

基礎生物学研究所は、平成16年4月1日から国立大学法人法による大学共同利用機関法人自然科学研究機構が設置する大学共同利用機関として、新たに発足しました。

自然科学研究機構は、省令に明記された5つの大学共同利用機関（国立天文台、核融合科学研究所、基礎生物学研究所、生理学研究所、分子科学研究所）によって構成されています。

四半世紀の歴史を持つ、岡崎国立共同研究機構の消滅は残念なことですが、しかし3研究所には切っても切れない岡崎のキャンパスがあります。共通研究施設もありますし、独立に運営すべき事務と、共通に運営することによって効率が上がり節約になる事務内容があります。そして、何より今後は新しい自然科学の創成を目指した連携による課題発掘があります。これらを今から時間をかけて作っていくことになりました。

法人化後も、人件費を始め研究遂行に必要な資金は、すべて国から支出されますが、法人になり、非公務員になったことから、その使い方に自由度が増したとされています。他方、法人は、6年間の中期目標を文科大臣から定められ、その実現に向けての中期計画および年度計画の提出を義務づけられており、大学評価委員会による評価に基づく資源配分が行われます。当然のことですが、この目標と計画に沿って制度改革を行わなければなりません。

しかし、1年を経過して様々な問題が出てきました。それは、あまりに準備期間が短かったための混乱に起因することがほとんどですが、国によって守られてきた公務員の枠の意識からなかなか脱却できないことも原因と思われます。

自然科学研究機構の組織は、法人の長である自然科学研究機構長が強い権限を持つとともに、大きな責任を課せられた存在として、役員会（自然科学研究機構では、機構会議が実質的な最高意志決定機関）を構成する理事および副機構長とともに運営の責任を果たすことになりました。機構長は、重要事項について、経営協議会（過半数の機構外部委員で構成）および教育研究評議会（機構に属する大学共同利用機関と同一の研究分野からの委員で構成）に諮り、意見を聞くことになっています。

基礎生物学研究所では、創設後の分子生物学の大きな進展に伴い、研究所発足当時から続いてきた3つの研究系と形質統御実験施設とを見直し、すべての教授研究室を独立の部門としました。これまでの施設・センターは組織としてはそのまま残します。形質統御実験施設はプロジェクト研究を引き続き実行する4部門を兼務させることにします。

岡崎3機関の共通研究施設である統合バイオサイエンスセンターのうち、基礎生物学研究所と密接な関連をもつ3教授、1助教授部門については、基礎生物学研究所の一部として引き続き運営に協力します。またアイソトープ実験センターは、これも引き続き基礎生物学研究所が責任を持って運営に当たります。

当研究所の目的は、生物現象の営みの基礎となる諸現象について、それらの物質的な基礎とその作用機構を解明すること

とあります。しかし、一口に基礎的な生物現象といっても細胞の増殖や分化、生物の形の成り立ち、環境の変化や、外界の刺激に対する生物の反応など実に多様です。また、一つ一つの現象を追求するためには、それらにふさわしい実験システムや研究材料を選ばなければなりません。生物学に於いては、バイオリソースの選択と開発、その国際的な自由な交換が重要である理由です。さらに現代の科学に於いては、DNA・タンパク質のデータベースなどの大量情報の活用が必要になってきました。これらもバイオリソースとして国の施策に取り上げられてきましたので、生きたリソースを中心に、メダカ、アフリカツメガエル、マウスなどのモデルおよびシロイヌナズナ、アサガオ、イネなどのモデル植物をはじめとするバイオリソースの開発拠点を目指す計画です。

また現在は、基礎生物学にとって、新しい分野を開拓すべき時を迎えてます。ゲノムやポストゲノムと言われる要素還元型の方法論が次々と開発されていますが、生物現象の多くはこれらの要素の性質によって説明できるほど単純ではないことも明らかです。ゲノムやポストゲノムの発展をしっかりと理解し、見据えた上で、生物学の問題を発見し、それを課題に変えて研究を進めるのが私たちの役割です。この問題発見こそ、学問の最も重要なことですが、それには、それぞれの分野で優れた人たちが、解決しようとする問題を設定し、1か所に集まり、人間的な接触を通して徹底的に討論することが良い方法です。最近では、「複雑系」や「自己組織化」を課題に設定したサンタフェの会議が有名ですが、生物学にもそのようなときが来たと考えられます。基礎生物学研究所では、これを「生物学国際高等カンファレンス:Okazaki Biology Conference」という仕組みを作り実践することにしました。第1回として、一昨年度に「絶滅の生物学:Biology of Extinction」、昨年度は「地球圏微生物学:Terra Microbiology」を行い、新しい息吹を得ることができました。さらにこの方式での会議を継続的に推進して行く予定です。

基礎生物学研究所は、優秀な多くのスタッフがなお一層の努力を通して、自由闊達な雰囲気のなかで、学問を志す人々に開かれた研究環境を準備するつもりです。これからも生物学に新しい視点を加える発見や理解の方法の創造において、従来と変わることのない学問に対する自由な姿勢を堅持しながら、新しい生物学の樹立に貢献するつもりです。

基礎生物学研究所長 勝木元也



基礎生物学研究所は大学における学術研究の発展に資するため、基礎生物学に関する総合研究を行うことを目的として設置された。生物現象の基礎的事項の究明を目標とし、動物・植物を対象に、生物の基本単位である細胞の構造・働き・増殖・分化、器官の形成、外界からの刺激に対する生体の反応・制御等について総合的研究を行う。

## 組織の概要

### 設置形態

国立大学法人法(平成15年法律第112号)の制定により、大学共同利用機関法人自然科学研究機構が創設された。

### 運営組織

自然科学研究機構に、経営、教育研究及び機構運営に関する重要事項を審議するため経営協議会、教育研究評議会及び機構会議を置く。また、研究所に、研究教育職員の人事等研究所の運営に関する重要事項で、所長が必要と認めるものについて所長の諮問に応じる運営会議を置く。

### 事務組織

研究所の事務は、自然科学研究機構岡崎統合事務センターが処理する。

### 研究組織

21研究部門、10研究室、2研究施設及び1研究センターと技術課を置いている。全国の大学の教員その他の者で、研究所の目的たる研究と同一の研究に従事する者の利用に供するとともに共同研究を行う。



## 研究体制の概要

### 基礎生物学研究所における研究体制

昨年(平成16年4月)、大学共同利用機関が法人化されたのを機会に、基礎生物学研究所および統合バイオサイエンスセンターの基礎生物学関連研究領域における研究体制の大幅な見直しを行った。その目的は、基礎生物学研究所における基盤研究を一層充実させることにあり、そのため研究部門を再編成するとともに、新たに研究室を設けた。このうち「研究部門」については、従来どおりの教授のリーダーシップの下に基盤研究を推進する研究グループである。その名称については現在の基礎生物学分野を考慮しつつ、実際の研究活動を反映したものに改めた。一方、「研究室」は、施設やセンターなどに所属する個々の研究者から構成される比較的小さな研究グループである。研究部門と研究室は研究単位であり、いわば研究の現場である。それらの研究活動の実績と現状は「研究活動」の項に述べてある。

21研究部門と10研究室とをさらに6研究領域に分類したが、これらは中期計画のなかで、今後さらに強化、発展させる必要があると判断された基盤研究領域と一致する。

上記の研究体制見直しによる基盤研究の充実と、新しい分野の創成に対してそれぞれの研究者が自由に変更できる柔軟な研究協力体制の構築は、研究所をあげての新たな研究プロジェクト創設のための堅固な基盤となる。国際的に重要な緊急に進展させる必要のある基礎生物学のプロジェクトについて、研究領域、部門、室の枠を越えた研究プロジェクトを実施する。

本年度は、自然科学研究機構 志村令郎機構長の提案もあり、欧州分子生物学研究所(EMBL)との共同研究事業を、基礎生物学研究所が実質的な責任機関として来年度から受けもつことになった。そのための新たな運営組織として、連携・広報企画運営戦略室を設置した。また、国内共同利用研究に重点2課題を採択した。

## 共同利用

全国の大学の教員その他の者で、研究所の目的たる研究と同一の研究に従事する者の利用に供するとともに共同利用研究を行う。

### ●グループ共同研究・個別共同研究

研究所の教授又は助教授と共同して行う共同事業で、グループ間で行うグループ共同研究と各研究者個人間で行う個別共同研究がある。

### ●共同利用実験

研究所の大型スペクトログラフや形質統御実験施設を用いた特定実験計画に基づく実験・研究であり、大型スペクトログラフは昭和 56 年度から開始し、形質統御実験施設は平成 2 年度から試行し、平成 7 年度から本格的に実施している。

### ●研究会

基礎生物学及びその関連分野での緊急かつ重要なプロ

ジェクトについて現状分析を行うと共に、将来の具体的研究計画を討議し、研究推進のための国内及び国際的研究体制確立に寄与する。

### ●施設利用

研究所の施設は個別に利用できる。分析室については、平成 8 年度からその有する機器をより有効に活用するため、公募による利用の申し込みを受け付けている。

以上の共同利用研究（グループ共同研究、個別共同研究）及び研究会並びに、共同利用実験、施設利用は年 1 回、研究課題を公募している。なお、平成 17 年度から従来のグループ共同研究、個別共同研究、研究会、大型スペクトログラフ共同利用実験、形質統御実験施設共同利用実験、環境耐性植物共同利用実験と細分化していたものを、新たに重点共同利用研究を設けるとともに、個別共同利用研究、研究会、大型スペクトログラフ共同利用実験に整理統合することとした。

## 総合研究大学院大学

総合研究大学院大学に参加し、同大学と緊密な連携・協力の下に、国立遺伝学研究所及び生理学研究所とともに生命科学研究科を組織し、基礎生物学専攻を担当し教育研究を行う。

同大学は、学部を持たない大学院だけの大学である。大学院の課程は後期 3 年及び 5 年一貫制の博士課程で、平成元年度から学生を受け入れており、また平成 3 年度から博士（理学）の学位取得者をだしている。

## 国際交流

基礎生物学の分野の国際的な学術交流を活発化するため、研究者の交流や国際シンポジウム等を開催している。

### ●国際共同研究

平成 17 年度から学術研究を取り巻く環境に適応し、より大きな目標達成のため機関外との連携、特に国際的な協力関係を形成すべく、欧洲分子生物学研究所（EMBL）との共同研究室を設置し、生体シグナル可視化を主体とした重要な課題について、共同研究を実施する。

### ●国際研究拠点

基礎生物学分野の国際研究拠点として、日本学術振興会先端研究拠点事業（課題：アフリカツメガエル・ニシツメガエルを用いた機能ゲノム学の推進）を始めとした国際研究拠点としての事業を積極的に行ってている。

### ●基礎生物学研究所コンファレンス

平成 9 年度まで特定研究経費により、国際研究集会として「基礎生物学研究所コンファレンス」を毎年開催して 40 回に及んだ。しかし特定研究が平成 9 年度限りで打ち切られたため、平成 10 年度からは国際シンポジウム（COE）及びリーダーシップ支援経費を活用して、「基礎生物学研究所コンファレンス」を続けていくこととなった。すでにこの線に沿って 10 回のコンファレンスが国内外多数の研究者の参加を得て行われている。

## 大学院教育協力

大学共同利用機関として、広く基礎生物学及びこれに関連する分野における研究者の共同利用に供されるとともに、研究者の養成に関しては、国・公・私立大学の要請に応じて「特別研究学生」を受け入れ、大学院における教育に協力を実行してきた。

近年における、研究所の研究活動への大学院学生の参画の重要性に鑑み、平成 9 年度からは当該大学院学生を「特別共同利用研究員」として受け入れ、併せて研究指導を行い大学院教育の協力を実行している。

### ●生物学国際高等コンファレンス

現代の生物学は、分子生物学的な還元的な方法論に依拠しながら、大きな発展を遂げてきた。それは同時に、新しい生物学の問題発掘の重要性を示している。

我が国の中でも先導する基礎生物学研究所では、生物学コミュニティの大きな組織の一つである生物科学連合に意見を聞きながら、生物学の新しく発展する分野の国際的コミュニティ形成のため、現在のフェーズにあった国際研究集会を開催することを提唱してきた。

生物科学連合の推薦を受けて、基礎生物学研究所は、平成 15 年度から国内外の第一線級の研究者の参加を得て生物学国際高等コンファレンス（OBC）（<http://obc.nibb.ac.jp/>）を主催している。第 1 回 OBC は、平成 16 年 1 月に「絶滅の生物学（The Biology of Extinction）」と題して開催され、国外からの招待者 40 数名を含め 70 数名の参加者のもとに活発な発表、討論が行われた。OBC に関しては、Nature 誌が本コンファレンス直後に News Article "Extinction meeting kicks off Japan's plans for networking (February 5, 2004)" として取り上げるなど、国内外からの期待は高まっている。平成 16 年 9 月には、第 2 回「Terra Microbiology」が開催され、さらに平成 17 年度には第 3 回の OBC 開催を予定している。

昭和 37 年頃から生物学研究者の間に研究所設立の要望が高まり、関連学会（日本動物学会、日本植物学会等）を中心に種々検討がなされた。

昭和 41 年 5 月 日本学術会議は、第 46 回総会において、生物研究所（仮称）並びに生物科学研究交流センター（仮称）の設立について内閣総理大臣に勧告した。

昭和 48 年 10 月 学術審議会は、分子科学研究所、基礎生物学研究所（仮称）及び生理学研究所（仮称）を緊急に設立すべき旨、文部大臣に報告した。

昭和 50 年 4 月 昭和 50 年度予算に岡崎基礎総合研究所（仮称）調査費が計上された。

昭和 50 年 5 月 事務次官裁定により、岡崎基礎総合研究所（仮称）調査会議設置。

昭和 50 年 12 月 岡崎基礎総合研究所（仮称）調査会議から文部大臣に報告が行われた。

昭和 51 年 5 月 昭和 51 年度予算に分子科学研究所調査室経費が計上され、5 月 10 日、文部大臣裁定により分子科学研究所に調査室（定員 5 人）及び岡崎総合研究機構調査会議設置。

昭和 51 年 6 月 岡崎総合研究機構調査会議においては、昭和 50 年度の岡崎基礎総合研究所（仮称）調査会議の報告を踏まえ、岡崎地区における総合研究機構はさしあたり基礎生物学及び生理学の 2 研究所より構成することとし、その具体的な事項について調査検討した。

昭和 52 年 5 月 **生物科学総合研究機構（基礎生物学研究所、生理学研究所）** 創設。  
国立学校設置法の一部を改正する法律（昭和 52 年法律第 29 号）の施行により生物科学総合研究機構創設。  
機構に基礎生物学研究所及び生理学研究所設置。基礎生物学研究所創設と同時に 3 研究系、3 研究部門、1 研究施設及び技術課設置。  
**細胞生物学研究系（細胞機構研究部門）**  
**発生生物学研究系（生殖研究部門）**  
**制御機構研究系（情報制御研究部門）**  
**培養育成研究施設**  
**技術課**

昭和 53 年 4 月 分子科学研究所の管理部が管理局となり、生物科学総合研究機構の事務を併せ処理することとなった。3 研究部門設置。  
**細胞生物学研究系（細胞融合研究部門）**  
**発生生物学研究系（細胞分化研究部門）**  
**制御機構研究系（感覺情報処理研究部門）**

昭和 54 年 4 月 3 研究部門及び 1 研究施設設置。  
**細胞生物学研究系（細胞内エネルギー変換機構研究部門）**  
**制御機構研究系（計時機構研究部門、行動制御研究部門）**  
**アイソトープ実験施設**

昭和 55 年 4 月 細胞生物学研究系に**細胞情報研究部門**設置。

昭和 56 年 4 月 **岡崎国立共同研究機構**創設。  
国立学校設置法の一部を改正する法律（昭和 56 年法律第 23 号）の施行により、分子科学研究所及び生物科学総合研究機構（基礎生物学研究所、生理学研究所）は、昭和 56 年 4 月 14 日をもって総合化され、3 研究所は岡崎国立共同研究機構として一体的に運営。

細胞生物学研究系に**細胞増殖研究部門**設置。

昭和 57 年 4 月 発生生物学研究系に**形態形成研究部門**設置。

昭和 58 年 4 月 発生生物学研究系に**発生生物学研究部門**設置。

昭和 63 年 4 月 制御機構研究系に**遺伝子発現統御研究部門**設置。

昭和 63 年 10 月 **総合研究大学院大学**が創設。  
基礎生物学研究所に同大学生命科学研究科分子生物機構論専攻が置かれる。

平成元年 5 月 遺伝子発現統御研究部門が廃止され、**形質統御実験施設（遺伝子発現統御第一研究部門、遺伝子発現統御第二研究部門）**設置。

平成 4 年 4 月 形質統御実験施設に**種分化機構第一研究部門**設置。

平成 8 年 5 月 形質統御実験施設に**種分化機構第二研究部門**設置。

平成 10 年 5 月	形質転換生物研究施設設置。	平成 16 年 4 月	大学共同利用機関法人自然科学研究機構創設。
平成 11 年 4 月	生命環境科学研究センター設置。		国立大学法人法の施行により、国立天文台、核融合科学研究所、基礎生物学研究所、生理学研究所及び分子科学研究所が統合再編され、大学共同利用機関法人自然科学研究機構となった。岡崎国立共同研究機構管理局が大学共同利用機関法人自然科学研究機構岡崎統合事務センターとなった。
平成 12 年 4 月	アイソトープ実験施設、生命環境科学研究センター廃止。 共通研究施設として、 <b>統合バイオサイエンスセンター</b> 、 <b>計算科学研究センター</b> 、 <b>動物実験センター</b> 、 <b>アイソトープ実験センター</b> 設置。		3 研究系の廃止とともに研究部門名を変更し、新たに研究室を設けた。
平成 13 年 4 月	情報生物学研究センター設置。	平成 17 年 4 月	連携・広報企画運営戦略室設置。

