atp5fa1 atp6v1d glra1 abca2 napba atp5pf rabgef1 ankhb atp6v0a1b slc4a8 rabgef1l ap3m2 abcg2d vps9d1 cox6a1 atp2b3b nnt atp6v1c1a slc25a23b synj1 bsc12l pafah1b1b cacna2d4a oxsr1b grin1a mtx2 tmem30aa atp6v1e1b ofota si:ch211-51a6.2 mb gria3a grin2aa cx27.5 clcn4 kcneg2 slc24a6a atp6v0cb hmgn3 bsc12 si:ch211-39a7.1 gria3b chmp5a slc25a33 cngb1b ica1 hook1 atp6v1b2 atp2b3a grid1b atp2b4 vdac1 atp6v1f kcneg4b atg4b ctp osbp2 dop1b vps26a svopa letm1 cntnap2a slc29a4 slc25a47a sv2a sv2ca sv2bb atp2a3 itpr3 atp9b micu1 atp2b2 arfgef1 elmo2 syt7a napaa tomm7 GJD2 SLC03A1 atp5meb atp6v0d1 osbp19 sfxn4 atp5f1b gria2a cadpsb chrn3a abch1 get1 ank1b slc5a7a kcnq2a syt3 gabrb1 ppfia3 slc2a5 doc2a cacna2d3 esyt2b agrn slc39a5 kcnma1a si:dkkey-69c1.7 lrcc38b cox5aa si:dkkey-15b23.3 cltcb snx17 vtg1 htr1aa si:dkkey-56f14.4 smdt1b RYR2 gga3b sec22bb syn2b relch zgc:114120 MCOLN3 kcnk9 SLC45A4 scn1bb pkd1l2a rph3ab gjd1a GRIK2 cox7b robo1 oclr tusc3 nrg1 meis3 pygmb clstn1 tdgf1 akap12b git2a tmie adgrb1b megf8 dmxl2 pcdh10a pam ndr2</p>
GO:0006811 ion transport	<p>si:dkkey-28b4.8 slc25a6 kcns3a cacna1ab kcnab1a abcb11a slc2a3a gabra4 SYT2 slc24a4a htr2c1 slc6a9 slc1a1 slmapb cacna1ba dpp6b sidkey-43k4.5 fgf12a atp2a2a syt6b cacng2a kfnd2 atp1b2b atp6v1aa kcnip1b cacna1aa slc36a4 kcnab1b fgf14 atp1b3b NKAIN4 cax1 slc7a10b kcncl1a glrba gabrg2 chrna6 kcncl3a kcncl3a chrna2b kcncl2 ano3 slc13a4 kcnj19a gabrd scn4bb stim1a slc20a2 trpc1 kcnh4b kcnab2b cacnb4b kcnj3b hecw2a kcnj19b kcnh7 kcnal1a cacng7a shisa7b SLC24A2 slc6a5 trpc5a cacng7b cacng8b gabra5 KCNK12 ndufs7 kfnd1 atp6v1ab slc9a7 atp1b1b slc13a5a micu3a gabrb2a slc05a1a wnk4b rnf207a mpc1 gabrz smdt1a trpc3 scn4ba gabrb4 atp1b2a slc8a2b sytl2 slc25a12 gramd2aa atp1a3b asic4b atp6v1h uqcrfs1 fth1b slc9a6a atp5fa1 atp6v1d glra1 atp5pf ankhb atp6v0a1b slc4a8 cox6a1 ucpl1 atp2b3b nnt atp6v1c1a cacna2d4a grin1a atp6v1e1b gria3a grin2aa clcn4 kcneg2 atp6v0cb si:ch211-39a7.1 gria3b cngb1b atp6v1b2 atp2b3a grid1b atp2b4 vdac1 atp6v1f kcneg4b letm1 atpv0e2 slc32a1 atp2a3 itpr3 micu1 atp2b2 SLC03A1 atp5meb atp6v0d1 sfxn4 atp5f1b gria2a kcnq2a gabrb1 cacna2d3 slc39a5 kcnma1a lrcc38b cox5aa si:dkkey-15b23.3 si:dkkey-56f14.4 smdt1b RYR2 MCOLN3 kcnk9 scn1bb pkd1l2a GRIK2 cox7b tusc3 ap1b1 dmxl2</p>