# M ANAGEMENT OF THE INSTITUTE 運 営

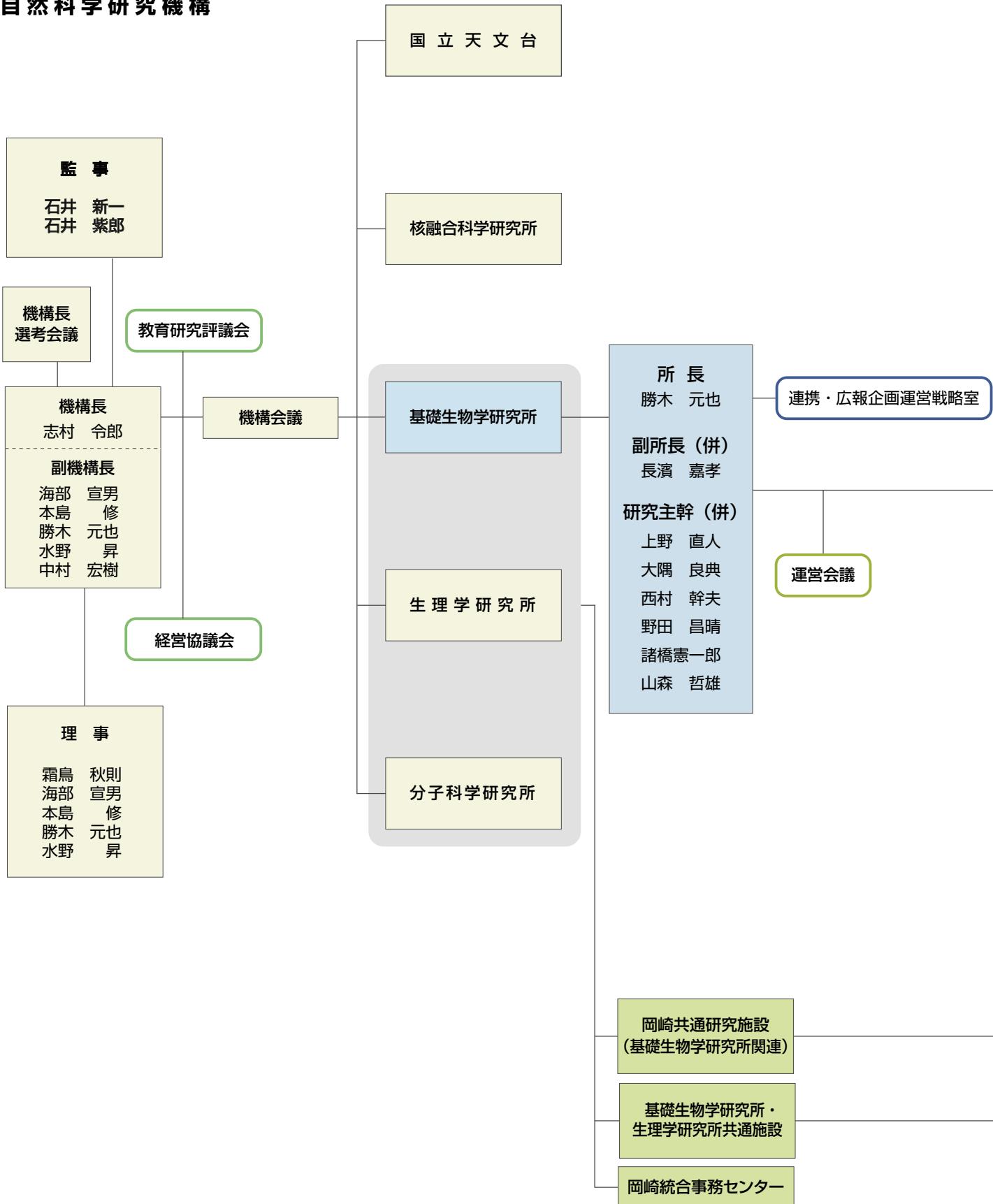
## ■ 運営会議

研究教育職員の人事等研究所の運営に関する重要事項で、所長が必要と認めるものについて所長の諮問に応じる。

※○は議長、○は副議長

相澤 慎一	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター グループディレクター
巖佐 庸	九州大学大学院理学研究院 教授
○岡田 清孝	京都大学大学院理学研究科 教授
黒澤 良和	藤田保健衛生大学総合医科学研究所 教授
米田 好文	東京大学大学院理学系研究科 教授
近藤 壽人	大阪大学大学院生命機能研究科 教授
相賀裕美子	国立遺伝学研究所 教授
瀬原淳子	京都大学再生医科学研究所 教授
町田 泰則	名古屋大学大学院理学研究科 教授
村上富士夫	大阪大学大学院生命機能研究科 教授
飯田 滋	分子遺伝学研究部門 教授
上野直人	形態形成研究部門 教授
大隅 良典	分子細胞生物学研究部門 教授
高田 慎治	分子発生学研究部門(岡崎統合バイオサイエンスセンター) 教授
長濱嘉孝	生殖生物学研究部門 教授
西村 幹夫	高次細胞機構研究部門 教授
野田 昌晴	統合神経生物学研究部門 教授
長谷部光泰	生物進化研究部門 教授
堀内嵩	ゲノム動態研究部門 教授
諸橋憲一郎	性差生物学研究部門 教授
○山森哲雄	脳生物学研究部門 教授

## 自然科学研究機構



## 研究部門・研究室

### 細胞生物学領域

高次細胞機構研究部門  
分子細胞生物学研究部門  
細胞増殖研究部門  
細胞情報研究部門  
細胞構造研究室  
細胞社会学研究室

### 発生生物学領域

生殖生物学研究部門  
性差生物学研究部門  
形態形成研究部  
発生遺伝学研究部  
分子発生生物学研究部  
発生生物学研究室

### 神経生物学領域

統合神経生物学研究部門  
脳生物学研究部門  
行動生物学研究部門  
神経生理学研究室  
神経生化学研究室

### 進化多様性生物学領域

分子遺伝学研究部  
ゲノム進化研究部  
生物種形成機構研究部  
構造多様性研究室

### 環境生物学領域

分子環境生物学研究部  
植物発生遺伝学研究部  
光情報研究部  
光環境学研究室  
ストレス応答機構研究室

### 理論生物学領域

理論生物学研究部  
ゲノム情報研究室  
所長研究室

\*客員研究部門

## 研究施設

### 培養育成研究施設

細胞器官培養室  
人工気象室  
実験場  
下等真核細胞培養室  
大型スペクトログラフ室  
電子計算機室

### 形質転換生物学研究センター

### 情報生物学研究センター

### 技術課

### 岡崎統合バイオサイエンスセンター

### 計算科学研究センター

### 動物実験センター

### アイソトープ実験センター

■ 時系列生命現象領域I・発生遺伝  
■ 時系列生命現象領域II・分子発生  
■ 生命環境研究領域I・生命環境  
■ 生命環境研究領域II・植物発生

### 分析室 洗滌室 廃棄物処理室

### 電子顕微鏡室 機器研究試作室

### 名誉教授

太田行人  
中岡田節人  
江口吾朗  
竹内郁夫  
鈴木義昭  
毛利秀雄

### 名誉技官

服部宏之



**芽子葉は陽にあたると緑化し、また木の葉は秋になると紅葉する。**こうした植物の営みには、細胞内オルガネラの機能および形態の変動が伴っている。緑化にはエチオプラストからクロロプラストへの、また紅葉にはクロロプラストからクロモプラストへの転換が生じ、葉の色が変わっていく。このようなオルガネラの変換は、植物細胞の成長・分化に伴って頻繁に観察される現象であり、オルガネラ分化の可塑性として捉えられる。このオルガネラ分化の可塑性こそが植物細胞分化の特徴である柔軟性を支える基本的性質とみなすことができる。本研究部門では、分子から植物個体まで巾広いレベルから高等植物におけるオルガネラ分化の可塑性を理解することを目指している。

### ペルオキシソームの機能変換

暗所で発芽した幼植物体は光照射により緑化し、光合成によって成長に必要なエネルギーを得ることになる。この緑化過程には、クロロプラストの発達のみならず、他の構成オルガネラの機能も大きく変動する。一重膜で囲まれたオルガネラのペルオキシソームでは、糖新生に関与するグリオキシソームが光合成に関与する緑葉ペルオキシソームへと機能転換する。一方、セネッセンス（老化）時には、緑葉ペルオキシソームからグリオキシソームへの全く逆の機能転換が起こることを見いだし、このペルオキシソームの機能変換が可逆的であることを明らかにしている。これまで、このペルオキシソーム機能変換の可逆性を支える新規の機能分子を同定するとともに、この機能変換がペルオキシソームタンパク質の遺伝子発現、mRNAのスプライシング、細胞内輸送（図1）、ペルオキシソーム内でのタンパク質分解という各段階で調節されていることを示してきた。また、シロイヌナズナのペルオキシソーム機能欠損変異株（文献2）やペルオキシソーム形態不全変異株（文献3）を用いたペルオキシソーム機能分化の解析や、ペルオキシソーム形成の鍵となるペルオキシタンパク質群の機能解析に加え、高純度に精製したシロイヌナズナのペルオキシソームを用いたプロテオーム解析によりペルオキシソームの構成成分を網羅的に同定し、ペルオキシソーム局在タンパク質の組織別発現マップを作成している。さらにシロイヌナズナゲノム配列から推測されるペルオキシソーム局在タンパク質遺伝子のマイクロアレイを独自に作製

[www.nibb.ac.jp/celmech/jp](http://www.nibb.ac.jp/celmech/jp)

## 高次細胞機構研究部門

し、それを用いて各組織における遺伝子発現プロファイルを明らかにしている。これらポストゲノム解析から、ペルオキシソーム機能分化に関わるタンパク質リン酸化酵素や新規代謝系の存在が明らかにされつつある。

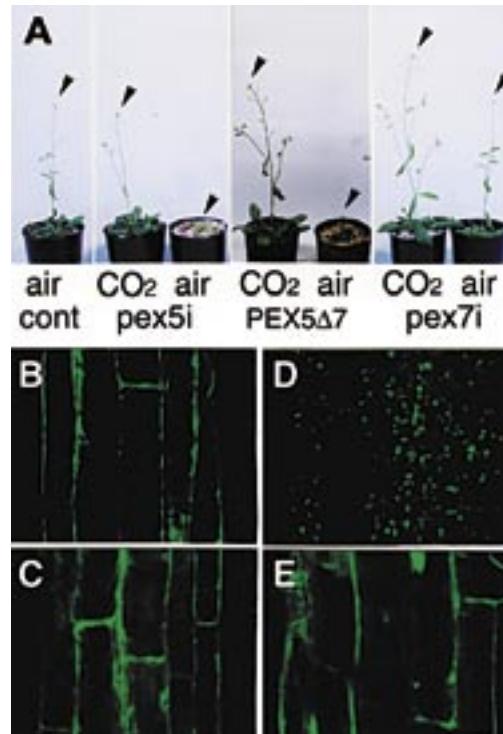


図1. 2つのペルオキシソームタンパク質輸送レセプターはペルオキシソーム機能維持に対して異なる役割を果たす（文献5）

RNA抑制法による $PEX5$ 遺伝子と $PEX7$ 遺伝子のノックダウン株（ $pex5i$ ,  $pex7i$ ）および機能不全型 $PEX5$ 遺伝子産物の過剰発現株（ $PEX5\Delta 7$ ）を作製した。 $pex5i$ と $PEX5\Delta 7$ は、緑葉ペルオキシソームの光呼吸活性が低下し、 $CO_2$ 要求性を示すが、 $pex7i$ は野生株（ $cont$ ）と同等の光呼吸活性を持っている（A）。 $pex5i$ ,  $PEX5\Delta 7$ ではGFP-PTS1（B）、PTS2-GFP（C）とともにペルオキシソームへの輸送が阻害される。一方、 $pex7i$ ではPTS2-GFPの輸送は阻害される（E）が、GFP-PTS1は正常にペルオキシソームへ輸送される（D）。

$PEX$ 遺伝子はさまざまな生物で解析が進んでいるペルオキシソーム制御遺伝子の総称で、 $PEX1$ をはじめ、30を越える遺伝子が知られている。DNAデータベースの検索を行い、シロイヌナズナゲノムから全部で21個の $PEX$ 遺伝子候補を同定した。これらの遺伝子のうちでペルオキシソームタンパク質の細胞内輸送に関与すると考えられる $PEX5$ および $PEX7$ 遺伝子についてRNAi法によるノックダウン株を作製し、これら遺伝子産物の機能解析を行った。その結果、 $Pex5p$ と $Pex7p$ がサイトゾールでレセプター複合体を形成して、PTS1やPTS2を持つペルオキシソームタンパク質の識別を行っていること、ペルオキシソームへのタンパク質輸送には $Pex5p$ とペルオキシソーム膜タンパク質である

Pex14pの結合が必要であることを明らかにした。さらに、植物がその生育段階に応じて PTS1 と PTS2 のタンパク質輸送経路を使い分けていることが示され、ペルオキシソームを介した高次機能発現にタンパク質輸送レベルの調節が働いていることが示唆された。

## 液胞の機能変換

高等植物の液胞は形態的にも機能的にも大きく変動する能力を備えている（文献 1）。この液胞の機能変換機構の解明について研究を進めている。種子には、2S アルブミンなどの貯蔵タンパク質を蓄積するタンパク質蓄積型液胞が存在している。このタンパク質蓄積型液胞への貯蔵タンパク質の輸送に特殊な小胞が関与していることを見出し、PAC (precursor-accumulating) 小胞と命名した。PAC 小胞は登熟期の種子に多くみられる。一方、2S アルブミンを改変したタンパク質を大量発現させることで葉などに PAC 小胞を誘導することができる。現在、シロイヌナズナを用いて PAC 小胞の形成に関わる因子の解析を行っている。

小胞体 (ER) を緑色蛍光タンパク質で可視化することで、小胞体由来の新規オルガネラ、ER ボディを発見した。ER ボディは傷害で誘導されるため、食害防御に関与すると考えられる。また、ER ボディが形成されないシロイヌナズナ *nai1* 変異体を単離した。*NAI1* 遺伝子は bHLH 型の転写制御因子をコードしており、ER ボディ形成のための因子の発現調節に関わると考えられる。現在、ER ボディの誘導、形成、崩壊に関与する因子の単離、解析を試みている。

液胞プロセシング酵素 (VPE) はアスパラギンまたはアスパラギン酸残基の C 末端側を特異的に切断するプロテアーゼで、液胞タンパク質の成熟化に関与する。シロイヌナズナより 3 つの VPE ホモログ ( $\alpha$  VPE,  $\beta$  VPE,  $\gamma$  VPE) を同定し、それぞれの VPE 欠損株の解析から 3 つの VPE が協調して種子貯蔵タンパク質のプロセシングを行っていることが明らかとなった。一方、VPE は病原体の感染によっても誘導される。植物は、病原体に感染すると自ら感染部位を枯死させ、全身への感染を防ぐ。この現象は過敏性細胞死と呼ばれ、プログラム細胞死の一つである。VPE は動物のプログラム細胞死に関わるカスパーゼの基質を認識し、VPE の発現が低下したタバコではウイルスによる過敏性細胞死が抑えられた（図 2A）。ウイルスが感染した細胞では細胞死

が起る前に液胞が崩壊することから、過敏性細胞死には VPE による液胞崩壊が必要であることが明らかとなった（図 2B）。植物のプログラム細胞死に関わるプロテアーゼを初めて同定するとともに、植物のカスパーゼ活性の実体が VPE によるものであることが初めて示された（文献 4）。

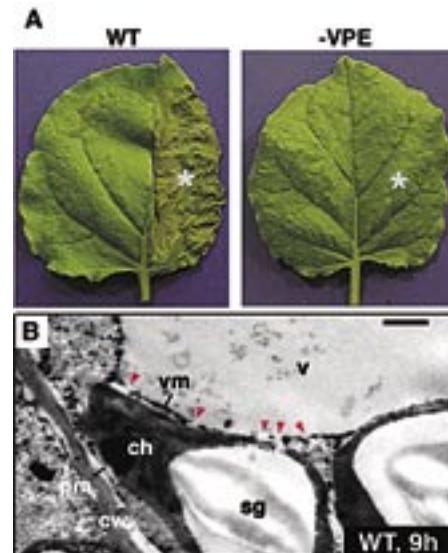


図 2. VPE は液胞崩壊による過敏性細胞死を誘導する

(A) タバコ (*Nicotiana benthamiana*) 野生株 (WT) と VPE 欠損株 (-VPE) にタバコモザイクウイルス (TMV) を感染させ 24 時間後に観察した。アステリスクはウイルス感染部位を示す。(B) 野生株に TMV を感染させ 9 時間後に電子顕微鏡観察を行った。赤の矢頭は液胞膜が無くなっている部分を示す。バーは 1  $\mu$ m。v は液胞、vm は液胞膜、pm は細胞膜、ch は葉緑体、sg はデンプン粒、cw は細胞壁を示す。

### 参考文献

1. Nishimura, M. and Beevers, H. (1979). Hydrolysis of protein in vacuoles isolated from higher plant tissue. *Nature* 277, 412-413.
2. Hayashi, M., Nito, K., Toriyama-Kato, K., Kondo, M., Yamaya, T., and Nishimura, M. (2000). AtPex14 maintains peroxisomal functions by determining protein targeting to three kinds of plant peroxisomes. *EMBO J.* 19, 5701-5710.
3. Mano, S., Nakamori, C., Kondo, M., Hayashi, M., and Nishimura, M. (2004). An *Arabidopsis* dynamin-related protein, DRP3A, controls both peroxisomal and mitochondrial division. *Plant J.* 38, 487-498.
4. Hatsugai, N., Kuroyanagi, M., Yamada, K., Meshi, T., Tsuda, S., Kondo, M., Nishimura, M., and Hara-Nishimura, I. (2004). A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. *Science* 305, 855-858.
5. Hayashi, M., Yagi, M., Nito, K., Kamada, T., and Nishimura, M. (2005). Differential contribution of two peroxisomal protein receptors to the maintenance of peroxisomal functions in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 280, 14829-14835.

### STAFF



西村 幹夫  
教授



林 誠  
助教授



真野 昌二  
助手



山田 健志  
助手



鎌田 知江  
研究員

### 技術課技術職員

近藤 真紀

### 博士研究員

新井 祐子

神垣あかね

及川 和聰

LU, Zhongpeng

### 総合研究大学院大学院生

小笠原希実

### 技術支援員

中森ちひろ

八木 美奈

義則 有美

鈴木 育

深澤美津江

加藤 恵子

仁科 桃子

### 事務支援員

上田 千弦

久保木悠子



自然界において、生命体は常に栄養の枯渇の危険性に晒されており、飢餓環境下にいかに生き延びるかは、極めて重要な問題である。オートファジー (Autophagy) はそのような栄養飢餓に対する適応機構の1つであり、広く真核生物に保存されている。生物は外界の栄養源の飢餓を閲知すると、自己細胞の細胞質の構成成分やオルガネラをリソーム / 液胞内で分解し、その分解産物をリサイクルして飢餓耐性の細胞の再構築に用いる。細胞内のタンパク質は常に合成と分解のバランスの上に成り立っており、バルクのタンパク質分解を担うオートファジーの生理的な役割は生命活動の様々な局面に重要な働きをしていることが近年明らかくなっている。例えば我々の肝細胞では、空腹時に活発なオートファジーが誘導され、血糖値の維持が図られている。酵母細胞では、窒素源の枯渇を引き金として胞子形成が誘導されるが、このように細胞分化には既存のタンパク質のオートファジーによる大規模な分解が不可欠である。細菌感染、様々な病態との関係も注目を集めている。我々の研究室はオートファジーの分子機構解明を目指して様々な手法を駆使して研究を進めている。

### モデル細胞、酵母のオートファジー

酵母細胞は栄養飢餓に応答してオートファジーを誘導する。酵母のオートファジーは窒素 (アミノ酸), 炭素, イオウ, リン酸など様々な飢餓によって誘導される。

オートファジーをめぐる最大の課題はオートファジーに伴う膜動態の解明である。オートファジーの膜動態は従来解析が進んできた小胞輸送系とは明らかに異なっており、細胞内に新たなコンパートメント、オートファゴソームを形成する過程が誘導される。細胞質の一部を取り囲む二重膜のオートファゴソーム膜が何に由来し、どのように形態形成されるのか、いかにして液胞 / リソームと特異的に融合するのか、オートリソーム内でなぜオートファジックボディ膜が容易に分解されるのか、オートファジーの進行がどのように制御されているのかなど、興味深い課題が数多く残されており、常に挑戦が求められている。

[www.nibb.ac.jp/enehen/index-j.html](http://www.nibb.ac.jp/enehen/index-j.html)

## 分子細胞生物学研究部門

### オートファジーに関与する ATG 遺伝子群

酵母は遺伝学的な手法に優れ、細胞内の複雑な現象を分子レベルで理解する上で先導的な役割を果たしてきた。我々はオートファジーの分子機構を解明するため、酵母のオートファジー不能変異株 (*apg* 変異株) を分離し、それをもとに、オートファジーに関わる 16 個の *APG* 遺伝子を同定した。最近これらオートファジー関連遺伝子を *ATG* と呼ぶことが国際的に合意された。これらの遺伝子産物の解析を進めた結果、Atg タンパク質が4つの機能群を形成していることが明らかとなった。これらはユビキチン様のタンパク質修飾システム (後述)、タンパクキナーゼ複合体、ホスファチジルイノシトール3リン酸 (PI3) キナーゼ複合体からなり、全ての反応系が正常に作動することがオートファジーの進行に必須である。しかし、それぞれの反応系がいかに時間的空間的に制御され、オートファゴソーム形成過程で働いているのかは未だほとんど分かっていない。我々は Atg タンパク質の細胞内局在を系統的に調べ、多くの Atg タンパク質が Pre-autophagosomal structure (PAS) と呼ばれる液胞近傍の構造体に集積していることを明らかにしてきた。現在、PAS 形成における Atg タンパク質間の機能ネットワークを明らかにすべく、局在解析、遺伝的・物理的相互作用、Atg タンパク質の構造機能相関に焦点を当てた研究を進めている。オートファジーに必須なタンパク質キナーゼ Atg1 の制御機構、オートファジーの膜動態に関わる PI3 キナーゼに関しても詳細な解析を進めている。

### オートファジーに必須なユビキチン様タンパク質

我々は4つの Atg タンパク質が新しいタンパク質の結合反応に関与していることを見出した。Atg12 タンパク質 (Atg12p) は C 末端の Gly 残基を介して Atg5p の中央にある Lys 残基の側鎖とイソペプチド結合を形成する。この結合体の生成はオートファジーの進行に必須である。Atg12p はユビキチンと相同性はないが、結合反応はユビキチン経路と類似の反応からなっており、Atg7p, Atg10p はその Atg12p の活性化 (E1 酵素) と結合反応 (E2 酵素) に関与している (図 1)。Atg12 の構造解析、ドメイン解析が進みつつある。第2のユビキチン様タンパク質 Atg8p は、プロテアーゼ Atg4p によって C 末端 Arg が切断された後 Atg7p によって活性化を受け、特異的 E2 酵素 Atg3p に結合した後、最終的にリン脂質ホスファチジルエタノールアミンに結合する (図 1)。これら2つの新しいユビキチン様反応系は真核生物に広く保存されている。現在2つの系の相互関係、結合体形成の意味を *in vitro* 再構成系を用いて解析を進めている。

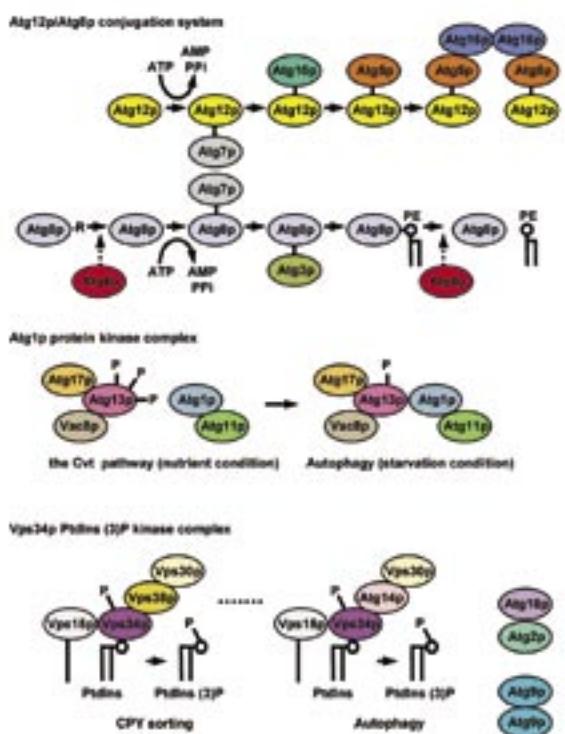


図 1. Atg タンパク質の機能  
オートファゴソーム形成に関わる 16 個の Atg タンパク質群は相互作用をする 4 つの機能単位からなっている。

## 酵母におけるオートファジーの生理機能

オートファジーがいかなる生理機能を果たしているかについても、分解基質の選択性の問題、ミトコンドリアの分解への関わり、飢餓下の細胞死などについて検討を開始した。

## 多細胞系のオートファジー

オートファジーは多細胞生物ではさらに多面的な生理的意義をもつとの予想のもとに、我々は酵母で得られた知見を、高等動植物へと発展させた研究も行っている。酵母で同定された ATG 遺伝子の多くは、高等動植物にもホモログが存在する。哺乳動物の Atg8 ホモログである LC3 は、動物細胞オートファゴソームの初めての指標タンパク質として多くの解析に用いられている。また、我々は Atg5 ノックアウト ES 細胞を構築し、Atg12 結合系が哺乳動物でもオートファジー

に必須であり、オートファゴソームの前構造である隔離膜の伸長に関わっていることを見いだした。さらに Atg5-GFP の実時間観察により、生細胞の中でオートファゴソームが形成される過程の可視化にも成功した。

一方、植物の生活環において、液胞での分解は重要な役割を果たしていることが予想され、実際 ATG 遺伝子を欠損したシロイヌナズナは、飢餓応答に異常をきたし、枯死の進行が促進される。さらに、植物においても GFP-Atg8p によりオートファジーを可視化する系を確立し、植物個体においてもオートファジーの生理的意義が解明されつつある（図 2）。

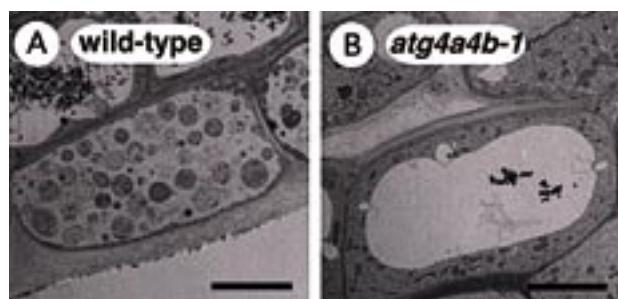


図 2. *atag* 変異株はオートファジー能を欠損している

野生株 (A) と *atag4a4b-1* 変異株 (B) の根にコンカナマイシン A を処理した。野生株の液胞の中にはミトコンドリアやゴルジ体や小胞体といったオルガネラに加え、細胞質を含むオートファジックボディが多数観察されるが、*atag4a4b-1* 変異株では観察されない。バーは 10 μm。

## 参考文献

1. Takeshige, K., Baba, M., Tsuboi, S., Noda, T., and Ohsumi, Y. (1992). Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and its conditions for induction. *J. Cell Biol.* **119**, 301-311.
2. Mizushima, N., Noda, T., Yoshimori, T., Tanaka, T., Ishii, T., Gerge, M. D., Klionsky, D. J., Ohsumi, M., and Ohsumi, Y. (1998). A novel protein conjugation system essential for autophagy. *Nature* **395**, 395-398.
3. Ichimura, Y., Kirisako, T., Takao, T., Satomi, Y., Shimonishi, Y., Ishihara, N., Mizushima, N., Tanida, I., Kiminami, E., Noda, T., and Ohsumi, Y. (2000). Ubiquitination-like system mediates novel protein lipidation. *Nature* **408**, 488-492.
4. Mizushima, N., Yamamoto, A., Hatano, M., Kobayashi, Y., Kabeya, Y., Suzuki, K., Tokuhisa, T., Ohsumi, Y., and Yoshimori, T. (2001). Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells. *J. Cell Biol.* **152**, 657-668.
5. Yoshimoto, K., Hanaoka, H., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Noda, T., and Ohsumi, Y. (2004). Processing of ATG8s, ubiquitin-like proteins, and their deconjugation by ATG4s are essential for plant autophagy. *Plant Cell* **16**, 2967-2983.

STAFF	助手(休職中)	大根田 守	特別共同利用研究員
野田 健司	小野寺 純	川俣 朋子	
技術課技術職員	尾板 英子	技術支援員	
壁谷 幸子	奥 公秀	市川 理恵	
博士研究員	特別協力研究員	近藤 千香	
関藤 孝之	馬場 美鈴	事務支援員	
吉本 光希	総合研究大学院大学院生	附柴 久美	
藤木 友紀	陰山 卓哉	原 洋子	
花田 孝雄	松井 誠		

大隅 良典  
教 授

鎌田 芳彰  
助 手

鈴木 邦律  
助 手

中戸川 仁  
助 手

小原 圭介  
研究員

## 細胞増殖研究部門 (客員部門)

細胞増殖研究部門では、平成15年4月より大阪大学大学院医学系研究科教授 長田重一先生を客員教授として迎えた。長田重一教授はサイトカインによって誘導される細胞の増殖、分化、細胞死の分子機構、その生理作用などの研究を通じ、これまでに数多くの業績を上げてこられた。これらの業績の中にはヒトインターフェロン遺伝子の単離、ヒト顆粒球コロニー刺激因子遺伝子の単離など、分子生物学の正統的手法を駆使した多くの生体活性物質の発見がある。しかし注目すべきは、最近の細胞死の分子機構に関する研究で、生化学に対する「死化学」の構築というべき新しい生命に関する概念の実体を明らかにし、分子生物学に新たな一面を加える大業績をあげてこられた。基礎生物学研究所においては客員教授として研究所の運営、将来計画等に対しご助言を頂く。

(文責 勝木元也)

### STAFF



長田 重一

教授

(大阪大学大学院 生命機能研究科) (京都大学大学院農学研究科 応用生命科学専攻)



阪井 康能

助教授

## 細胞構造研究室

細胞内には細胞骨格と呼ばれる纖維状構造物がはりめぐらされている。アクチン纖維や微小管といったものがある。このうち微小管は中心体から細胞周辺に伸びている。小胞前駆体はこの微小管にそって細胞中心あるいは細胞周辺に運ばれる。細胞骨格は幹線鉄道、幹線道路としての役割も果たしている。日本を一つの細胞と考え、中心体を東京駅とすると幹線鉄道には下り列車と上り列車がある。ダイニンは上り列車だ。下り列車に相当するのがキネシンであるが、キネシンの中には上り列車になるものがある。

纖毛や鞭毛の横断面の電子顕微鏡写真では中心に1本の微小管と周辺にある9本のダブレット微小管と中心にある一对の中心小管からできている。またダブレット微小管からはアームと呼ばれるハンマー状のものが2本出ている。これを外腕アーム、内腕アームと呼んでいる。これらのアームがダイニンだ。

ダイニンは纖毛の運動モーターとして発見されたが、抗体を用いた研究から細胞質にも存在することが明らかになった。前者を軸糸ダイニン、後者を細胞質ダイニンと呼んでいる。例えば細胞では微小管は中心体より細胞周辺へと伸びている。細胞質ダイニンは細胞質にあっては周辺部から中心部へと微小管をレールとして積荷を運ぶ。同じように精子では頭部より鞭毛が伸びている。軸糸ダイニンは積荷（この場合自分が結合している周辺微小管）を隣の周辺微小管をレールにして頭部へと運ぶ。ただ軸糸ダイニンの場合この動きは無制限ではなく構造的な制約を受けている。この時に屈曲が形成されると考えられている。

ウニ精子ダイニンは分子量が150万に及ぶ巨大で複雑なタンパク質である。分子量50万の2つの重鎖、8万から12万の3つの中間鎖、3万以下の6つの軽鎖よりできている。

重鎖は酵素活性があり、ATPのエネルギーを力に変える分子モーターだ。クローニングの結果、ATPを結合すると予測される配列が分子中央に4つあった。その後イーストの全ゲノム配列が決定されたことによりAAA-ファミリーに属することがわかり、分子のC端に更に2つのAAA-モジュールが同定され、結局重鎖は6つのAAA-モジュールが分子内でヘキサマーを作っていると推測された（図1）。このヘキサマーこそ運動モーター部分であり、1973年に発表したフラグメントAに他ならない。

中間鎖にはチオレドキシン活性があり、重鎖の活性を制御していると考えられている。WD配列をもった中間鎖は細胞質ダイニンにも存在する。また軽鎖（Tctex1 ホモログ）はリン酸化されることでダイニンの活性化に関与していると考えている。図2はTctex1とTctex2から形成されるSmoac

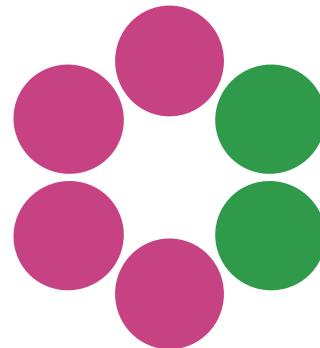


図1. フラグメントAの構造  
4つのWalkerモジュール（ピンク）と2つのAAAモジュール（グリーン）からなるダイニンのモーター領域（フラグメントA）

（精子運動活性化コンプレックス）のモデルを示している。こうした研究を通して鞭毛運動における屈曲波形成と伝搬の仕組みを分子レベルで明らかにしようとしている。

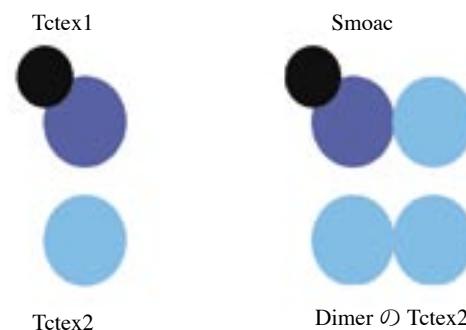


図2. Smoac形成のモデル  
ダイニン軽鎖は Smoac を形成し鞭毛運動開始の際情報を重鎖に伝達する役目を果している。

### 参考文献

- Ogawa, K. (1991). Four ATP-binding sites in the midregion of the  $\beta$ -heavy chain of dynein. *Nature* 352, 643-645.
- Ogawa, K., Kamiya, R., Wilkerson, C.B., and Witman, G.B. (1995). Interspecies conservation of outer arm dynein intermediate chain sequences defines two intermediate chain subclasses. *Mol. Cell Biol.* 6, 685-696.
- Ogawa, K., Takai, H., Ogiwara, A., Yokota, E., Shimizu, T., Inaba, K., and Mohri, H. (1996). Is outer arm dynein intermediate chain 1 multifunctional? *Mol. Cell Biol.* 7, 1895-1907.
- Ogawa, K. and Inaba, K. (2003). Sperm motility-activating complex formed by t-complex distorters. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310, 1155-1159.

### STAFF



小川 和男  
助教授

## 細胞社会学研究室

**動**物の発生とは一つの受精卵から分裂、増殖をしながらいろいろな種類の細胞に別れていく過程である。その過程の中では均一な細胞集団の中から異なる性質を持つ細胞へ別れて行く。この過程、もしくはその結果を細胞分化と呼ぶが、この分岐に関与する遺伝子の中に細胞運命決定遺伝子と呼ばれているものがある。

動物の器官は決まった種類の複数の細胞から出来上がっており。その上、それぞれの細胞種の比率は常に一定に保たれている。これはその器官を構成する細胞間に相互に監視する機構が存在すると考えられる。我々は器官形成における細胞の種類、及びその数の決定に細胞運命決定遺伝子 (Notch) が関与していると考え、その機能を探ることによって器官形成のメカニズムを解明しようとしている。

### 胎盤の形態形成

哺乳類の胎児の生長には胎盤は不可欠な組織である。胎児は胎盤を通して母親から栄養物、酸素等を受け取り、その代謝物を母親に渡す。その目的のために母親の血液が胎児由来の栄養芽細胞の間を流れ、それらの栄養物等を胎児の全身に流すための胎児の血管が胎盤の中に細かく張り巡らされている。細胞運命決定遺伝子の変異体では母親の血流が不完全であることが判明している。また母親の血球と栄養芽細胞とが相互作用することが知られている（図1）。しかしながら母親の血流が胎盤内で作られる仕組みや、母親と胎児の血液が混ざり合わない仕組みにこの遺伝子の関与を示唆する結果はあるが、その機構はよく解明されていない。胎盤の形態形成には興味深い生物現象が多く含まれているので、その中の一つでも解明できればと考えている。

### 腎臓の形態形成

中腎は哺乳類では泌尿器系統の発生においてのみ見られ、腎としての機能はその後発生する後腎が担当することになる。中腎は雌では退化し、雄では精巣上体として残る。

中腎は中胚葉性の細胞のみから作られる。その中の管構造は纖維芽細胞が上皮細胞に変換して出来上がる。纖維芽細胞から上皮細胞への変換は血管内皮細胞の形成等にもみられる現象である。細胞運命決定遺伝子の変異体ではこの変換が全く行われないことが判明しているので（図2）、この変異体マウスを使ってその変換のメカニズムを主として細胞レベルで解明したい。

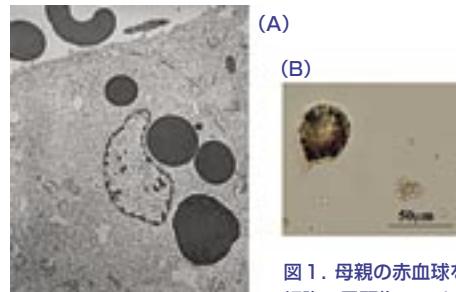


図1. 母親の赤血球を食べる栄養芽細胞の電顕像 (A) と光顕像 (B)  
食作用は胎盤が機能する胎児に栄養を供給するためだと考えられている。

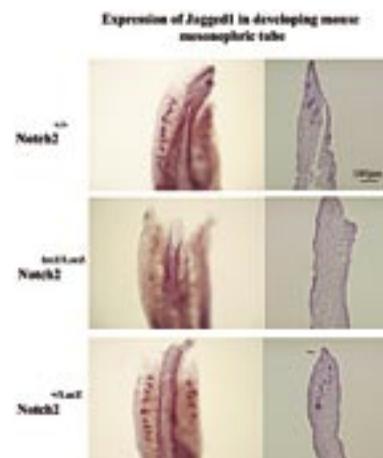


図2. Notch2 の変異体の中腎  
この変異体では中腎細管の構造が全く作られていない。纖維芽細胞が上皮細胞に変換する能力が全く欠如しているわけではなく、この変換を進める因子が欠如していると考えられる。

### 参考文献

1. Hamada, Y., Kadokawa, Y., Okabe, M., Ikawa, M., Coleman, J.R., and Tsujimoto, Y. (1999). Mutation in ankyrin repeats of the mouse Notch2 gene induces early embryonic lethality. *Development* 126, 3415-3424.
2. Saito, T., Chiba, S., Ichikawa, M., Kunisato, A., Asai, T., Shimizu, K., Yamaguchi, T., Yamamoto, G., Seo, S., Kumano, K., Nakagami-Yamaguchi, E., Hamada, Y., Aizawa, S., and Hirai, H. (2003). Notch2 is Preferentially expressed in mature B cells and indispensable for marginal zone B lineage development. *Immunity* 18, 675-685.
3. Kumano, K., Chiba, S., Kunisato, A., Sata, M., Saito, T., Nakagami-Yamaguchi, E., Yamaguchi, T., Masuda, S., Shimizu, K., Takahashi, T., Ogawa, S., Hamada, Y., and Hirai, H. (2003). Notch1 but Not notch2 is essential for generating hematopoietic stem cells from endothelial Cells. *Immunity* 18, 699-711.