表 2C Medaka 0 wpi < 2 wpi

Pathway	Genes
GO:0032502 developmental proc.	LOC101160907 LOC101168366 ABHD2 myl7 sema3b sema3g VAT1 LOC101163896 LOC101166779 spi1 LOC101171500 lamc1 LOC101158216 LOC101175611 serpine1 sparc LOC101170341 mmp14 anxa1 LOC101167657 LOC111948643 serpinf1 LOC101162944 LOC101165637 LOC101166872 tpp1 stmn4 LOC101164480 LOC101164651 LOC101167032 LOC105356063 dsp lck fstl1 pdlim4 LOC101159792 LOC101174071 flt3 LOC101155733 LOC100144364 LOC101163549 LOC100301586 manf LOC101156536 LOC110013551 foxj1 FHL1 LOC101170433 kif11 LOC101156166 LOC101171095 yap1 abhd12 LOC101162943 dab2 leo1 LOC101159866 LOC101161011 LOC101159085 top2a pkn2 wdr66 lpar3 LOC101160416 LOC101165641 dkk2 LOC101156096 LTBP3 LOC101171699 sfrp5 stimate LOC101161493 asah1 anln serinc5 LOC101167426 tlb3 msna wt1 LOC101158631 itga9 LOC101162553 col6a1 LOC101173293 LOC101166010 LOC101172972 zyx LOC101163284 caprin2 LOC101157969 LOC101158682 LOC100125526 LOC101165068 LOC101156783 smoc2 ccnb1 mmp2 LOC101168409 LOC101163147 grn LOC101175556 prox1a dcn cd2ap gnptab LOC101164922 srgap2 znf148 btbd7 ccm2 LOC101174259 LOC101169105 tpm4 ece1 LOC101165934 snx7 cfr sec13 FN1 LOC101164062 SOCS3 slc30a8 xbp1 fosl2 id3 LOC101157330 LOC105354597 cdc42se1 matn4 LOC105358736 LOC110017318 pxn ndp hapln1 pkdcc
GO:0048856 anatomical structure development	LOC101160907 LOC101168366 ABHD2 myl7 sema3b sema3g VAT1 LOC101171500 lamc1 LOC101158216 LOC101175611 serpine1 sparc LOC101170341 mmp14 anxa1 LOC101167657 LOC111948643 serpinf1 LOC101162944 LOC101165637 LOC101166872 tpp1 stmn4 LOC101164480 LOC101164651 LOC101167032 LOC105356063 dsp lck pdlim4 LOC101159792 LOC101174071 flt3 LOC100144364 LOC101163549 LOC100301586 manf LOC101156536 LOC110013551 foxj1 FHL1 LOC101170433 kif11 LOC101156166 LOC101171095 yap1 abhd12 LOC101162943 dab2 leo1 LOC101159866 LOC101161011 LOC101159085 top2a pkn2 LOC101166779 wdr66 lpar3 spi1 LOC101160416 LOC101165641 dkk2 LOC101156096 LTBP3 LOC101171699 sfrp5 stimate LOC101161493 asah1 anln serinc5 LOC101167426 tlb3 msna wt1 LOC101158631 itga9 LOC101162553 col6a1 LOC101173293 LOC101166010 LOC101172972 zyx caprin2 LOC101157969 LOC101158682 LOC100125526 LOC101165068 LOC101156783 smoc2 ccnb1 mmp2 LOC101163147 grn LOC101175556 prox1a dcn cd2ap gnptab LOC101164922 srgap2 znf148 btbd7 ccm2 LOC101174259 LOC101169105 tpm4 ece1 fstl1 LOC101165934 snx7 cfr sec13 FN1 LOC101164062 SOCS3 slc30a8 xbp1 fosl2 id3 LOC101157330 LOC105354597 cdc42se1 matn4 LOC105358736 LOC110017318 pxn ndp hapln1 pkdcc
GO:0048513 animal organ development	LOC101160907 LOC101168366 myl7 sema3b sema3g lamc1 LOC101158216 anxa1 LOC111948643 LOC101166872 LOC101164480 LOC105356063 dsp lck pdlim4 flt3 LOC100144364 LOC101156536 FHL1 LOC101170433 yap1 abhd12 LOC101162943 leo1 LOC101159866 LOC101159085 top2a pkn2 LOC101166779 wdr66 lpar3 spi1 LOC101165641 dkk2 LOC101156096 LTBP3 LOC101171699 sfrp5 stimate anln LOC101167426 tlb3 wt1 LOC101158631 sparc LOC101162553 col6a1 LOC101166010 zyx mmp14 LOC101158682 LOC100125526 LOC101165068 LOC101156783 smoc2 LOC101175556 dcn cd2ap gnptab LOC101164922 znf148 ccm2 LOC101174259 tpm4 ece1 fstl1 snx7 cfr sec13 FN1 SOCS3 slc30a8 xbp1 fosl2 LOC101157330 LOC105354597 matn4 LOC105358736 LOC110017318 pxn ndp pkdcc