### STAFF



浜田 義雄  
助手





## 生殖生物学研究部門

**生殖生物学研究部門**では、性決定／分化／転換、および配偶子形成を制御する分子種の同定とそれら因子の生成と作用の分子機構の解明に重点を置き研究を進めている。研究対象としては、卵生から胎生まで様々な生殖様式を示し、生殖研究に優れた生物モデルとなる魚類を用いている。これまでの研究から、メダカの性決定遺伝子、配偶子形成を制御するステロイド性因子、およびヒトデの生殖巣刺激物質が同定された。現在、これらの因子の作用メカニズムを明らかにする研究が展開されている。

### 性決定と生殖腺の性分化／性転換

**メダカの性決定遺伝子**：我々は最近、哺乳類と同じ XX/XY システムで性決定がなされるメダカ (*Oryzias latipes*) から脊椎動物で二番目となる性決定遺伝子 *DMY* を発見した。この遺伝子は、*SRY* とはまったく構造が異なり、ショウジョウバエと線虫の性発達に関わる DM ドメインを持つことから *DMY*(DM-related gene on the Y chromosome) と命名された（文献 5）。*DMY* 遺伝子は性分化期の XY 個体の生殖腺体細胞（セルトリ細胞）に強く発現する。遺伝的雌（XX）に *DMY* を導入したトランスジェニックメダカでは、*DMY* が生殖腺に発現し、正常な精巣が形成される。また、遺伝的雄（XY）で *DMY* をノックダウンすると性分化期の生殖腺で雌特異的遺伝子が発現するようになる（図 1）。*DMY* の作用メカニズムを明らかにすることが今後の中心的課題である。

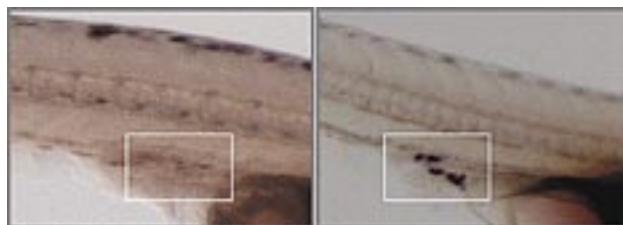


図 1. 孵化直後のメダカ遺伝的雄（XY）の生殖腺

*DMY* をノックダウンすると雌特異的遺伝子が発現する（右図）。正常の XY 雄の生殖腺（左図）。

**生殖腺の性分化／性転換**：可塑的な性を示す魚類は、性決定／分化に関する格好な研究モデルとなる。ティラピア (*Oreochromis niloticus*) の遺伝的雌（XX）の生殖腺では、卵巣分化に先行してエストロゲン生成酵素群の発現が認められ

る。さらに、孵化直後から内因性エストロゲンの生成（ファドロゾール処理）やエストロゲン受容体の働き（タモキシフェン処理）を抑制すると、遺伝的雌は機能的雄に不可逆的に性転換する。従って魚類では、エストロゲンが卵巣の分化に中心的な役割を果たす。一方、遺伝的雄（XY）の性分化期前の生殖腺で、ステロイド代謝酵素の発現は明確ではなく、かわって、*DMRT1* が雄特異的な発現を示すことから、魚類の精巣分化には *DMRT1* が重要な役割を果たすと考えられる。今後、全雌、全雄ティラピアを用いて、形態的性分化期に先立ち起こるステロイド代謝酵素と *DMRT1* の雌雄差発現の機構を詳しく解析する必要がある。

サンゴ礁に生息するオキナワベニハゼ (*Trimma okinawae*) は、社会構造の変化により自然条件下で双方向の性転換を行う。我々は、同様な機能的性転換を実験室内でも誘導できる系を確立した（雌から雄への性転換は 5 日間、逆に雄から雌への性転換は約 10 日間）。この実験系を駆使して、1) この魚の性転換が個体の大きさをもとに視覚によって起こること、2) 視覚刺激の入力から 8 時間以内に性行動の転換、12 時間以内に生殖腺における生殖腺刺激ホルモン受容体遺伝子の急激なシフトが起こることを明らかにした。オキナワベニハゼは、性転換の分子メカニズム、性的可塑性の分子基盤を明らかにするための優れた研究モデルとなる。

また我々は、生殖細胞の起源や分化の問題についても研究を進めており、生殖細胞に特異的発現を示す *Vasa* や *Nanos* 遺伝子を利用して“光る生殖細胞”をもつトランスジェニックメダカを世界に先駆けて作製することにも成功した（文献 4）。

### 配偶子形成

**ゴナドトロピン放出ホルモン**：配偶子形成と性行動はともに、脳内で合成されるゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）のはたらきにより引き起こされる。我々は、GnRH を産生するニューロンを可視化したトランスジェニックメダカを作製することに成功し、同ニューロンの発生機構を *in vivo* で解析することが可能になった。その結果、成体の視索前野と終神経節に見られる GnRH ニューロンは、初期発生過程で鼻部から移動していくこと、終脳腹側の GnRH ニューロンは終脳前端部から移動していくことが明らかとなった。また、初期胚においては母性由来の GnRH が多く存在することが明らかとなった（図 2）。

**卵の成熟**：先に我々が脊椎動物で最初にサケ科魚類アマゴ (*Oncorhynchus rhodurus*) の卵巣から単離、同定した  $17\alpha, 20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン ( $17\alpha, 20\beta$ -DP) は、今では多くの魚類で共通の卵成熟誘

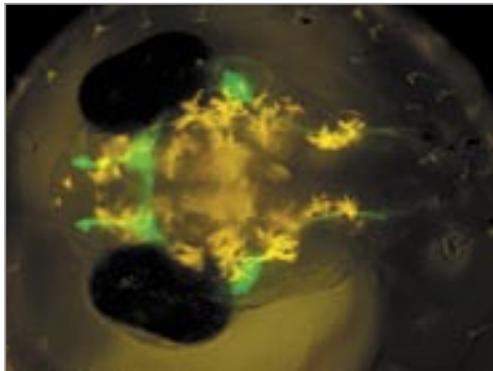


図2. トランスジェニックによって GnRH 産生ニューロン（緑色）を可視化したメダカ胚

起ホルモンとして知られる。 $17\alpha,20\beta$ -DP は、生殖腺刺激ホルモン (GTH) の作用で、卵成熟期の濾胞組織を構成する莢膜細胞と顆粒膜細胞の協同作用 (2 細胞型モデル) によりつくられ、卵表に作用して卵成熟を誘起する (文献 3)。このように  $17\alpha,20\beta$ -DP はステロイドでありながら、膜受容体を介して作用することが特徴であり、すでに新規の 7 回膜貫通型膜受容体遺伝子がその有力候補としてクローニングされた。 $17\alpha,20\beta$ -DP が卵表に作用すると卵内に新しく卵成熟促進因子 (MPF, cdc2 キナーゼとサイクリンとの複合体) が形成される。キンギョ (*Carassius auratus*) の未成熟卵には cdc2 キナーゼのみが存在し、サイクリン B は卵に  $17\alpha,20\beta$ -DP が作用して後に新しく合成される。サイクリン B mRNA は未成熟卵中にすでに存在し、 $17\alpha,20\beta$ -DP はその翻訳を開始させる。MPF は受精時に不活性化されるが、この際のサイクリン B の分解に、活性型多機能性ブロテアソームが関与する (文献 2)。

最近の研究から、内分泌かく乱物質の一種である DES が  $17\alpha,20\beta$ -DP と同じく膜受容体を介して卵成熟を誘起させることが明らかになった (文献 6)。

**精子の形成と成熟：**日本産ウナギ (*Anguilla japonica*) の未成熟精巣を利用した器官培養系 (精原細胞から精子に至る全精子過程を試験管の中で再現できる世界で唯一の *in vitro* 実験系) を駆使して、精子形成開始の分子力スケードをついた (文献 1)。引き続き、ウナギ精巣を用いたホルモンによる精子形成誘起系を駆使して、精子形成の開始と進行、さらには減数分裂移行を制御する細胞周期関連遺伝子 (特に、サ

イクリン A, B, E 型) を解析している。

**ヒトデの生殖腺刺激ホルモン：**我々は三田雅敏助教授 (帝京大学理工学部) との共同研究により、イトマキヒトデ (*Asterina pectinifera*) の放射神経から生殖巣刺激物質 (GSS) を精製し、その化学構造を決定した。ヒトデの GSS は、分子量 4737 で、2 本のペプチド鎖 (24 アミノ酸の A 鎖と 19 アミノ酸の B 鎖) からなるヘテロダイマーであり、脊椎動物の生殖腺刺激ホルモンとはまったく異なる化学構造を示す。化学合成した A 鎖と B 鎖をジスルフィド結合によりダイマー化させた合成ペプチドをヒトデに投与することで卵成熟と放卵が誘起されたことから、GSS がヒトデの生殖腺刺激ホルモンであることが確かめられた。GSS は無脊椎動物で単離、同定された最初の生殖腺刺激ホルモンである。

#### 参考文献

1. Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., and Nagahama, Y. (1991). Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in vitro in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 5774-5778.
2. Tokumoto, T., Yamashita, M., Tokumoto, M., Katsu, Y., Horiguchi, R., Kajiiura, H., and Nagahama, Y. (1997). Initiation of cyclin B degradation by the 26S proteasome upon egg activation. *J. Cell Biol.* **22**, 1313-1322.
3. Guan, G., Todo, T., Tanaka, M., Young, G., and Nagahama, Y. (2000). Isoleucine-15 of rainbow trout carbonyl reductase-like 20 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase is critical for coenzyme (NADPH) binding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 3079-3083.
4. Tanaka, M., Kinoshita, M., Kobayashi, D., and Nagahama, Y. (2001). Establishment of medaka (*Oryzias latipes*) transgenic lines with the expression of green fluorescent protein fluorescence exclusively in germ cells: A useful model to monitor germ cells in a live vertebrate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 2544-2549.
5. Matsuda, M., Nagahama, Y., Shinomiya, A., Sato, T., Matsuda, C., Kobayashi, T., Morrey, C.E., Shibata, N., Asakawa, S., Shimizu, N., Hori, H., Hamaguchi, S., and Sakaizumi, M. (2002). A Y-specific, DM-domain gene, *DMY*, is required for male development in the medaka (*Oryzias latipes*). *Nature* **417**, 559-563.
6. Tokumoto, T., Tokumoto, M., Horiguchi, R., Ishikawa, K., and Nagahama, Y. (2004). Diethylstilbestrol induces fish oocyte maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 3686-3690.

#### STAFF



長濱 嘉孝  
教授



吉国 通庸  
助教授



大久保範聰  
助手



BASU, Dipanjan  
研究員

#### 技術課技術職員

小林 弘子

さきがけ研究員

松田 勝

博士研究員

井尻 成保

酒井 章衣

司馬 桂君

柴田 安平

太田 幸平

鈴木 伸矢

宇佐 美剛

金子 志裕

王 德壽  
劉 恩良  
PAUL, Bindhu  
易 梅生  
BHANDARI, Ramji Kumar  
CHAUBE, Radha

総合研究大学院大学院生

大室(松山)有紀

栗田加代子

周 林燕

技術支援員

高木千賀子

早川 利枝

#### 平川 恵里 原 郁代 柴田 恵美子

事務支援員

嶋田 ゆう

#### 個別研究



大野 薫  
助手



**生**殖腺（精巣と卵巣）は動物の生殖活動にとって不可欠な組織であり、その機能は視床下部・脳下垂体・性腺から構築される功妙な内分泌系によって調節されている。この内分泌系における生殖腺機能の調節は極めて重要で、動物個体の性分化に密接に関わる。性差生物学研究部門では、生殖腺で発現する遺伝子に着目し、その発現調節機構を明らかにすることで生殖腺における性分化機構、ならびに動物個体の性分化機構の解明を目指している。

### 生殖腺の形成と機能に必要な因子

我々は生殖腺の形成と機能維持に不可欠な転写因子として Ad4BP/SF-1 を同定し、その転写調節機構を研究してきた。生殖腺の形成には Ad4BP/SF-1 以外にも Dax-1, Sox9, Emx2, M33 などの転写制御因子が不可欠であるが、これらの因子がいかなる相互関係のもとに生殖腺の形成に関与するかについては不明の点が多かった。そこで、性分化前後のマウス生殖腺から作製した cDNA ライブラリーを用い、これらの転写因子と相互作用する因子をツーハイブリッド法で検索した。このスクリーニングで得られた因子には種々の転写因子や、転写のコファクター、細胞増殖因子からのシグナル伝達に必要な因子などが存在した。これまでに得られた因子の解析を進めてきたが、その結果 Dax-1 は Ad4BP/SF-1 との相互作用を通じて転写を抑制すること、また  $\beta$ -catenin は Ad4BP/SF-1 との相互作用を通じて転写活性を上昇させることで、Wnt シグナルによる転写の活性化を調節することなどを明らかにした。また、同様のスクリーニングによってホメオボックスを有する転写因子 Arx が単離されていた。この因子はライディッヒ細胞自身には発現しないが、胎仔精巣のライディッヒ細胞の分化を調節することから、ライディッヒ細胞の分化メカニズムを理解する上で興味深い因子である。これらの転写関連因子とは異なり SUMO (small ubiquitin-related modifier) 化修飾関連因子が相互作用することから、Ad4BP/SF-1 の SUMO 化について検討した。興味深いことに Ad4BP/SF-1 は Sox9 と同様に SUMO 化され、その結果 Ad4BP/SF-1 と Sox9 との協調的な転写活性が抑制されることが示された。SUMO 化による転写調節機構の解析は現在も継続中であり、SUMO 化 Ad4BP/SF-1 を特異的に認識する因子の単離、更にこの因子を取り巻く複合体の精製を

[www.nibb.ac.jp/celdif](http://www.nibb.ac.jp/celdif)

## 性差生物学研究部門

行っている。これらの解析から SUMO 化修飾の生物学的意義が明らかになるものと期待している。

これらの転写関連因子以外に、やはりツーハイブリッドスクリーニングによって得られた、MAPK カスケード調節因子の解析を行ってきた。この因子は Vinexin と呼ばれ、その C- 末側には 3 つの SH3 ドメインが存在する。Vinexin には複数のスプライシングバリエントが知られていたが、我々が同定した新たなアイソフォーム Vinexin- $\gamma$  は比較的特異的に胎仔生殖腺に発現していた。そこでこの因子が生殖腺の分化ならびに性分化の過程で重要な機能を有すると予想し、Vinexin- $\gamma$  遺伝子のみを破壊したマウスを作製し、その影響を検討した。しかしながら、期待に反して雌雄ともに妊性を有しており、生殖腺には顕著な形態的異常は観察できなかった。そこで胎仔生殖腺のマーカー遺伝子の発現を詳細に検討したところ、雄のマーカー遺伝子である Sox9 の発現が減少していることが明らかになった（図 1）。

しかしながらこの減少は生殖腺が性的に分化する時期になると次第に消失し、全ての XY 個体が正常に精巣を分化さ

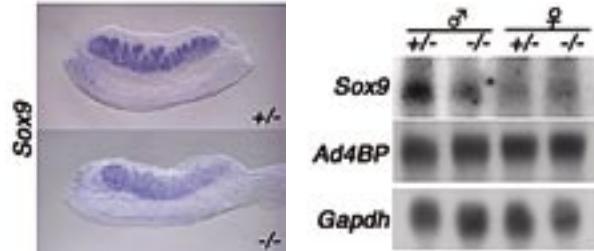


図 1. Vineixin- $\gamma$  遺伝子破壊マウスにおける Sox9 の発現  
個体差はあるが Vineixin- $\gamma$  遺伝子破壊マウス (-) では、野生型ならびにヘテロ (+/-) に比べ Sox9 の発現が減少している。

せるのである。これまでのところ、いかなるメカニズムのもとに Sox9 の一過性の消失がもたらされるのかは不明であるが、一方で本因子が Raf や ERK との相互作用を通じて MAPK カスケードを調節していることを明らかにした。性分化時期の生殖腺では、MAPK カスケードが雄生殖腺でより強く活性化されていることから、Vinexin- $\gamma$  遺伝子破壊マウスでの Sox9 遺伝子の発現低下は妥当な結果と言えるかもしれない。しかしながら、その低下が一過性のものであるためには Vinexin- $\gamma$  による調節を補う機構があることを示唆するものであり、その詳細は今後の課題である。

## 生殖腺でのダイオキシンレセプターの役割

ダイオキシンは種々の強力な毒性を示す化学物質として現代社会に登場した。最近になって、ダイオキシンが内分泌かく乱物質として生殖毒性を示すことが指摘されてきたが、そのメカニズムは不明であった。我々はダイオキシン受容体遺伝子破壊マウスの雌が高頻度に不妊になることに着目し、そのメカニズムを解析した。その結果、ダイオキシン受容体遺伝子破壊雌マウスには性周期の乱れと排卵数の減少が認められた。そこでホルモン処理によって排卵を誘発したが、やはり排卵数は減少したままであった。ところが、この処理と同時に女性ホルモン（エストロジエン）を投与すると排卵数の増加が観察された。この結果はエストロジエン産生能の低下を示唆したため、卵巣におけるエストロジエン濃度を測定したところ、確かにダイオキシン受容体遺伝子破壊雌マウスの卵巣ではエストロジエン濃度が顕著に減少していることが明らかになった。エストロジエンはコレステロールを出発物質として数段階の反応を経て合成される。そこで、これらの反応に関わる遺伝子の発現を検討したところ、興味深いことにエストロジエン産生の最終ステップの反応を担うアロマターゼ遺伝子の発現に異常が認められた。正常マウスにおいては卵成熟の末期にアロマターゼの発現が上昇する。これに対し、遺伝子破壊マウスではその上昇が認められなかったのである。これらの結果をもとにアロマターゼ遺伝子の転写制御機構を調べたところ、実際にダイオキシン受容体が生殖腺の形成に不可欠とされる Ad4BP/SF-1 とともにアロマターゼ遺伝子の転写を活性化すること、また卵巣細胞においてこれらの因子が相互作用し、かつアロマターゼ遺伝子上に結合していることなどが明らかになった（図2）。すなわち、ダイオキシン受容体はリガンドの存在下にエストロジエン産生の上昇を引き起こすことで、本来エストロジエンがない時期に高濃度のエストロジエンを供給するのである。このメカニズムは、従来内分泌かく乱物質がエストロジエン受容体と結合することでエストロジエン様作用を引き起こすと理解されてきたものとは全く異なる新たなメカニズムとして注目されるとともに、これまで不明であったダイオキシン受容体の生物学的意義を明らかにした成果として注目される。

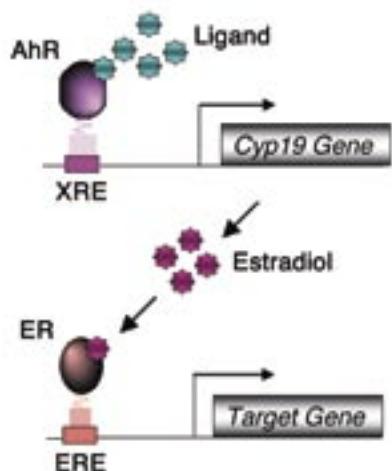


図2. ダイオキシンの生殖毒性

ダイオキシン (Ligand) は受容体 (AhR) と結合し、アロマターゼ遺伝子 (CYP19) を活性化することで、エストロジエン (Estradiol) 量を上昇させる。エストロジエンは受容体 (ER) と結合し、標的遺伝子 (Target Gene) の転写を活性化させる。

### 参考文献

1. Honda, S., Morohashi, K., Nomura, M., Takeya, H., Kitajima, M., and Omura, T. (1993). Ad4BP regulating steroidogenic P-450 gene is a member of steroid hormone receptor superfamily. *J. Biol. Chem.* 268, 7494-7502.
2. Morohashi, K., and Omura, T. (1996). Ad4BP/SF-1, a transcription factor, essential for the transcription of steroidogenic cytochrome P450 genes and for the establishment of the reproductive function. *FASEB J.* 10, 1569-1577.
3. Kitamura, K., Yanazawa, M., Sugiyama, N., Miura, H., Iizuka-Kogo, A., Kusaka, M., Suzuki, R., Kato-Fukui, Y., Kamiirisa, K., Omichi, K., Kasahara, M., Yoshioka, H., Ogata, T., Fukuda, T., Kondo, I., Kato, M., Dobyns, W.B., Yokoyama, M., and Morohashi, K. (2002). Mutations of Arx/ARX cause abnormal migration and differentiation of GABAergic interneurons and abnormal development of testes in mice, and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans. *Nature Genet.* 32, 359-369.
4. Suzuki, T., Kasahara, M., Yoshioka, H., Morohashi, K., and Umesono, K. (2003). LXXLL motifs in Dax-1 have target specificity for the orphan receptors Ad4BP/SF-1 and LRH-1. *Mol. Cell Biol.* 23, 238-249.
5. Mizusaki, H., Kawabe, K., Mukai, T., Ariyoshi, E., Kasahara, M., Yoshioka, H., Swain, A., and Morohashi, K. (2003). Dax-1 gene transcription is regulated by Wnt4 in the female developing gonad. *Mol. Endocrinol.* 17, 507-519.
6. Komatsu, T., Mizusaki, H., Mukai, T., Ogawa, H., Baba, T., Shirakawa, M., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Yamamoto, H., Kikuchi, A., and Morohashi, K. (2004). SUMO-1 modification of the synergy control motif of Ad4BP/SF-1 regulates synergistic transcription between Ad4BP/SF-1 and Sox9. *Mol. Endocrinol.* 18, 2451-2462.

### STAFF



諸橋憲一郎  
教授



福井由宇子  
助手



小川英知  
助手



土屋恵  
研究員

技術課技術職員  
岡早苗

博士研究員  
MOHAMAD, Zubair

馬場崇

小松朋子

嶋雄一

総合研究大学院大学院生

日下雅友

Fatchiyah

佐藤優子  
山田誠

特別共同利用研究員  
宮林香奈子

幸田龍紀

技術支援員  
大脇亜希子

石川あすか

小池ゆかり

郷野弘江

富田早苗

技術支援員  
杉浦未央



[www.nibb.ac.jp/morphgen](http://www.nibb.ac.jp/morphgen)

## 形態形成研究部門

**動**物はひとつの受精卵が細胞分裂を繰り返して細胞の数を増やし、それぞれの細胞の性質を変えながら、生物として固有の形づくり（形態形成）を行う。その過程には細胞同士のコミュニケーション、すなわち細胞間相互作用が必須であることが知られている。細胞間相互作用には細胞増殖因子が介在し、シグナル伝達系を介して転写調節因子の働きを調節することによって細胞分化、細胞運動をダイナミックに制御する。我々はこの過程をプログラムとして理解し、動物種間で比較することによって、形態形成メカニズムの共通性、多様性に迫りたいと考えている。

### 原腸形成の分子機構

原腸形成は生物の形づくりの根幹をなす必須の生命現象である。原腸形成は単に腸を形成するための細胞運動ではなく、そのダイナミックで協調した細胞運動によって三胚葉をその後の形態形成のために正しく配置させ、球形の受精卵を頭尾軸に伸長した形態へと導く。この細胞運動は収斂と伸長 (convergent extension) という細胞運動からなることが知られている。胚の側方（左右）から細胞が正中線に向かって収斂し、左右からの細胞が互いに挿入し合うこと (intercalation) が前方に向かって伸長する原動力となる。これらの細胞運動はどのように制御されているのか、細胞自律的なプログラムなのか、細胞外からの刺激によるものなのか、その分子機構についてはいまだに不明な点が多い。しかし最近、これらの細胞運動の分子機構が少しずつではあるが解明されつつあり、原腸形成運動は、細胞に組み込まれた自律的プログラムと言うよりはむしろ、細胞外シグナルを受けて、それに応答した細胞が正中線に向かって移動する運動であることがわかつてきた。Wnt は Frizzled ファミリーの 7 回膜貫通型受容体を介してシグナルを細胞内に伝達するが、そのシグナル伝達経路は  $\beta$  カテニン依存的経路と非依存的経路に分類できる。原腸形成は Wnt11 を引き金とする後者によって制御されていることもわかりつつある。興味深いことにこの伝達経路は、ショウジョウバエの翅の細胞における平面細胞極性 (PCP) の決定に関わるシグナル伝達経路と極めて相同性が高く、脊椎動物の原腸形成においても細胞の極性決定が細胞形態の変化や運動の基盤となっていることが示唆されている。実際に、我々はショウジョウバエ PCP 遺伝子の *prickle*

相同遺伝子 XPK が脊椎動物にも存在し、アフリカツメガエルの原腸形成に必須の役割を担っていることを明らかにした（文献 4）。また、これまで原腸形成運動における  $\beta$  カテニン非依存的 Wnt 経路の必要性は報告されていたが、その役割については不明であった。我々は胚の細胞において Wnt シグナルがアクチン細胞骨格に作用し、突起形成など細胞運動に関わる活動に重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、原腸形成運動における細胞接着や細胞突起形成の基礎となる細胞表層アクチンが、胚の細胞においてアクチン結合タンパク質 MARCKS (myristoylated alanine-rich C kinase substrate) によって維持されており、それによって Wnt シグナルによる細胞運動制御が可能となることを示した（文献 7）。さらにマイクロアレイや発現クローニング法によって原腸形成運動を制御する新規因子を同定し、その機能解析を行っている。最近、Neurotrophin Receptor Homolog (NRH) が細胞のフィロポディア形成を促進し（図 1）、原腸形成運動に必須であることを明らかにした（文献 8）。

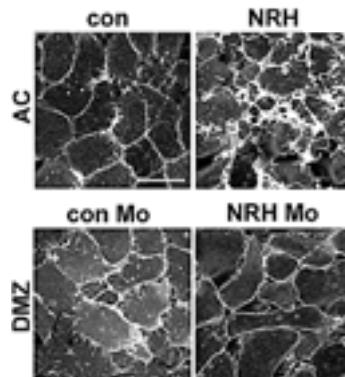


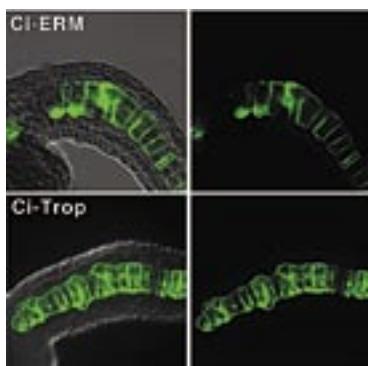
図 1. NRH はフィロポディア形成を介して原腸形成運動を制御する

通常フィロポディアを形成しない外胚葉 (AC) に NRH を過剰発現するとフィロポディア形成が促進される (NRH)。逆に背側中胚葉細胞 (DMZ) で NRH モルフォリノオリゴ (NRH Mo) を顕微注入すると、フィロポディア形成が阻害され、原腸形成が異常になる。

### 脊索形成の分子機構

脊索はその名の由来が示すように脊索動物を特徴付ける最も重要な形質である。個体発生学的にみて初期発生過程の原腸形成運動を担い神経誘導を引き起こす器官として、また系統発生学的にみて脊索動物門に含まれる動物群を特徴づける最も顕著な形質として、発生学上非常に重要な器官であるといえる。原始的な脊索動物である尾索類ホヤは原腸胚期から尾芽胚期にかけて、オタマジャクシ型幼生の尾部中央にわずか 40 個の脊索細胞が収斂と伸長の細胞運動により一列に並ぶ。これまでに、我々はカタユウレイボヤ脊索特異的遺伝子約 40 を転写因子 *Brachyury* 下流遺伝子群から単離してきた。これら遺伝子の脊索形成過程における機能を明らかにするために脊索特異的に発現する EGFP 発現ベクターとともに、脊索で特異的に発現する約 40 種類の遺伝子の Morpholino アンチセンスオリゴをカタユウレイボヤ受精卵に顕微注入して脊索形成過程における遺伝子機能を解析している。また、

各脊索特異的遺伝子と EGFP との融合タンパク質を脊索細胞で特異的に発現させ脊索細胞内での分子挙動を解析している(図 2)。脊索形成過程の各ステップにおいて働く遺伝子の機能を明らかにすることから、脊索がつくられていく分子的基盤を明らかにすることを試みている。また、この原始的な



脊索動物であるホヤの脊索形成過程を解析することは、脊索動物の起源と進化を明らかにする道にもつながると考えている。

図 2. ホヤ幼生の脊索特異的に発現する遺伝子産物の細胞内局在

タンパク質はショウジョウバエ唾液腺染色体の特定のバンドに結合している(図 3)ことから、他の Trx グループ因子と協調して遺伝子発現制御に関わっていることが推察された。しかしながら、TNA/TONAS が Trx グループの機能に必須であるのか、または部分的な調節機構を担っているのかは分かっていない。また、タンパク質の SUMO 化修飾が Trx グループの機能、およびエピジェネティック制御にどのように関わっているのかは、今のところ全く未知の問題である。今後も、ショウジョウバエを用いた遺伝学的解析とヒト培養細胞を用いた解析から、これらの問題にアプローチしていく予定である。

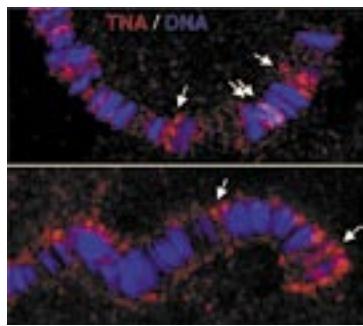


図 3. ショウジョウバエ唾液腺染色体に於ける TNA タンパク質の局在  
TNA が結合している染色体バンドの一部を矢印で示す。  
TNA(赤)、DNA(青)

## エピジェネティック制御因子 Tna/TONAS の解析

高等動物の遺伝子発現の一部は、クロマチンの高次構造変化を伴う機構、すなわち、エピジェネティックな機構により制御されている。エピジェネティック制御に関与する代表的な遺伝子群として、*Trithorax* (Trx) グループと *Polycomb* (Pc) グループ遺伝子群が知られており、どちらもショウジョウバエの遺伝学的な解析から見いだされたものである。Trx グループは各種 *Hox* 遺伝子の発現維持に対して正に、Pc グループはこれとは逆に負に働いていることが知られている。これらは、何れも脊椎動物まで広く保存されており、動物の形態形成機構に深く関与している。

我々はショウジョウバエの翅形成に関与する遺伝子の遺伝学的スクリーニングから、Trx グループに属する変異体 *tonalli* (*tna*) を単離した。*tna* は脊椎動物まで保存された分子で、ヒト、マウスには 2 種類の *tna* ホモログ (TONAS-1, TONAS-2) が存在する。TNA および TONAS タンパク質は、約 1000-1100 アミノ酸からなる核タンパク質で、SP-RING と呼ばれるモチーフを中央部分に持っている。SP-RING はタンパク質の SUMO 修飾に関与する機能ドメインであることが知られている。実際に TONAS の SUMO 化 E3 活性を調べてみると、TONAS がそれ自身を基質として、SUMO 化を促進する活性があることが明らかになった。また、TNA

### 参考文献

1. Takahashi, H., Hotta, K., Erives, A., Di Gregorio, A., Zeller, R. W., Levine, M., and Satoh, N. (1999). Brachury downstream notochord differentiation in the ascidian embryo. *Genes Dev.* 13, 1519-1523.
2. Morita, K., Flemming, A. J., Sugihara, Y., Mochii, M., Suzuki, Y., Yoshida, S., Wood, W. B., Kohara, Y., Leroi, A. M., and Ueno, N. (2002). A *Caenorhabditis elegans* TGF-beta, DBL-1, controls the expression of LON-1, a PR-related protein, that regulates polyploidization and body length. *EMBO J.* 21, 1063-1073.
3. Ohkawara, B., Yamamoto, T. S., Tada, M., and Ueno, N. (2003). Role of glypican 4 in the regulation of convergent extension movements during gastrulation in *Xenopus laevis*. *Development* 130, 2129-2138.
4. Takeuchi, M., Nakabayashi, J., Sakaguchi, T., Yamamoto, T. S., Takahashi, H., Takeda, H., and Ueno, N. (2003). The prickle-related gene in vertebrates is essential for gastrulation cell movements. *Curr. Biol.* 13, 674-679.
5. Kurata, T., and Ueno, N. (2003). *Xenopus Nbx*, a novel NK-1 related gene essential for neural crest formation. *Dev. Biol.* 257, 30-40.
6. Kinoshita, N., Iioka, H., Miyakoshi, A., and Ueno, N. (2003). PKC delta is essential for Dishevelled function in a noncanonical Wnt pathway that regulates *Xenopus* convergent extension movements. *Genes Dev.* 17, 1663-1676.
7. Iioka, H., Ueno, N., and Kinoshita, N. (2004). Essential role of MARCKS in cortical actin dynamics during gastrulation movements. *J. Cell Biol.* 164, 169-174.
8. Chung, H. A., Hyodo-Miura, J., Nagamune, T., and Ueno, N. (2005). FGF signal regulates gastrulation cell movements and morphology through its target *NRH*. *Dev. Biol.* in press.

### STAFF



上野 直人  
教授



木下 典行  
助教授



中村 真  
助手



高橋 弘樹  
助手



飯岡 英和  
研究員

### 技術課技術職員

#### 高木 知世

#### 博士研究員

#### 三浦 純子

#### 田尾 嘉誉

#### 総合研究大学院大学院生

#### 宮越 陽

#### 前田 昌人

#### 鯨岡 昌裕

#### LEE, Rebecca

### 進藤 麻子

#### 寺坂 知恵

#### 柴本佳緒里

#### 浅野 恵

#### 特別共同利用研究員

#### 鄭 恵英

#### 吉兼 奈美

#### 事務支援員

#### 三宅 智子

#### 柘植 豊子

#### 技術支援員

#### 山本 隆正

#### 市川真理子

#### 高松 香

#### 山田 成宏

#### 谷山 和美



寸の虫にも生殖細胞がある。次代に生命を残すためには卵や精子などの生殖細胞が必要である。一方、体細胞と呼ばれる細胞は、筋肉や神経などの体のパートを作り上げ、個体の生存を支えている。しかし、体細胞はやがて個体の死とともにその役割を終えてしまう。このように運命が大きく異なる生殖細胞と体細胞は、1つの受精卵の細胞分裂により生み出された姉妹同士である。では、どのように生殖細胞への発生運命が決定されるのか？それを解明するのが私たちの課題である。多くの動物で生殖細胞の形成に関わる因子が卵の一部の細胞質に局在することが明らかになっており、この細胞質を取り込んだ細胞が生殖細胞に、取り込まれなかつた細胞が体細胞になることが知られている。そので解析が進んでいるショウジョウバエでは、生殖細胞の分化に関わる因子が卵の後極の細胞質（極細胞質）に局在することが示されている（図1）。当研究室では、生殖細胞の形成に関わる因子を同定し、その機能解析を以下のように行なっている。

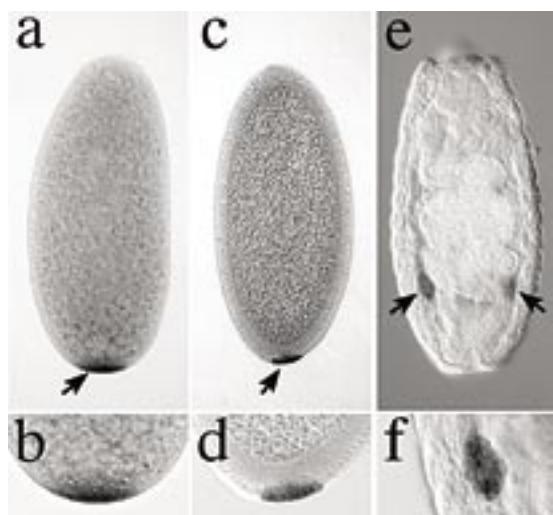


図1. ショウジョウバエ胚における生殖細胞形成過程

卵割期胚の後極の極細胞質（a 中の矢印）は、胚期に極細胞中に取り込まれる（c 中の矢印）。極細胞は、やがて生殖巣中に移動し（e 中の矢印）、成虫の生殖巣中で配偶子形成過程を経た後、卵や精子に分化する。

## 発生遺伝学研究部門

### 極細胞の形成に関わる因子の解析

胚発生過程の初期に形成される極細胞と呼ばれる細胞が、ショウジョウバエにおいて生殖細胞に分化できる唯一の細胞である（図1）。極細胞形成因子の一つとして、ミトコンドリア large ribosomal RNA (mtlrrRNA) が同定されている。ミトコンドリア内で転写される mtlrrRNA は、極細胞質中でミトコンドリアから極細胞質中にのみ観察される極顆粒と呼ばれる構造物に移送され、極細胞形成に関与した後に分解されることを明らかにした。さらに、mtlrrRNA が、ミトコンドリア small ribosomal RNA (mtrsRNA) とともにミトコンドリア・タイプのリボソームを極顆粒上で形成すること、このリボソームによる翻訳が極細胞形成に必要なことも明らかとなった。現在、このリボソーム上で翻訳される mRNA の同定をおこなっている。

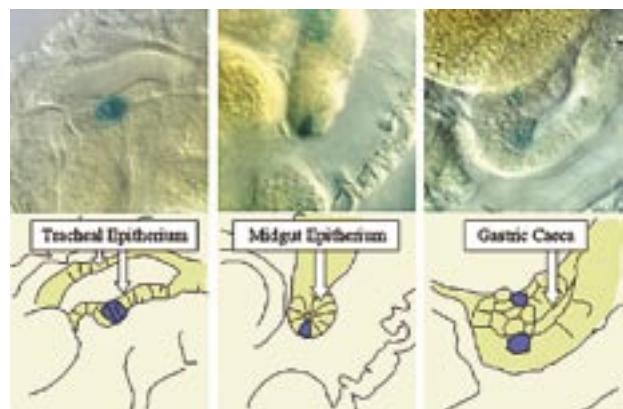


図2. Nanos プロテインを欠く極細胞の発生運命

Nanos を欠く極細胞はアポトーシスをおこす。そこで、アポトーシスに必要な遺伝子の機能を欠き（H99 領域の欠失突然変異）、かつ Nanos をも欠く極細胞を正常胚に移植し、発生運命を調べたところ、体細胞に分化することが明らかとなった。図中、青く染色されているのが移植した極細胞。本来極細胞は丸い形をしているが、それぞれの体細胞組織に取り込まれた極細胞は、周囲の体細胞と同様の形態をとる。また、それら極細胞は、体細胞の分化マーカーを発現することも明らかとなっている。

### 極細胞の分化過程に関する因子の解析

正常な発生過程において、形成された極細胞は、生殖巣へと移動し、生殖巣中で卵や精子である生殖細胞に分化する。この極細胞の分化過程に関わる分子の一つとして Nanos と呼ばれるタンパク質が知られている。Nanos は、極細胞質に分布し、極細胞に取り込まれるという挙動を示す。極細胞中で、Nanos は、特定の mRNA の翻訳を抑制する働きを持つ。Nanos により翻訳が抑制される mRNA の一つとして、Importin  $\alpha$  2 タンパク質をコードする mRNA を同定した。

Nanos は、転写因子の核移行に関わる Importin  $\alpha$  2タンパク質の合成を抑制することにより、極細胞の転写活性を低くおさえている。Nanos を欠如させた極細胞中では、本来体細胞で発現し体細胞の分化に関わる遺伝子が異所的に活性化し、実際に体細胞に分化することも明らかとなった（図2）。生殖細胞には、体細胞に分化しないように、遺伝子発現をサイレントな状態に維持する機構が備わっていると長い間考えられてきたが、その機能の一端を担う分子が Nanos であった。Nanos は、極細胞の細胞死、さらに極細胞が体細胞に分化することを抑制することで、極細胞の分化過程を正常に進行させる働きがある。

## 生殖細胞としての決定に関わる因子の解析

以上の結果は、Nanos タンパク質以外に、極細胞を生殖細胞に分化させるように決定する母性因子が存在することを示している。おそらく、この因子は、極細胞中で、生殖細胞としての特質を決定する機能を持つと予想できるが、現在のところ、このような因子は明らかになっていない。