GO:0007010 cytoskeleton organization	LOC101159909 LOC101168366 LOC101168952 LOC101170433 kif11 LOC101162943 smtnl1 cnn2 LOC101163655 incenp plek capg LOC101158216 LOC101157161 LOC101167426 cass4 eml3 anxa1 LOC101157969 LOC101162944 LOC101167047 cd2ap LOC101155648 stmn4 LOC105354455 LOC101166789 LOC101167032 tpm4 dsp myo1b LOC101165934 pdlim4 LOC101159792 LOC101174071 LOC101157330 LOC101163549 cenph drc1 LOC101173301 myl7 RASSF1 diaph3 LOC101159773 LOC101166779 LOC100125526 LOC101162720 mapre1 LOC101163390 LOC105358736
GO:0048731 system development	myl7 sema3b sema3g LOC101171500 LOC101158216 serpine1 LOC101170341 mmp14 anxa1 LOC111948643 serpinf1 LOC101162944 LOC101165637 LOC101166872 tpp1 stmn4 LOC101164480 LOC101164651 LOC105356063 lck pdlim4 LOC101174071 flt3 LOC100144364 LOC101163549 LOC100301586 manf LOC101156536 foxj1 LOC101170433 kif11 LOC101156166 yap1 abhd12 dab2 leo1 LOC101159085 pkn2 LOC101166779 wdr66 lpar3 spi1 LOC101160416 LOC101165641 dkk2 LOC101156096 LOC101171699 lamc1 sfrp5 stimate LOC101161493 asah1 anln serinc5 LOC101167426 tlb3 msna wt1 LOC101158631 itga9 sparc LOC101162553 LOC100125526 LOC101156783 smoc2 mmp2 LOC101163147 grn LOC101175556 prox1a dcn cd2ap gnptab LOC101164922 srgap2 znf148 ccm2 LOC101169105 tpm4 ece1 LOC101165934 snx7 cfr sec13 FN1 LOC101164062 SOCS3 slc30a8 xbp1 fosl2 id3 LOC101157330 LOC105354597 LOC105358736 LOC110017318 ndp pkdcc
GO:0016477 cell migration	LOC101160907 LOC101154978 LOC101170433 sema3b sema3g itgb6 LOC101155057 cmklr1 lamc1 cass4 LOC101172972 anxa1 LOC101162944 LOC101166872 cd2ap srgap2 LOC105356063 LOC101169287 LOC101163549 LOC100301586 LOC105357410 LOC101166779 LOC101171699 wt1 mmp14 LOC101165068 LOC101155297 mmp2 inpp5d LOC101165934 cfr FN1 LOC110017318 LOC101158504
GO:0097435 supramolecular fiber organization	LOC101159909 LOC101168366 LOC101170433 LOC101162943 smtnl1 cnn2 plek capg LOC101158216 LOC101157161 LOC101167426 cass4 LOC101158682 LOC101162944 LOC101167047 cd2ap LOC101155648 stmn4 LOC101164651 LOC101167032 tpm4 myo1b LOC101165934 LOC101159792 LOC101174071 LOC101157330 LOC101163549 myl7 LOC101159773 LOC100125526 LOC101162720 LOC105358736
GO:0030036 actin cytoskeleton organization	LOC101159909 LOC101170433 LOC101162943 smtnl1 cnn2 plek capg LOC101158216 LOC101157161 LOC101167426 cass4 anxa1 LOC101162944 LOC101167047 cd2ap LOC101155648 LOC101167032 tpm4 myo1b LOC101165934 pdlim4 LOC101159792 LOC101157330 LOC101163549 LOC101173301 myl7 diaph3 LOC101159773 LOC101166779 LOC100125526 LOC101162720 LOC105358736
GO:0009653 anatomical structure morphogenesis	LOC101160907 sema3b sema3g VAT1 lamc1 LOC101175611 serpine1 LOC101170341 anxa1 LOC101167657 serpinf1 LOC101162944 LOC101166872 LOC101164651 LOC101167032 LOC105356063 LOC101159792 LOC101163549 LOC100301586 LOC110013551 foxj1 myl7 LOC101170433 kif11 LOC101156166 yap1 abhd12 dab2 leo1 LOC101159085 pkn2 LOC101166779 LOC101160416 LOC101171699 sfrp5 LOC101161493 asah1 msna LOC101158631 itga9 sparc LOC101162553 LOC101172972 mmp14 LOC100125526 LOC101165068 LOC101156783 smoc2 mmp2 LOC101163147 grn LOC101175556 dcn gnptab btbd7 ccm2 LOC101169105 tpm4 ece1 LOC101165934 sec13 FN1 SOCS3 cdc42se1 LOC105358736 LOC110017318 pkdcc
GO:0048870 cell motility	LOC101160907 LOC101154978 LOC101170433 sema3b sema3g itgb6 LOC101155057 cmklr1 lamc1 cass4 LOC101172972 anxa1 LOC101162944 LOC101166872 cd2ap srgap2 LOC105356063 LOC101169287 LOC101163549 drc1 LOC100301586 LOC105357410 LOC101166779 LOC101171699 wt1 mmp14 LOC101165068 LOC101155297 mmp2 inpp5d LOC101165934 cfr FN1 LOC110017318 LOC101158504