生殖細胞としての決定に関わる母性因子は、mRNA として極細胞質に局在し、極細胞内に取り込まれた後に生殖細胞特異的な遺伝子の発現を引き起こすと考えられている。そこで、胚発生過程を8つの時期に分割し、それぞれの発生ステージごとに、セルソーターを用いて極細胞のみを単離した。これら極細胞から抽出した RNA と全胚から抽出した RNA とを DNA マイクロアレイで比較することにより、極細胞に enrich している転写産物を同定することを試みている。現在までに、1) コントロールとして用いた全胚から抽出した RNA に比べ、極細胞中の RNA をプローブとして用いたときのシグナル強度が4倍以上の転写産物は、全ステージをまとめると約 500 存在すること、2) このように極細胞中で特に発現が高い遺伝子は、胚発生の中期から後期にかけて極細胞中で発現するもの（胚性遺伝子）（約 300 遺伝子）、初期の極細胞中に取り込まれる母性 mRNA をコードするもの（母性遺伝子）（約 180 遺伝子）、さらに母性／胚性発現により極細胞中に常に検出される mRNA をコードするもの（約 60 遺伝子）に分けられることが明らかとなった（図3）。現在、これら転写産物の機能解析を開始している。

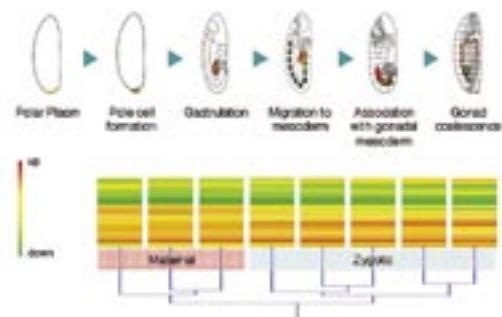


図3. マイクロアレイ解析の結果

胚発生過程（模式図を上段に示す）を8つの段階に分割し、それぞれの胚から RNA を抽出したのちプローブとして用いた。下段は、マイクロアレイの結果をまとめたものである。それぞれのステージでの全遺伝子の発現パターンをクラスタリングの手法で比較したところ、1～3のグループと4～8のグループに大きく分けることができた。これは、前者が極細胞に取り込まれた母性 RNA によるもので、後者は極細胞中における胚性の遺伝子発現によるものと考えられる。

### 参考文献

1. Kobayashi, S., Amikura, R., and Okada, M. (1993). Presence of mitochondrial large ribosomal RNA outside mito-chondria in germ plasm of *Drosophila melanogaster*. *Science* 260, 1521-1524.
2. Kobayashi, S., Yamada, M., Asaoka, M., and Kitamura, T. (1996). Essential role of the posterior morphogen nanos for germline development in *Drosophila*. *Nature* 380, 708-711.
3. Nakamura, A., Amikura, R., Mukai, M., Kobayashi, S., and Lasko, P. F. (1996). A non-coding RNA component of *Drosophila* polar granules required for germ cell establishment. *Science* 274, 2075-2079.
4. Iida, T., and Kobayashi, S. (1998). Essential role of mitochondrially-encoded large rRNA for germ line formation in *Drosophila* embryos. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 11274-11278.
5. Mukai, M., Kashikawa, M., and Kobayashi, S. (1999). Induction of *indora* expression in pole cells by the mesoderm is required for female germ-line development in *Drosophila melanogaster*. *Development* 126, 1023-1029.
6. Asaoka-Taguchi, M., Yamada, M., Nakamura, A., Hanyu, K., and Kobayashi, S. (1999). Maternal Pumilio acts together with Nanos in germline development in *Drosophila* embryos. *Nat. Cell. Biol.* 1, 431-437.
7. Amikura, R., Kashikawa, M., Nakamura, A., and Kobayashi, S. (2001). Presence of mitochondrial-type ribosomes outside mitochondria in germ plasm of *Drosophila* embryos. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 9133-9138.
8. Tsuda, M., Sasaoka, Y., Kiso, M., Abe, K., Haraguchi, S., Kobayashi, S., and Saga, Y. (2003). Conserved role of nanos proteins in germ cell development. *Science* 301, 1239-1241.
9. Hayashi, Y., Hayashi, M., and Kobayashi, S. (2004). Nanos suppresses somatic cell fate in *Drosophila* germ line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 10338-10342.

### STAFF



小林 悟  
教 授



向 正則  
助 手



重信 秀治  
助 手



有田 佳代  
研究員

### 技術課技術職員

野田 千代

### 前澤 孝信

技術支援員

植田 佳子

博士研究員

佐藤 仁泰

土屋 直美

林 良樹

佐藤 香織

### 総合研究大学院大学院生

北館 祐

### 事務支援員

林 誠

本多 聰子

谷津 潤



細胞生物の発生が魅力的である理由の一つは、たった1個の受精卵が刻々と変化することによって高度に複雑化した組織や個体が形成されるダイナミズムにある。そこでは時間的にも空間的にもよく制御された一連の現象が秩序立って刻々と進行する。このような見事な制御はどのようにしてなされるのであろうか。私たちは体節形成という現象と細胞間情報伝達という分子機構に焦点を当て、そのしくみの一端を垣間見ようとしている。

### 脊椎動物の体節形成機構の解析

脊椎動物の体節は筋肉、骨、真皮のもととなるブロック状の組織であり、体幹部の左右に対をなす(図1)。マウスでは60対以上の体節が、頭部側から尾部側にかけて逐次、一定のインターバルのもとに形成されていく。このように体節形成はダイナミックなプロセスであるが、個々の体節ユニットが時間経過とともに順次形成されていく仕組みは、すでにその理解が進んでいる多くの発生現象には認められていない独特なものである。

本部門では体節の形成とその制御の機構を解明することを目的に、そこに関与する遺伝子の探索と機能解析を小型魚類ゼブラフィッシュを用いた次の2つのアプローチにより行っている。一つは未分節中胚葉に発現する遺伝子の探索とその機能解析である。我々はこれまでに *in situ hybridization* により、ゼブラフィッシュの体節前駆細胞に特異的に発現す

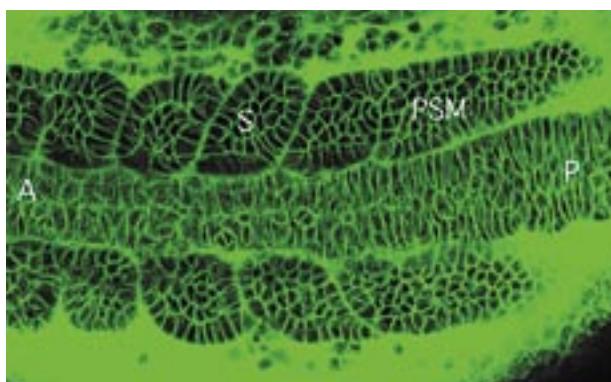


図1. ゼブラフィッシュの体節

体節(S)は尾部側(図の右側)にある未分節中胚葉(PSM)が逐次くびれ切れることにより形成される。A,Pは各々頭部側、尾部側を表す。

[www.nibb.ac.jp/cib2](http://www.nibb.ac.jp/cib2)

## 分子発生学研究部門

る遺伝子を数多く同定し、その機能解析を行ってきた(図2)。その一つの成果として、体節の周期性を確立する上で鍵を握る分子の一つ *her13.2* を発見している。体節の周期性の確立には分節時計と呼ばれる Notch シグナル伝達系と転写因子 Hairy(*her1,her7*)から形成される負のフィードバックループが中心的な役割を果たしており、その維持は Fgf や Wnt などの分泌性シグナルにより行われている。我々は、FGF シグナルが *her13.2* 遺伝子の発現を誘導することを介して分節時計の維持を行っていることを示し、*her13.2* が分泌性シグナルと分節時計を結び付ける鍵分子であることを明らかにした。

もう一つのアプローチは、突然変異体の探索をベースにした体節形成に関わる遺伝子の同定とその機能解析である。我々はすでに体節の形成に異常をきたす突然変異体を複数

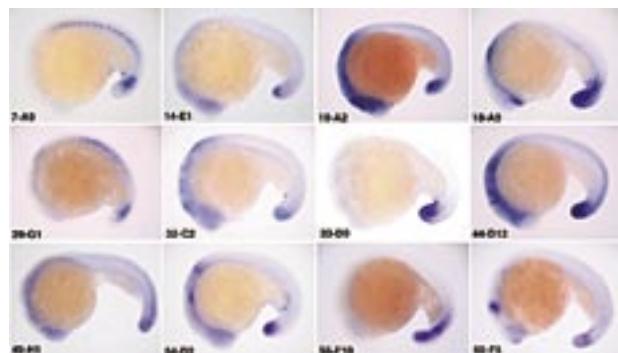


図2. *In situ hybridization* によるスクリーニングによって得られた未分節中胚葉で発現する遺伝子

系統樹立してきた。そこで、各変異体における原因遺伝子の同定とその機能解析を平行して行い、体節形成の様々な局面に関与する遺伝子の機能を多角的に解析することを試みている。一つの結果として、*Integrin* と *Fibronectin* を同定し、これらのタンパク質が体節境界の維持に必要であることを明らかにした。この結果から、体節の周期性が確立された後に、形態的に明瞭な境界が形成されるしくみが明らかになった。現在、これらの2つのアプローチを用いて体節形成に関わるさらなる遺伝子の探索と機能解析を進めており、その成果に期待が持たれる。

## 形態形成シグナルによる細胞間情報伝達

動物の形態形成が一定の秩序のもとに進行する上では、細胞や組織の間での情報のやりとりが不可欠である。そのような情報伝達には Wnt, FGF, BMP それに Hedgehog といった分泌性シグナルタンパク質が関わることがよく知られている。形態形成が秩序正しく進行するためには、これらのタンパク質の産生、分泌、拡散がきちんと制御されることが不可欠であるが、その制御の詳細はよくわかっていない。我々は Wnt タンパク質の分泌機構に着目しその解析を進めている。一方、Wnt をはじめとする分泌性シグナルは、脊椎動物の形態形成過程において繰り返し使われ、しかも細胞の増殖、分化、移動、さらには組織の領域形成など多様な役割を担っている。しかし、このようなシグナルの多様性を成立させる分子的基盤がいかなるものであるのか、我々は未だその実体をほとんど理解していない。そこで、このようなシグナルの機能の多様性が生じる分子メカニズムを解析することを目的として、我々は Wnt シグナルによって発現が調節される遺伝子（以下、標的遺伝子と呼ぶ）の発現制御機構と機能の解析を行うとともに、標的遺伝子の発現制御に異常を示すゼブラフィッシュの突然変異体に着目し、その原因遺伝子の同定を行っている。

Wnt シグナルの標的遺伝子は遺伝子トラップ法とマイクロアレイ法を用いることにより複数の遺伝子を同定しているが、そのうちの一つに腎臓や唾液腺などの外分泌性器官において管構造を形成する上皮細胞で特異的に発現していることが明らかになった CL43 遺伝子がある（図 3）。この遺伝子の機能欠質変異体マウスでは、腎臓やいくつかの外分泌腺の管構造の分化に異常が認められ、その生理的な機能が損なわ

れていた。したがって、Wnt シグナルはこの遺伝子の発現を介して、外分泌性器官の管の分化を共通に制御しているものと考えられる。

一方、中胚葉形成過程において Wnt や FGF シグナルの標的遺伝子として *T(Brachyury)* 遺伝子の発現が誘導されることが知られている。この遺伝子は中胚葉以外の組織ではたとえ Wnt や FGF シグナルの作用を受けても本来であれば発現することはない。そこで、このようなシグナルに対する組織特異的応答性に異常を呈するゼブラフィッシュ突然変異体を複数系統樹立し、その解析からシグナルの作用の特異性・多様性が生じるしくみを明らかにしようとしている。

### 参考文献

1. Yoshikawa, Y., Fujimori, T., McMahon, A. P., and Takada, S. (1997). Evidence that absence of Wnt-3a signaling promotes neuralization instead of paraxial mesoderm development in the mouse. *Dev. Biol.* 183, 234-242.
2. Ikeya, M., Lee, S. M. K., Johnson, J. E., McMahon, A. P., and Takada, S. (1997). Wnt signalling required for expansion of neural crest and CNS progenitors. *Nature* 389, 966-970.
3. Ohbayashi, N., Shibayama, M., Kurotaki, Y., Imanishi, M., Fujimori, T., Itoh, N., and Takada, S. (2002). Fgf18 is required for cell proliferation and differentiation during osteogenesis and chondrogenesis. *Genes Dev.* 16, 870-879.
4. Yamaguchi, Y., Ogura, S., Ishida, M., Karasawa, M., and Takada, S. (2005). Gene trap screening as an effective approach for identification of Wnt-responsive genes in the mouse embryo. *Dev. Dyn.* 233, 484-495.
5. Koshida, S., Kishimoto, Y., Utsumi, H., Shimizu, T., Furutani-Seiki, M., Kondoh, H., and Takada, S. (2005). Integrin  $\alpha$  5-dependent fibronectin accumulation for maintenance of somite boundaries in zebrafish embryos. *Dev. Cell* 8, 587-598.
6. Kawamura, A., Koshida, S., Hijikata, H., Sakaguchi, T., Kondoh, H., and Takada, S. (2005). Zebrafish Hairy/Enhancer of split protein links FGF signaling to cyclic gene expression in the periodic segmentation of somites. *Genes Dev.* 19, 1156-1161.

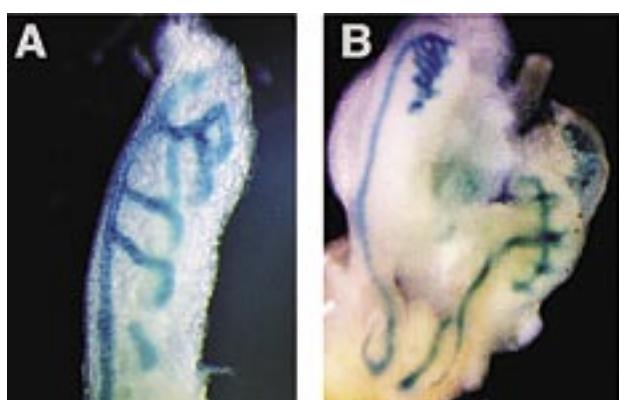


図 3. マウスの腎発生過程における Wnt 標的遺伝子 CL43 の発現

A: CL43 は 10.5 日胚から腎管や中腎細管で発現を開始する。

B: その後、13.5 日胚ではウォルフ管、集合管、尿細管にも発現が見られる。この遺伝子は腎臓以外にも唾液腺や涙腺、乳腺など様々な外分泌腺の導管部に発現し、これらの導管に共通して発現する一連の遺伝子の発現を制御する。

### STAFF



高田 慎治  
教授



越田 澄人  
助手



倉田(千野)智子  
研究員

#### 技術課技術職員

内海 秀子

総合研究大学院大学院生

今井 閑  
高橋 潤

#### 博士研究員

大林 典彦

技術支援員

川村 哲規

大林 享子

赤沼 啓志

小田 律子

山口 良文

高代加代子

#### 特別協力研究員

高田 律子

事務支援員

織田 敏子



**特**定細胞系譜・遺伝子産物を個体レベルで可視化し、突然変異体解析と組み合わせることで、生殖腺形成・性決定分化過程における細胞相互作用と分子基盤の解明を目指している。可視化することにより、器官形成過程を生きたまま統合的に捉え、新たな視点を提示しようとしている。

生殖腺は遺伝情報を次世代に伝達する配偶子を形成する重要な器官である。この生殖腺の発生過程では性的区別のない生殖腺原基がまず形成され、次に、環境や遺伝子の作用を受けて性的に区別される卵巣か精巣へと（性的二型：雌雄）分化する。この生殖腺分化過程は個体レベル（外見）でも影響を与え、雌雄の違いを生み出している。このような性的二型が生じる過程を性

決定分化過程と言い、多くの生物に見られる普遍的な現象である。一方で比較ゲノム研究からは脊椎動物間の遺伝子の違いがほとんどないことが示されつつあり、生殖腺発生過程の分子機構基盤もかなりの部分が脊椎動物共通と考えられる。我々はモデル動物メダカの特徴を生かして生殖腺を構成する細胞系譜や遺伝子産物の可視化を行い、生殖腺という器官形成・性分化過程を、生きたまま細胞・分子レベルで詳細かつ包括的に解析できる系を確立してきた。その結果、脊椎動物で不明であった性決定分化・生殖腺形成に関与する細胞系譜解析が可能となり、発生過程のダイナミックな細胞動態や細胞内遺伝子産物の相互作用・動態が個体レベルで解析可能となりつつある（図1）。

さらに我々は、メダカの特質を活かして生殖腺形成突然変異体単離を行ってきた。その変異体原因遺伝子探索を進める一方で、可視化の系と組み合わせることにより、性決定分化機構を例とした発生学における新たな器官形成解析方法を目指している。

#### （1）性分化・生殖腺形成突然変異体の単離と原因の探索

大規模変異体単離を行うことのできるメダカを用いて、生殖腺形成不全をきたす変異体を数系統単離した。そのうちのひとつ *totoro* は脊

図2. 突然変異体 *totoro*



図1. 生殖細胞が蛍光を発する形質転換メダカ



椎動物において生殖細胞が性決定分化過程と密接に関わっていることを示す初めての例と考えられ、この変異体では生殖細胞の異常増殖だけでなく、性転換も伴っていることが明らかとなりつつある（図2）。また *totoro* とは逆に、生殖細胞

[www.nibb.ac.jp/reprogenetics](http://www.nibb.ac.jp/reprogenetics)

## 生殖遺伝学研究室

が生殖腺で維持できない変異体も単離されており、現在その遺伝様式ならびに表現型の解析を行っている。

#### （2）生殖腺性分化過程の可視化

生殖腺はまず生殖腺原基として確立し、その後性分化過程を経る。この性分化過程における構成細胞系列の増殖・分化過程の可視化を行うことにより、全く予期されていないダイナミックな動きが観察されつつある。現在その動態と分化過程とを解析している。

#### （3）生殖腺構成細胞の系譜解析

特定細胞系列を生きたまま可視化し追跡することにより、生殖腺を構成する細胞系列系譜と分化過程とが明らかとなりつつある。メダカ生殖細胞系列はほ乳類のように誘導で生ずると考えられてきた。しかし、生殖細胞特異的構造物変化と遺伝子発現過程とを *in vivo* の単一細胞レベルで追跡することにより、卵細胞から生殖細胞系譜が追えることが明らかとなり、複数の分化段階を経て生殖腺を構成する生殖細胞になることが明らかとなった。一方の生殖腺体細胞系列は、側板中胚葉後端部が生殖腺形成場として確立、この中で空間的に配置された細胞が、生殖腺体細胞として決定されることが明らかとなりつつある。さらに、生殖細胞系列はこの生殖腺形成場へと移動し、生殖腺を構成する2つの細胞系列がそこで初めて出会うことが明らかになった。

#### （4）特定発生段階一細胞からの網羅的発現解析と主要な遺伝子の機能解析

生殖細胞が生きたまま可視化できるので、様々な分化段階の数個の細胞を単離して、発現遺伝子を網羅的に調べ、プロファイルを解析しつつある。

#### 参考文献

- Mitani, H., Shima, A., Naruse, K., and Tanaka, M. (2004). Medaka genome mapping for functional genomics. In *Fish Development and Genetics*. pp.612-636. (eds: Gong, Z and Korzh, V) World Scientific.
- Morinaga, C., Tomonaga, T., Sasada T., Suwa H., Niwa K., Yasuoka, Y., Henrich, T., Watanabe, T., Deguchi, T., Yoda, H., Hirose, Y., Iwanami, N., Kuniyatsu, S., Okamoto, Y., Yamanaka, T., Shinomiya, A., Tanaka, M., Kondoh, H., and Furutani-Seiki, M. (2004). Mutations affecting gonadal development in Medaka, *Oryzias latipes*. *Mech. Dev.* 121, 829-839.
- Naruse, K., Tanaka, M., Mita, K., Shima, A., Postlethwait, J., and Mitani, H. (2004). A Medaka gene map: The trace of ancestral vertebrate proto-chromosomes revealed by comparative gene mapping. *Genome Res.* 14, 820-824.
- Wakamatsu, Y., Pristyazhnyuk, S., Kinoshita, M., Tanaka, M., and Ozato, K., (2001). The see-through medaka: A fish model that is transparent throughout life. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 10046-10050.
- Tanaka, M., Kinoshita, M., Kobayashi, D., and Nagahama, Y. (2001). Establishment of medaka (*Oryzias latipes*) transgenic lines with the expression of green fluorescent protein fluorescence exclusively in germ cells: A useful model to monitor germ cells in a live vertebrate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 2544-2549.
6. 「RNA 翻訳制御による生殖細胞形成：メダカを中心」  
田中実 木下政人 青木裕美子 中村修平  
細胞工学 10月号 (2003) 22, 1073-1076.

#### STAFF



田中 実  
助教授



齊藤 大助  
研究員

#### 特別共同利用研究員

青木 裕美子  
中村 修平  
有田かおり  
黒川 紘美

#### 事務支援員

織田 敬子



[www.nibb.ac.jp](http://www.nibb.ac.jp)



当研究部門では、個体発生の過程で脊椎動物の中脳神経系が形成される仕組みや、完成した成体の脳が機能する仕組みについて研究している。脳・神経系における神経回路網は動物における情報の受容、認識、統合、記憶、ひいては情動、行動の基盤であり、その基礎研究はライフサイエンスにおいて重要な研究分野に位置付けられる。

### 網膜における領域特異化の分子機構

脳・神経系には、領野、神経核等と呼ばれる数多くの部域区分が存在し、それぞれ独自の機能を担っている。また、それぞれの中には更に細かい領域差が存在することが判っている。しかしながら、その形成の仕組みは未だ充分に解明されていない。我々は、脳の一部から発生する眼の網膜における領域特異化の問題を取り上げ、網膜において前後軸（鼻耳軸）並びに背腹軸方向の領域特異性獲得の分子機構の解明を目指してきた。ニワトリ胚の網膜において領域特異的に発現する分子群を、RLCS法によって網羅的に単離・同定し（図1A）、得られた新規分子を中心に、その機能と相互関係を明らかにする研究を展開している。この中には数多くの転写調



図1A. 網膜内で領域特異的に発現する遺伝子群

*in situ* hybridizationによる個々の遺伝子の発現部域の解析。それぞれ、網膜の前側、後側、背側、あるいは腹側で特異的に発現している遺伝子の例を示す。

節因子、膜受容体分子、分泌因子、シグナル伝達因子、細胞骨格関連分子等が存在する。これまでの研究で、前後軸と背腹軸は独立に決定されると当初考えられていたが、発生の過程で前後軸から背腹軸への働きかけがあり、背腹軸は、視神経が投射する発生ステージでは右廻りに回転して、前後軸とは直交しないことが判ってきた（図1B）。

### 領域特異的神経結合形成の分子機構

神経系では様々な領域で、ある部域の神経細胞から発した神経軸索が、別の特定の部域の神経細胞に対して二次元的相対位置関係を保存した形で正確に対応して結合する、いわゆ

[www.niwww3.nibb.ac.jp](http://www.niwww3.nibb.ac.jp)

## 統合神経生物学研究部門

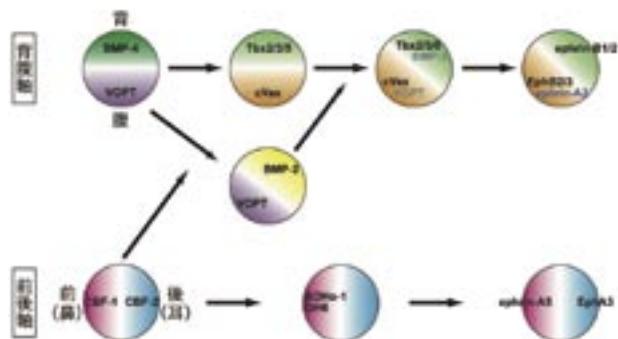


図1B. 網膜における領域特異化の遺伝子カスケード

発生段階は左から右へと進む。Ventroptin (VOPT) はまず背腹軸方向に勾配をなして BMP-4 と拮抗するが、次の段階では両軸に対して勾配をなして、BMP-2 と拮抗する。このように連続的な2つの BMP シグナルが領域特異的視神経投射に重要な働きをしている。

るトポグラフィック投射路が見られる。網膜視蓋投射の系では、網膜の鼻側（前側）あるいは耳側（後側）の領域から発した視神経は、視蓋（哺乳類では上丘）のそれぞれ後側、前側の領域に選択的に神経結合を形成する。同様に、背側からは腹側、腹側からは背側の領域に投射が起こる。この視神経のトポグラフィックな投射は、網膜の領域特異化がその基盤となっている。上述の網膜において領域特異的発現を示す分子群の中には、正しい投射先の認識に働く分子、神経軸索の分岐やシナプス形成に働く分子が見出されており、その分子・細胞機構を明らかにする研究を行っている（図2A）。

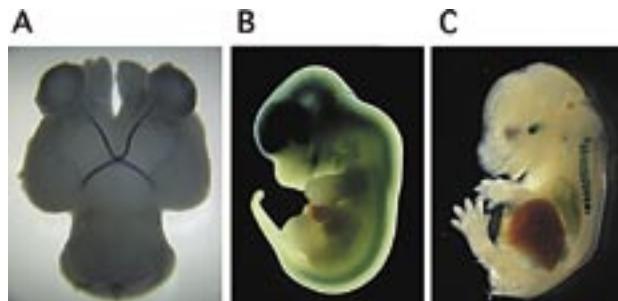


図2. 遺伝子変換マウスによる遺伝子機能の研究

A: 網膜神経節細胞に選択的に発現するプロモーターを用いてマーカー分子を視神経に発現したマウスの眼と脳。左右の視神経が交差して脳へ投射する様子が判る。

B: Ptprz 遺伝子をマーカー遺伝子と置き換えたマウスの胎仔。Ptprz が脳神経系に発現していることが判る。

C: Nax 遺伝子をマーカー遺伝子と置換したマウスの胎仔。Nax が脳の一部の領域、三叉神経節、脊髄後根神経節、肺に発現していることが判る。

## 受容体型プロテインチロシンホスファターゼζ (Ptprz) の関わる生命現象とそのシグナル伝達経路

Ptprz は主に中枢神経系に発現するプロテオグリカンに属する唯一の受容体型 PTP 分子である。我々は Ptprz のリガンド分子として、ヘパリン結合性増殖因子である Pleiotrophin と Midkine を同定するとともに、基質分子として Git1, p190 RhoGAP 等、会合分子として PSD-95 ファミリー等を同定してきた。また、Ptprz 遺伝子ノックアウトマウス（図 2B）の作成・解析によって、胃粘膜上皮細胞に発現している本分子が *H. pylori* 菌の分泌する VacA 毒素の受容体として働き、胃潰瘍の形成に関与していることを明らかにした。更に最近、本ノックアウトマウスには空間学習・記憶に関わる海馬の機能に異常があることを見出した。今後、本分子の脳機能、特に記憶、情動、行動における役割の解明とその分子機構に迫る。

## 塩分摂取行動制御の脳内機構

$\text{Na}^+$  チャンネルは電位依存性  $\text{Na}^+$  チャンネルファミリーに属するが、膜電位の変化によっては開口しない。我々はこのチャンネルが、細胞外の  $\text{Na}^+$  イオン濃度の生理的範囲での上昇に応答して開口する特異な  $\text{Na}^+$  チャンネルであることを明らかにした。このチャンネルは脳室周囲器官に発現しており、 $\text{Na}^+$  遺伝子欠損マウス（図 2C）は、脱水条件下に置いた後でも塩分（0.3M 食塩水）の摂取を止めないという行動異常を示す（図 3）。このように  $\text{Na}^+$  は脳室周囲器官において、体液中の  $\text{Na}^+$  濃度の上昇を検知するセンサーとして働いていると考えられる。アデノウィルスベクターを用いた機能回復実験から、塩分摂取行動の制御には脳弓下器官の  $\text{Na}^+$  が特に重要であることが判明した。今後は、体液塩濃度の恒常性維持に関わる脳内機構と行動制御機構の詳細を明らかにする研究を展開する。



### B 食塩水選択性のナトリウム濃度依存性

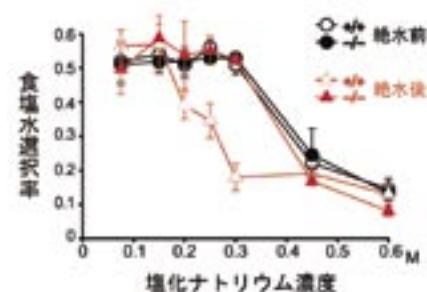


図 3. 食塩水選択性の  $\text{Na}^+$  濃度依存性

絶水後、野生型マウス (+/+) は塩分を避けるように嗜好性が変化するが、 $\text{Nax}$  遺伝子欠損マウス (-/-) ではこの行動適応が見られない。

### 参考文献

1. Yuasa, J., Hirano, S., Yamagata, M., and Noda, M. (1996). Visual projection map specified by expression of transcription factors in the retina. *Nature* 382, 632-635.
2. Sakuta, H., Suzuki, R., Takahashi, H., Kato, A., Shintani, T., Iemura, S., Yamamoto, T.S., Ueno, N., and Noda, M. (2001). Ventroptin: A novel BMP-4 antagonist expressed in a double-gradient pattern in the retina. *Science* 293, 111-115.
3. Shintani, T., Kato, A., Yuasa-Kawada, J., Sakuta, H., Takahashi, M., Suzuki, R., Ohkawara, T., Takahashi, H., and Noda, M. (2004). Large-scale identification and characterization of genes with asymmetric expression patterns in the developing chick retina. *J. Neurobiol.* 59, 34-47.
4. Kawachi, H., Fujikawa, A., Maeda, N., and Noda, M. (2001). Identification of GIT1/Cat-1 as a substrate molecule of protein tyrosine phosphatase  $\zeta/\beta$  by the yeast substrate-trapping system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 6593-6598.
5. Fujikawa, A., Shirasaka, D., Yamamoto, S., Ota, H., Yahiro, K., Fukada, M., Shintani, T., Wada, A., Aoyama, N., Hirayama, T., Fukamachi, H., and Noda, M. (2003). Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori*. *Nature Genet.* 33, 375-381.
6. Watanabe, E., Fujikawa, A., Matsunaga, H., Yasoshima, Y., Sako, N., Yamamoto, T., Saegusa, C., and Noda, M. (2000).  $\text{Na}^2/\text{NaG}$  channel is involved in control of salt intake behavior in the central nervous system. *J. Neurosci.* 20, 7743-7751.
7. Hiyama, T.Y., Watanabe, E., Ono, K., Inenaga, K., Tamkun, M.M., Yoshida, S., and Noda, M. (2002).  $\text{Na}^+$  channel involved in CNS sodium-level sensing. *Nature Neurosci.* 5, 511-512.
8. Hiyama, T.Y., Watanabe, E., Okado, H., and Noda, M. (2004). The subfornical organ is the primary locus of sodium-level sensing by  $\text{Na}^+$  sodium channels for the control of salt-intake behavior. *J. Neurosci.* 24, 9276-9281.

### STAFF



野田 昌晴  
教授



新谷 隆史  
助手



作田 拓  
助手



檜山 武史  
助手



高橋 弘雄  
研究員

### 技術課 竹内 靖

技術職員  
博士研究員

井原 賢

藤川 顕寛

米原 圭祐

鈴木 亮子

樺谷 和真

深田 斎秀

清水 秀忠

中村 隆弘

中村 佳世

山本 泰憲

技術支援員

特別協力研究員

溝口 正枝

田村 洋

後藤 恵

### CHOW, Pak Hong Jeremy

山田 薫  
総合研究大学院大学院生

竹内 靖  
博士研究員

井原 賢  
藤川 顕寛

米原 圭祐  
鈴木 亮子

樺谷 和真  
深田 斎秀

清水 秀忠  
中村 隆弘

中村 佳世  
山本 泰憲

技術支援員

特別協力研究員

溝口 正枝  
田村 洋

後藤 恵  
山田 薫  
総合研究大学院大学院生



**大**脳皮質は、ヒトを含めた霊長類でもっとも顕著に進化しており、高次脳機能の発現に重要な役割を果たしている。私達は、大脳皮質の形成と進化に興味を持ちその解明を目指して研究を行っている。

## 大脳皮質領野の形成と進化

### (1) 大脳皮質領野はどのようにしてできるか？

前世紀初頭にブロードマンが大脳皮質を領野と呼ばれる機能的単位に分けて以来、各領野の機能的役割が次第に明らかになってきた。一方、大脳皮質領野の形成については、従来、2つの異なる考え方がある。一つは、将来大脳皮質を構成する細胞が脳室の分裂層にある時にすでにその運命が決定されているという考え方である。今一つは、視床からの入力によって視覚野、聴覚野等への領域特異性が決定されるという考え方である。この10年余りの間に、げっ歯類を材料に用いた研究から、大脳皮質の領域（この場合領野よりは広い）に特異的に発現する遺伝子が幾つか調べられ、視床からの投射とは独立に遺伝的にその発現が制御されていることが明らかになった。しかし、大脳皮質領野の決定がどの程度まで遺伝的にプログラムされており、どの程度まで環境入力によって可変的かは、依然未解決の問題である。

### (2) 大脳皮質の進化

大脳皮質は、ヒトで最も顕著に発達している。例えば、体重比で補正しても、食虫類とヒトでは200倍もの差がある。このことは、哺乳類の脳機能の進化に於いて、大脳皮質の進化が極めて重要であることを示している。ネズミと霊長類の比較解剖学的な対照では、大脳皮質以外の脳構造については、95%近くの対応がついているが、大脳皮質については、逆に殆ど対応がついていない。ヒト遺伝子配列の決定によっても、ヒトとマウスでは、遺伝子数は殆ど変化していないとされている。しかし、それでは、どのようにして大脳皮質領野の急速な拡大が進化上生じたのか非常に興味深い。

### (3) 霊長類大脳皮質領野特異的に発現する遺伝子

私達は、上述した大脳皮質領野の形成と進化の未解決の問題を分子細胞レベルから解明する為には、大脳皮質の発達した霊長類の大脳皮質領野に特異的に発現する遺伝子を分離し

[www.nibb.ac.jp/divspe1](http://www.nibb.ac.jp/divspe1)

## 脳生物学研究部門

解析することが極めて有効と考え、研究を行っている。渡我部等は、マクロアレイ法により、1088遺伝子中、ヒトの3領野（前頭葉、運動野、後頭葉）に於いて、どの程度の遺伝子発現の差異が見られるのか検討した（那波新潟大脳研教授との共同研究）。その結果、個体差を平均化した上で領野間の差を比較すると、最大3～4倍の差異を示すものが1つ、2～3倍のものが1つある以外は、全て2倍以内の差異しかなかった。従って、大脳皮質の遺伝子発現は、意外な程領野間での差がないことが分った。しかし、この結果は、領野間での発現パターンが異なるものが存在しないということを必ずしも意味するものではない。数は少なくとも領野間で顕著な発現の差を示す遺伝子が存在する可能性はある。そこで、Differential Display法を用いて、霊長類（マカク属）の大脳皮質の代表的領野間（前頭葉、運動野、側頭葉、視覚野等）で発現に顕著な差が見られる遺伝子を探索した。その結果、領野間で最大10倍以上の差のある遺伝子を見出した。そのうちの一つは、視覚野に特異的に発現する遺伝子 *occ1* (occipital 1; 文献2) であり、他の一つは、運動野特異的に発現する遺伝子 *gdf7* である（文献3）。*occ1* は、一次視覚野 (V1) に顕著に発現がみられ、二次視覚野 (V2) では、急激にその発現が低下し、更に腹部側頭葉に移行するに従って、その発現量は急速に低下する。これは、大脳皮質のブロードマン領野に厳密に対応する発現パターンを示すおそらく最初の例である。興味深いことに、*occ1* 遺伝子は、TTXによって、網膜からの電気的活動を遮蔽すると、視覚野での発現が顕著な低下を見せる。また、霊長類以外の哺乳類では、視覚野特異的な発現は観察されない。従って、*occ1* は、大脳皮質の視覚野がどのように発生と進化的制御を受けているのかを明らかにする上で、大変有効なマーカーであると考え解析を進めている。

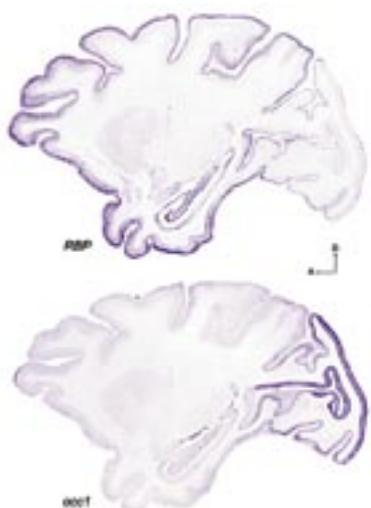


図1. *occ1* と *Rbp* の発現パターン（文献5）

今ひとつは、靈長類の連合野特異的に発現する遺伝子 *Rbp* (retinol-binding protein) である。*Rbp* は、レチノールと結合することにより、細胞内にレチノールを運搬し、レチノールはそこでレチノイン酸 (RA) に代謝される。RA は、その受容体と結合し、*Hox* 遺伝子等の転写活性を促進する強力なモルフォゲンの一つであることは良く知られている。しかし、これまで、成熟した個体の大脳皮質における役割は知られていなかった。これは、RA が低分子で拡散性が強い為、脳に於ける分布様式を正確に知る事が難しかった事による。今回、私達が RA の前駆体であるレチノールの結合タンパク質 *Rbp* が靈長類の大脳皮質連合野に特異的に発現することを示したことにより、靈長類大脳皮質の特に興奮性細胞の機能や維持に RA が重要な役割を果たしている可能性が示された。

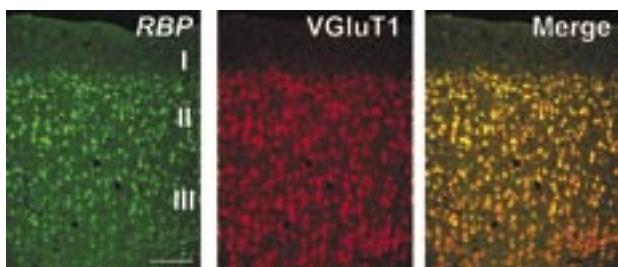


図2. *Rbp* の大脳皮質興奮性細胞での発現 (文献5)

私達は、大脳皮質の領域特異的な顕著な発現パターンを示す遺伝子は、約3万遺伝子の内でも、おそらく30個よりも少ないと推測しているが、現在、RLCS 法により20個程の遺伝子を分離しており、この内に幾つかの発現パターンは大変似ているので、このような遺伝子の機能的解析を行い、哺乳類の大脳皮質の形成と進化の様式を明らかにしたいと考えている。

## 学習行動下での遺伝子発現

大脳皮質の機能解析の為に、電気生理的方法やイメージング等種々の方法が考案されているが、各々に時間分解能、空間分解能の長所と短所がある。当研究室では、c-Fos 等の遺伝子発現を指標に、特に細胞レベルでの脳神経回路の結合様式の変化を研究している。用いている学習システムは2つである。一つは、京都大学文学部の櫻井芳雄教授との共同研究として行っている視聴覚弁別学習課題である。高音と低音、左右の光源の何れか一つを学習の刺激条件として、他を対照

刺激としてランダムに呈示し、餌報酬により訓練したラットに於いて、坂田等は、課題依存的な c-Fos の発現が一次感覚野の興奮性神経細胞にのみ見られることを明らかにし、電気生理学方法や従来のイメージング法では難しい細胞レベルでの神経回路網の変化を知ることが可能であることを示した。更に、音と光が同じ位置から出るように装置を改良し、音から光刺激を切り替えた時でも、位置情報を記憶していることや、音と光刺激を同時に与えた場合に反応時間が促進されることを観察した。現在、こうした2種類の刺激による反応促進が脳のどの部位の活動と関係しているのかを解析している。

今一つは、当研究室の木津川等で開発したホイール走行システムである。これは、ホイール上の足場の形を変化させて回転したときマウスがその形に応じて走行できる様になるのに必要な脳内に於ける神経回路を調べるものであり、手続き記憶の脳内経路を細胞レベルで明らかにすることを目指しているが、線状体の介在神経のサブクラスによって、パターン変化時の c-Fos 発現が異なることを見出している。この知見も従来の電気生理学やイメージングでは、知られていないものであり、行動解析と結び付けた遺伝子発現の手法が極めて有効であることを示している。

## 参考文献

1. Onishi, A., Koike, S., Ida, M., Imai, H., Shichida, Y., Takenaka, O., Hanazawa, A., Komatsu, H., Mikamai, A., Goto, S., Suryobroto, B., Kitahara, K., and Yamamori, T. (1999). Dichromatism in macaque monkeys. *Nature* 402, 139-140.
2. Tochitani, S., Liang, F., Watakabe, A., Hashikawa, T., and Yamamori, T. (2001). *occ1* is preferentially expressed in the primary visual cortex in an activity-dependent manner: a pattern of gene expression related to the cytoarchitectonic area in adult macaque neocortex. *Eur. J. Neurosci.* 13, 297-307.
3. Watakabe, A., Fujita, H., Hayashi, M., and Yamamori, T. (2001). GDF7, a BMP/TGF beta family member, is enriched in the primary motor area of monkey neocortex. *J. Neurochem.* 76, 1455-1464.
4. 山森哲雄 (2004) 活動依存の遺伝子発現を指標とした学習行動のメカニズムの解明 蛋白質核酸酵素 増刊号 (大森, 渋木, 野田, 山森編) 4 9巻 3号 433-443.
5. Komatsu, Y., Watakabe, Y., Hashikawa, T., Tochitani, S., and Yamamori, T. (2005). Retinol-binding protein gene is highly expressed in higher-order association areas of the primate neocortex. *Cerebral Cortex* 15, 96-108.