表 2D Medaka 0 wpi > 2 wpi

Pathway	Genes
GO:0007268 chemical synaptic transmission	grm2 LOC101158195 slc6a5 lrcc4c RIMS2 LOC101163178 LOC101164657 LOC101173326 GABRG3 LOC101163260 LOC101157206 sncb LOC101155076 drd3 LOC101158288 NAPB LOC101174993 LOC101163826 LOC101163425 LOC101168846 htr3b LOC110013827 gabra1 LOC101163709 LOC101159448 LOC101165153 syn2 slc6a9
GO:0098916 anterograde trans-synaptic signaling	grm2 LOC101158195 slc6a5 lrcc4c RIMS2 LOC101163178 LOC101164657 LOC101173326 GABRG3 LOC101163260 LOC101157206 sncb LOC101155076 drd3 LOC101158288 NAPB LOC101174993 LOC101163826 LOC101163425 LOC101168846 htr3b LOC110013827 gabra1 LOC101163709 LOC101159448 LOC101165153 syn2 slc6a9
GO:0099537 trans-synaptic signaling	grm2 LOC101158195 slc6a5 lrcc4c RIMS2 LOC101163178 LOC101164657 LOC101173326 GABRG3 LOC101163260 LOC101157206 sncb LOC101155076 drd3 LOC101158288 NAPB LOC101174993 LOC101163826 LOC101163425 LOC101168846 htr3b LOC110013827 gabra1 LOC101163709 LOC101159448 LOC101165153 syn2 slc6a9
GO:0055085 transmembrane transport	LOC101158195 slc6a5 LOC101161541 knj10 LOC101163178 LOC101161480 LOC101163850 LOC101174955 GABRG3 SLC28A3 TRPC6 LOC101163260 LOC100049419 asic1 LOC101172193 slc2a11b atp1b2 slc46a1 LOC101163031 LOC101155076 LOC101159760 drd3 LOC101158288 LOC101174592 slc24a4 LOC101159200 LOC101159291 LOC101173339 LOC101168846 htr3b stac LOC101173012 gabra1 LOC101163709 slc19a2 LOC101159448 LOC101164731 LOC101167596 ano1 LOC101164731 LOC101167596 ano1 CACNA1D LOC101165153 LOC101173326 atp2b2 LOC101165411 LOC101154797 slc22a31 LOC101174692 LOC101167147 slc6a9 LOC101159423 LOC101167136 LOC101166040 snap25 LOC101163458 abcg1 SLC35D3 LOC101164443 SLC45A4 LOC101164844 LOC105355370 micu3
GO:0099536 synaptic signaling	grm2 LOC101158195 slc6a5 lrcc4c RIMS2 LOC101163178 LOC101164657 LOC101173326 GABRG3 LOC101163260 LOC101157206 sncb LOC101155076 drd3 LOC101158288 NAPB LOC101174993 LOC101163826 LOC101163425 LOC101168846 htr3b LOC110013827 gabra1 LOC101163709 LOC101159448 LOC101165153 syn2 slc6a9
GO:0006811 ion transport	LOC101158195 slc6a5 LOC101161541 knj10 LOC101163178 LOC101161480 LOC101174955 GABRG3 TRPC6 LOC101163260 LOC100049419 asic1 LOC101157206 atp1b2 LOC101155076 LOC101159760 drd3 LOC101158288 LOC101174592 slc24a4 LOC101159200 LOC101159291 LOC101173339 LOC101168846 htr3b stac LOC101166040 LOC100144362 LOC101173012 gabra1 LOC101163709 slc19a2 LOC101159448 LOC101164731 LOC101167596 ano1 LOC101155942 CACNA1D LOC101165153 LOC101173326 atp2b2 atp1b3 LOC101155346 LOC101174692 LOC101172193 grik4 slc6a9 LOC101159423 LOC101167136 snap25 LOC101172781 LOC101163458 SLC35D3 LOC101174129 micu3
GO:0034220 ion transmembrane transport	LOC101158195 slc6a5 LOC101161541 knj10 LOC101163178 LOC101161480 LOC101174955 GABRG3 TRPC6 LOC101163260 LOC100049419 asic1 atp1b2 LOC101155076 LOC101159760 drd3 LOC101158288 LOC101174592 slc24a4 LOC101159200 LOC101159291 LOC101173339 LOC101168846 htr3b stac LOC101173012 gabra1 LOC101163709 LOC101159448 LOC101164731 LOC101167596 ano1 CACNA1D LOC101165153 LOC101173326 atp2b2 LOC101174692 LOC101172193 LOC101159423 LOC101167136 snap25 LOC101172781 LOC101163458 SLC35D3 slc19a2 micu3
GO:0065008 reg. of biological quality	HK1 LOC101158195 LOC101161541 crhbp RIMS2 SYNDIG1 LOC101163178 LOC101174955 GABRG3 SLITRK1 atp2b2 TRPC6 LOC101163260 LOC101155346 LOC100049419 LOC101157206 PLXNA2 atp1b2 LOC105355627 LOC101155076 LOC101159760 drd3 LOC101158288 NAPB angptl3 TANC2 slc24a4 LOC101174197 LOC101174993 LOC101163826 LOC101159291 LOC101163425 LOC101168846 htr3b LOC101163641 chga abcg1 LOC110013827 zfpml1 gabra1 LOC101168027 LOC101163709 LOC101159448 LOC101164731 LOC101164629 ano1 LOC101159125 baiap2l1 LOC101165153 LOC101173326 syn2 mybpc3 fis1 slitrk2 LOC101168897 ache dicer1 palm slc6a9 hmgcs1 fech siat8c1 LOC100144362 LOC101155899 LOC101172157 adora2a LOC101172686
GO:0006810 transport	LOC101158195 slc6a5 LOC101161541 LOC101156840 crhbp RIMS2 knj10 SYNDIG1 LOC101163178 LOC101161480 napg LOC101163850 LOC101174955 GABRG3 SLC28A3 TRPC6 LOC101163260 LOC100049419 asic1 LOC101157206 LOC101172193 sncb LOC101158350 slc2a11b atp1b2 slc46a1 klc2 LOC101163031 LOC101155076 LOC101159760 drd3 LOC101158288 NAPB LOC101174592 slc24a4 LOC101171037 mia3 LOC101174197 nrp2 LOC101173249 LOC101159200 LOC101163826 LOC101159291 pacsin1 LOC101173339 LOC101163425 LOC101168846 htr3b stac LOC101166040 LOC101169654 LOC101156359 LOC100144362 LOC101172781 chga NSF abcg1 LOC110013827 LOC101173012 LOC101164343 mb gabra1 LOC101163709 NSG1 slc19a2 LOC101159448 LOC101164731 tmem50a LOC101167596 ano1 LOC101155942 PITPNM2 CACNA1D LOC101165153 LOC101173326 syn2 atp2b2 atp1b3 LOC101165411 LOC101154797 slc22a31 LOC101155346 LOC101174692 grik4 osbp13 LOC101165061 LOC101167147 slc6a9 LOC101159423 LOC101167136 stxbp5 slc25a14 snap25 LOC101163458 LOC101155322 SLC35D3 LOC101164443 eif5a SLC45A4 LOC101174997 LOC101164844 LOC105355370 LOC101174129 micu3
GO:0051234 establishment of localization	LOC101158195 slc6a5 LOC101161541 LOC101156840 crhbp RIMS2 knj10 SYNDIG1 LOC101163178 LOC101161480 napg LOC101163850 LOC101174955 GABRG3 SLC28A3 TRPC6 LOC101163260 LOC100049419 asic1 LOC101157206 LOC101172193 sncb LOC101158350 slc2a11b atp1b2 slc46a1 klc2 LOC101163031 LOC101155076 LOC101159760 drd3 LOC101158288 NAPB LOC101174592 slc24a4 LOC101171037 mia3 LOC101174197 nrp2 LOC101173249 LOC101159200 LOC101163826 LOC101159291 pacsin1 LOC101173339 LOC101163425 LOC101168846 htr3b stac LOC101166040 LOC101169654 LOC101156359 LOC100144362 LOC101172781 chga NSF abcg1 LOC110013827 LOC101173012 LOC101164343 mb gabra1 LOC101163709 NSG1 slc19a2 LOC101159448 LOC101164731 tmem50a LOC101167596 ano1 LOC101155942 PITPNM2 CACNA1D LOC101165153 LOC101173326 syn2 atp2b2 atp1b3 LOC101165411 LOC101154797 slc22a31 LOC101155346 LOC101174692 grik4 osbp13 LOC101165061 LOC101167147 slc6a9 LOC101159423 LOC101167136 stxbp5 slc25a14 snap25 LOC101163458 LOC101155322 SLC35D3 LOC101164443 eif5a SLC45A4 LOC101174997 LOC101164844 LOC105355370 LOC101174129 micu3

4. 参考文献

1. Fakhoury, M. Spinal cord injury: overview of experimental approaches used to restore locomotor activity. *Rev Neurosci* **26**, 397–405 (2015).
2. Cigliola, V., Becker, C. J. & Poss, K. D. Building bridges, not walls: Spinal cord regeneration in zebrafish. *DMM Disease Models and Mechanisms* vol. 13 Preprint at <https://doi.org/10.1242/dmm.044131> (2020).
3. Perez, J. C., Gerber, Y. N. & Perrin, F. E. Dynamic Diversity of Glial Response Among Species in Spinal Cord Injury. *Frontiers in Aging Neuroscience* vol. 13 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.769548> (2021).
4. Becker, C. G. & Becker, T. Neuronal regeneration from ependymo-radial glial cells: cook, little pot, cook! *Dev Cell* **32**, 516–27 (2015).
5. Goldshmit, Y. *et al.* Fgf-dependent glial cell bridges facilitate spinal cord regeneration in Zebrafish. *Journal of Neuroscience* **32**, 7477–7492 (2012).
6. Becker, C. G. *et al.* L1.1 is involved in spinal cord regeneration in adult zebrafish. *Journal of Neuroscience* **24**, 7837–7842 (2004).
7. Chowdhury, K., Lin, S. & Lai, S. L. Comparative Study in Zebrafish and Medaka Unravels the Mechanisms of Tissue Regeneration. *Frontiers in Ecology and Evolution* vol. 10 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.783818> (2022).
8. Ito, K. *et al.* Differential Reparative Phenotypes Between Zebrafish and Medaka After Cardiac Injury. *Developmental Dynamics* **243**, 1106–1115 (2014).
9. Lai, S.-L. *et al.* Reciprocal analyses in zebrafish and medaka reveal that harnessing the immune response promotes cardiac regeneration. (2017) doi:10.7554/eLife.25605.001.
10. Poss, K. D., Wilson, L. G. & Keating, M. T. Heart regeneration in zebrafish. *Science* **298**, 2188–90 (2002).
11. Lust, K. & Wittbrodt, J. Activating the regenerative potential of Müller glia cells in a regeneration-deficient retina. *Elife* **7**, (2018).
12. Sherpa, T. *et al.* Ganglion cell regeneration following whole-retina destruction in zebrafish. *Dev Neurobiol* **68**, 166–181 (2008).
13. Mokalled, M. H. *et al.* Injury-induced ctgfa directs glial bridging and spinal cord regeneration in zebrafish. *Science* **354**, 630–634 (2016).
14. Mwaffo, V., Butail, S. & Porfiri, M. In-silico experiments of zebrafish behaviour: Modeling swimming in three dimensions. *Sci Rep* **7**, (2017).
15. Audira, G. *et al.* A simple setup to perform 3D locomotion tracking in zebrafish by using a single camera. *Inventions* **3**, (2018).
16. Becker, T., Wullmann, M. F., Becker, C. G., Bernhardt, R. R. & Schachner, M. Axonal regrowth after spinal cord transection in adult zebrafish. *J Comp Neurol* **377**, 577–95 (1997).
17. Susaki, E. A. *et al.* Advanced CUBIC protocols for whole-brain and whole-body clearing and imaging. *Nat Protoc* **10**, 1709–1727 (2015).
18. Martin, F. J. *et al.* Ensembl 2023. *Nucleic Acids Res* **51**, D933–D941 (2023).
19. Anders, S., Pyl, P. T. & Huber, W. HTSeq-A Python framework to work with high-throughput sequencing

- data. *Bioinformatics* **31**, 166–169 (2015).
20. Kim, D., Langmead, B. & Salzberg, S. L. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nat Methods* **12**, 357–60 (2015).
 21. Love, M. I., Huber, W. & Anders, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* **15**, (2014).
 22. Ge, S. X., Jung, D. & Yao, R. ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. *Bioinformatics* **36**, 2628–2629 (2020).
 23. Tsujioka, H. & Yamashita, T. Comparison of gene expression profile of the spinal cord of sprouting-capable neonatal and sprouting-incapable adult mice. *BMC Genomics* **20**, (2019).
 24. Huang, C. X. *et al.* An injury-induced serotonergic neuron subpopulation contributes to axon regrowth and function restoration after spinal cord injury in zebrafish. *Nat Commun* **12**, (2021).
 25. Tsujioka, H. & Yamashita, T. Neural circuit repair after central nervous system injury. *International immunology* vol. 33 301–309 Preprint at <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa077> (2021).
 26. Ma, L., Shen, Y. Q., Khatri, H. P. & Schachner, M. The asparaginyl endopeptidase legumain is essential for functional recovery after spinal cord injury in adult zebrafish. *PLoS One* **9**, (2014).
 27. Tsata, V. *et al.* A switch in pdgfrb⁺ cell-derived ECM composition prevents inhibitory scarring and promotes axon regeneration in the zebrafish spinal cord. *Dev Cell* **56**, 509–524.e9 (2021).
 28. Udvardi, A. J., Köster, R. W. & Skene, J. H. GAP-43 promoter elements in transgenic zebrafish reveal a difference in signals for axon growth during CNS development and regeneration. *Development* **128**, 1175–82 (2001).
 29. Chung, D., Shum, A. & Caraveo, G. GAP-43 and BASP1 in Axon Regeneration: Implications for the Treatment of Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* vol. 8 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.567537> (2020).
 30. Doster, S. K., Lozano, A. M., Aguayo, A. J. & Willard, M. B. Expression of the growth-associated protein GAP-43 in adult rat retinal ganglion cells following axon injury. *Neuron* **6**, 635–47 (1991).
 31. Aigner, L. & Caroni, P. Absence of persistent spreading, branching, and adhesion in GAP-43-depleted growth cones. *J Cell Biol* **128**, 647–60 (1995).
 32. Scita, G., Confalonieri, S., Lappalainen, P. & Suetsugu, S. IRSp53: crossing the road of membrane and actin dynamics in the formation of membrane protrusions. *Trends Cell Biol* **18**, 52–60 (2008).
 33. Lenkowski, J. R. *et al.* Retinal regeneration in adult zebrafish requires regulation of TGFβ signaling. *Glia* **61**, 1687–97 (2013).
 34. Mutti, V., Fiorentini, C., Missale, C. & Bono, F. Dopamine D3 receptor heteromerization: Implications for neuroplasticity and neuroprotection. *Biomolecules* vol. 10 1–15 Preprint at <https://doi.org/10.3390/biom10071016> (2020).
 35. Reimer, M. M. *et al.* Dopamine from the Brain Promotes Spinal Motor Neuron Generation during Development and Adult Regeneration. *Dev Cell* **25**, 478–491 (2013).
 36. Nakajima, S. *et al.* The potential role of dopamine D3 receptor neurotransmission in cognition. *European Neuropsychopharmacology* vol. 23 799–813 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.05.006> (2013).

37. Marcellino, D. *et al.* Identification of dopamine D1-D3 receptor heteromers: Indications for a role of synergistic D1-D3 receptor interactions in the striatum. *Journal of Biological Chemistry* **283**, 26016–26025 (2008).
38. Sargent, D. *et al.* Investigating the neuroprotective effect of AAV-mediated β -synuclein overexpression in a transgenic model of synucleinopathy. *Sci Rep* **8**, (2018).
39. Yang, X., Williams, J. K., Yan, R., Mouradian, M. M. & Baum, J. Increased Dynamics of α -Synuclein Fibrils by β -Synuclein Leads to Reduced Seeding and Cytotoxicity. *Sci Rep* **9**, (2019).
40. Strand, N. S. *et al.* Wnt/ β -catenin signaling promotes regeneration after adult zebrafish spinal cord injury. *Biochem Biophys Res Commun* **477**, 952–956 (2016).
41. González-Fernández, C., Fernández-Martos, C. M., Shields, S. D., Arenas, E. & Javier Rodríguez, F. Wnts are expressed in the spinal cord of adult mice and are differentially induced after injury. *J Neurotrauma* **31**, 565–581 (2014).
42. Devotta, A., Hong, C.-S. & Saint-Jeannet, J.-P. Dkk2 promotes neural crest specification by activating Wnt/ β -catenin signaling in a GSK3 β independent manner. *Elife* **7**, (2018).
43. Schmitt, A. M. *et al.* Wnt-Ryk signalling mediates medial-lateral retinotectal topographic mapping. *Nature* **439**, 31–7 (2006).

5. 謝辞

本稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲賜りました大阪大学大学院医学系研究科分子神経科学研究室の山下俊英教授、並びに直接ご指導賜りました辻岡洋准教授に心から謝意を表します。

また、魚の飼育をしていただいた大阪大学大学院医学系研究科附属最先端医療イノベーションセンターに深く感謝いたします。

また、RNA シーケンス解析にあたりライブラリ構築と配列決定にご協力いただきました大阪大学微生物病研究所の元岡大祐先生ならびに奥崎大介先生に心から感謝いたします。

また、本研究に対しご助言を賜りました大阪大学大学院生命機能研究科心生物学研究室内の八木健教授、医学系研究科統合生理学教室の岡村康司教授、ならびに医学系研究科細胞生物学研究室内の原田彰宏教授に重ねて御礼申し上げます。

そして、研究における技術的指導だけでなく、諸事にわたり御指導、御協力を頂きました分子神経科学教室内の諸先生方、諸先輩方に深く感謝致します。

最後になりましたが、大学院生生活を支えてくれました、家族と友人に心より感謝申し上げます。

6. 業績

【学術論文】

1. Aoki, S., Hori, M., Zhang, H., Tsujioka, H., Yamashita, T. : Comparison of spinal cord regeneration capacity in zebrafish and medaka 投稿中

【学会発表】（○は発表者を示す）

1. Aoki, S., Hori, M., ○Tsujioka, H. and Yamashita, T. (2023), Comparison of spinal cord regeneration between zebrafish and medaka. International Society for Regenerative Biology Inaugural meeting 2023, Poster, Vienna, (2023.9.3)
2. Hori, M., Aoki, S., ○Tsujioka, H. and Yamashita, T. (2023), Comparison of spinal cord regeneration between zebrafish and medaka. 第 56 回日本発生生物学会、ポスター、宮城、(2023.7.23)
3. ○Tsujioka, H., Aoki, S., Hori, M., Zhang, H. and Yamashita, T. (2024), Comparison of gene expression profile between zebrafish and medaka after spinal cord injury. 日本発生生物学会第 57 回大会、口演、京都、(2024.6.20)
4. ○Zhang, H., Aoki, S., Hori, M., Tsujioka, H. and Yamashita, T. (2024), Comparison of spinal cord regeneration capacity in zebrafish and medaka. 18th International Zebrafish Conference、ポスター、京都、(2024.8.20)