## STAFF



山森 哲雄  
教 授



渡我部昭哉  
助 手



小峰由里子  
助 手



木津川尚史  
助 手  
(休職中)



司 晓輝  
研究員

### 技術課技術職員

大澤 園子

### 博士研究員

小松 勇介

BOSCH, Miquel

### 総合研究大学院大学院生

高畠 亨

中村 徹

佐々木 哲也

廣川 純也

高司 雅史

### 技術支援員

三木 和彦

石川 隆子

### 事務支援員

今井 亜紀子



ほ 乳類において、種々の社会行動の多くは性依存的である。性染色体を起点として、常染色体の機能制御も通じて、性の違いが形作られている。私たちは、行動の雌雄特異性を生み出すための基盤となる脳について、ゲノムワイドなDNAメチル化解析を行っている。また、行動学的、内分泌学的手法を組み合わせ、フェロモンのゲノム上の作用点と、その生理的効果を生み出す背景にアプローチする。

### 脳のDNAメチル化パターン

私たちは、ジーンサイレンシングの中心的メカニズムの一つであるDNAメチル化を指標として、染色体上の性差を調べている。このようなエピジェネティックな修飾は、一旦分化すると固定化され、ゲノム上に体内外の環境に関わる重要な情報を記憶させるシステムとして働いている。社会行動を考えたとき、仮に遺伝的バックグラウンドが同一な個体同士でも、生育環境が違えば行動パターンは互いに異なることから、脳において通常は発現を抑制されている遺伝子群が関係している可能性もあり、この場合、ゲノムDNA上にその仕組みを考えなければならない。実際、私たちは最近、性ステロイドホルモンの受容体遺伝子のDNAメチル化状況に性差が存在することを見つけている。脳の性差と関連したゲノム領域の網羅的同定も目標としている。

### フェロモンと行動

一方で私たちは、ほ乳類プライマーフェロモン分子の単離・精製・構造決定を行っている。最近では覚醒・緊張状態を高める警報フェロモンや、逆に緊張を解きリラックスさせる安寧フェロモンなどの存在を示唆する報告もあり、応用的価値に対する期待が高まっている。しかしながら、神経機構や行

## 行動生物学研究部門 (客員部門)

動様式の単純な昆虫でのフェロモン研究とは異なり、ほ乳類では未だ傍証的なものにすぎず、栄養条件、光条件、温度条件、内分泌条件といった諸種の要因がフェロモン効果の生物学的検定を難しくしている。そこで、生理機能に影響を及ぼすフェロモン解析系の確立が急務である。当研究部門では、げっ歯類（マウス・ラット）をモデル動物に、性差・生育環境・内分泌環境に規定される行動変化に関連した遺伝子の同定、発現制御機構、フェロモンに対する応答性について解析を行っている。

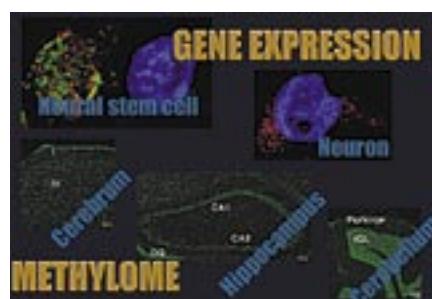


図1. 脳における様々な分子の発現パターン  
脳の領域や細胞の形態・機能にしたがったDNAメチル化パターンが形成され、遺伝子発現を規定していると考えられる。

#### 参考文献

1. Imamura, T., Kerjean, A., Heams, T., kupiec, J.-J., Thenevin, C., and Paldi, A. (2005). Dynamic CpG and non-CpG methylation of the *Peg1/Mest* in the mouse oocyte and preimplantation embryo. *J. Biol. Chem.* **280**, 20171-20175.
2. Imamura, T., Miyachi-Senda, N., Tanaka, S., and Shiota, K. (2004). Identification of genetic and epigenetic similarities of *SPHK1/Sphk1* in mammals. *J. Vet. Med. Sci.* **66**, 1387-93.
3. Imamura, T., Yamamoto, S., Ohgane, J., Hattori, N., Tanaka, S., and Shiota, K. (2004). Non-coding RNA directed DNA demethylation of *Sphk1* CpG island. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **322**, 593-600.
4. Imamura, T., Neildez, T., Thenevin, C., and Paldi, A. (2004). Essential role for poly (ADP-ribosyl) ation in mouse preimplantation development. *BMC Mol. Biol.* **5**, 4.
5. Kiyokawa, Y., Kikusui, T., Takeuchi, Y., and Mori, Y. (2004). Testosterone modification on alarm pheromone production and secretion. *Hormones & Behavior* **45**, 122-127.
6. Moriyama, R., Tsukamura, H., Kinoshita, M., Okazaki, H., Kato, Y., and Maeda, K.-I. (2004). *In vitro* increase in intracellular calcium concentrations induced by low or high extracellular glucose levels in ependymocytes and serotonergic neurons of the rat lower brainstem. *Endocrinology* **145**, 2507-2515.
7. Imamura, T., Ohgane, J., Ito, S., Ogawa, T., Hattori, N., Tanaka, S., Shiota, K. (2001). CpG island of rat sphingosine kinase-1 gene: Tissue dependent DNA methylation status and multiple alternative first exons. *Genomics* **76**, 117-125.

#### STAFF



森 裕司

教 授

(東京大学大学院 農学生命科学研究科)



束村 博子

助教授

(名古屋大学大学院 生命農学研究科)



今村 拓也

助 手

特別共同利用研究員

竹内 基貴

佐藤 弘明

## 神経生理学研究室

ネットワークを複雑に張り巡らしているニューロンの電気化学的な活動と、この活動を支えているグリア細胞ネットワークの働きが、脳機能発現の基盤となっている。当研究室では、こうしたニューロンとグリア細胞の相互作用に着目して脳の機能に関する研究を進めている。

### 脳のナトリウムセンサー

$\text{Na}^+$ チャネルは電位依存性ナトリウムチャネルと構造的に相同性のある分子であるが、電気的不活性なグリア細胞に主として発現していることから永らく機能不明のチャネル分子であった。当研究室では $\text{Na}^+$ 遺伝子欠損マウスを開発し、解析を進めたところ、① $\text{Na}^+$ 遺伝子が脳のナトリウム受容部位であるとされる脳室周囲器官に特異的に発現していること(図1)、② $\text{Na}^+$ 遺伝子欠損マウスは過剰に塩分を摂取すること(図2)、③ $\text{Na}^+$ 遺伝子欠損マウス由来の細胞は、細胞外ナトリウム濃度の上昇を検出するセンサー機能が欠失していることを発見した。すなわち、 $\text{Na}^+$ は体液中で上昇したナトリウム濃度を脳において検出しているセンサーチャネル分子であると判明したのである。細胞外ナトリウム濃度依存性のナトリウムチャネルの発見は、これが世界で初めての例となった。



図1. 脳における $\text{Na}^+$ の発現部位

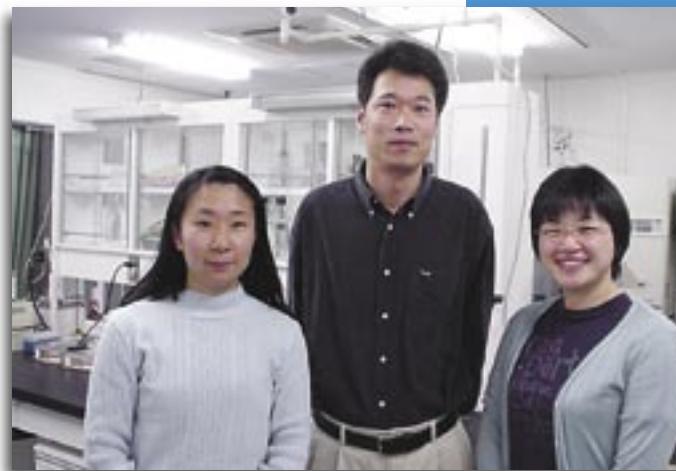
$\text{Na}^+$ は脳室周囲器官と呼ばれる特殊な脳器官に発現する。脳室周囲器官には血液脳関門が欠失しているため、血液中のナトリウム濃度を直接検出することができる。青色に見える部分が

$\text{Na}^+$ の発現している部位で、脳室周囲器官の中でも脳弓下器官と呼ばれる。

$\text{Na}^+$ 遺伝子欠損マウスの脳室周囲器官の神経活動は、野生型マウスと比較すると、非常に活発になっていた。すなわち、グリア細胞において $\text{Na}^+$ が検出した細胞外ナトリウム濃度の上昇は、何らかの未知の分子機構によって神経細胞の活動に変換されていると考えられる。このようなナトリウムイオンを介したグリア細胞による神経細胞の制御機構はこれまで例がなく、今後はこの未知のニューロン-グリア連関機



図2.  $\text{Na}^+$ 遺伝子欠損マウスの行動解析  
マウスに2つの飲水瓶を提示し、その嗜好性を定量的に測定する。水と食塩水の二つの飲水瓶を使用して塩への嗜好性を解析した結果、 $\text{Na}^+$ ナトリウムチャネルは、食塩摂取という動物の行動を制御する分子であることが判明した。



構について解析を進めていく予定である。

### ペリニューロナルネットの構造と機能

コンドロイチン硫酸プロテオグリカン(CSPG)は軟骨の主成分の一つであるが、脳においても発生期から成熟した脳に至るまで様々なタイプのCSPGが発現している。我々はモノクロナル抗体を作成して脳のCSPGを探索したところ、特定のCSPGが一部の神経細胞の周囲を取り巻くグリア細胞の細胞内外に発現していることを発見した(図3)。この構造はペリニューロナルネットと呼ばれており、脳の可塑性が失われる時期(臨界期)から発現してくる構造体である。一般的にCSPGは神経突起の伸長を阻害することから、脳内の特定の神経回路網を固定化する役割を担っているものと考えられる。この固定化される特定の神経回路の役割や、どのようなアルゴリズムで特定の神経細胞が選択されるかなど、今後の神経科学のテーマとして興味深いところである。



図3. 大脳皮質で観察されたペリニューロナルネット  
特定のグリア細胞のエンドフィートに発現している特殊なCSPGが一部の神経細胞を取り巻いている(緑色)。大半の神経細胞はペリニューロナルネットフリーの状態にある。粒状に見えるのは、シナプス部位の発現が抜けているためである。

#### 参考文献

1. Watanabe, E., Fujita, S.C., Murakami, F., Hayashi, M., and Matsumura, M. (1989). *Neurosci.* 29, 645-657.
2. Watanabe, E., Fujikawa, A., Matsunaga, H., Yasoshima, Y., Sako, N., Yamamoto, T., Saegusa, C., and Noda, M. (2000). *J Neurosci.* 20, 7743-7751.
3. Hiyama, T.Y., Watanabe, E., Ono, K., Inenaga, K., Tamkun, M.M., Yoshida, S., and Noda, M. (2002). *Nature Neurosci.* 5, 511-512.
4. 渡辺英治, 野田昌晴(2003)ナトリウムチャネルの構造と機能. 神経研究の進歩, 47, 159-168.

#### STAFF



渡辺 英治  
助教授



山田 美鈴  
研究員

技術支援員  
竹内 和美

## 神経生化学研究室

**生**物が活動する中で、神経細胞が伝達する情報の役割とそのしくみを明らかにするため、神経伝達物質と受容体に着目し、神経の情報伝達を変化させた遺伝子操作マウスを用いて、細胞・組織・個体に現れる変化を観察する。特にドーパミンの情報伝達の役割を受容体の遺伝子操作マウスを用いて解明することを中心課題としている。さらに機能解析のための新しい遺伝子操作マウス作成法としてコンディショナル遺伝子発現法によりマウスを開発すること、また受容体の機構を明らかにするため受容体が形成する複合体全体を解析対象とすることにより研究を進めている。

### (1) ドーパミン情報伝達の研究

ドーパミンによる情報伝達は、ペプチドホルモンの分泌調節・運動の調節・摂食行動の調節・シナプス伝達および神経発達などに関与し、パーキンソン病などの神経疾患、統合失調症などの精神疾患の病因と治療に深く関わる。ドーパミン受容体は遺伝子の構造・薬理学的性質・情報伝達様式によりD1様受容体(D1, D5)およびD2様受容体(D2, D3, D4)に大別される(図1参照)。D1様受容体とD2様受容体は細胞内情報伝達において正反対の性質をもつが、協働的に作用し機能が発揮される。D1受容体(D1R)とD2受容体(D2R)はそれぞれの受容体のグループの主要分子であり、D1RとD2Rの両方を欠損するD1R/D2R二重欠損マウスを作成すると、生後8日目頃より摂餌がなく、成熟前に致死となることが見出された。この表現型はD1RまたはD2R単独の欠損マウスではみられない。このことから摂食行動の開始にはD1RおよびD2Rの両方のシグナルが必要と考えられる。現在、特定条件下でドーパミン情報伝達を制御するコンディショナル遺伝子発現マウスの作成を進めており、この摂食異常の表現型に着目して摂食行動を調節するドーパミン情報伝達の役割を明らかにする。

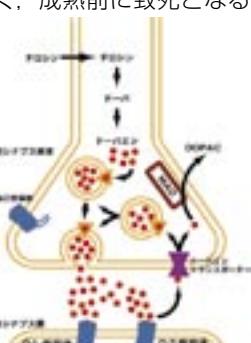


図1. ドーパミン作動性シナプスの模式図

### (2) 新しいコンディショナル変異導入法の開発

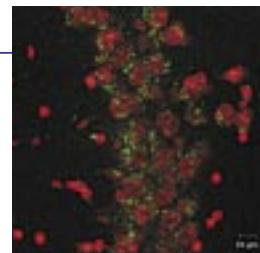
マウス個体を用いた遺伝子機能解析を詳細に行うため、独自の方法でマウスの特定組織・特定時期において標的遺伝子にアミノ酸置換による機能変換を導入する「コンディショナル変異導入法」を開発している。NMDA型グルタミン酸受容体(NMDAR)は興奮性シナプス伝達を担い、神経細胞の発達・分化、神経伝達の可塑性、神経細胞障害に重要な役割をもつ。これまでに本変異導入法によりNMDARを標的遺伝子としてアミノ酸置換を導入し、NMDAR異常活性化を示す

マウスを作製した。本マウスを用いてNMDARの異常活性化に関与する分子群の探索をおこない、新しい治療標的分子の候補を見出すことを目指している。

### (3) 膜タンパク質複合体の機能解析

図2. コンディショナル変異導入マウス脳における組換え細胞の検出

海馬領域におけるCre-LoxP組換えの行われた細胞が、マーカー分子EGFPの発現で検出される。神経細胞は赤色蛍光試葉で染色されている。



肢帯型筋ジストロフィーの一群であるサルコグリカン(SGP)は、筋線維膜上に存在するサルコグリカン(SG)複合体のサブユニット(α-, β-, γ- and δ-SG)が責任分子である。SGはデュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因分子ジストロフィン(DYS)とDYS複合体を形成する。我々はSG欠損マウスを作成し、SGサブユニットのいずれか一つが欠損しても、DYS複合体全体の機能が異常となり筋ジストロフィーを示すことを報告した(文献2, 4, 5)。このことは、DYS複合体全体を対象として機能を考えるべきことを示している。この知見を応用し、神経伝達物質受容体が形成する複合体を対象として機能解析を行なう。

### 参考文献

- Iwasato, T., Erzurumlu, R. S., Huerta, P. T., Chen, D. F., Sasaoka, T., Ulupinar, E., and Tonegawa, S. (1997). NMDA receptor-dependent refinement of somatotopic maps. *Neuron* 19, 1201-1210.
- Araishi, K., Sasaoka, T., Imamura, M., Noguchi, S., Hama, H., Wakabayashi, E., Yoshida, M., Hori, T., and Ozawa, E. (1999). Loss of the sarcoglycan complex and sarcospan leads to muscular dystrophy in beta-sarcoglycan-deficient mice. *Human Molecular Genetics* 8, 1589-1598.
- Wang, Y., Xu, R., Sasaoka, T., Tonegawa, S., Kung, M.-P., and Sankoorikal, E.-B. (2000). Dopamine D2 Long receptor-deficient mice display hypolocomotion and reduced level of haloperidol-induced catalepsy. *Journal of Neuroscience* 20, 8305-8314.
- Hagiwara, Y., Sasaoka, T., Araishi, K., Imamura, M., Yorifuji, H., Nonaka, I., Ozawa, E., and Kikuchi, T. (2000). Caveolin-3 deficiency causes muscle degeneration in mice. *Human Molecular Genetics* 9, 3047-3054.
- Sasaoka, T., Imamura, M., Araishi, K., Noguchi, S., Mizuno, Y., Takagoshi, N., Hama, H., Wakabayashi-Takai, E., Yoshimoto-Matsuda, Y., Nonaka, I., Kaneko, K., Yoshida, M., and Ozawa, E. (2003). Pathological analysis of muscle hypertrophy and degeneration in muscular dystrophy in gamma-sarcoglycan-deficient mice. *Neuromuscular Disorders* 13, 193-206.
- Mizuno, Y., Guyon, J. R., Watkins, S. C., Mizushima, K., Sasaoka, T., Imamura, M., Kunkel, L. M., Okamoto, K. (2004). Beta-Syneinin localizes to regions of high stress in human skeletal myofibers. *Muscle and Nerve* 30, 337-346.
- Ozawa, E., Mizuno, Y., Hagiwara, Y., Sasaoka, T., and Yoshida, M. (2005). Molecular and cell biology of the sarcoglycan complex. *Muscle and Nerve* in press.

### STAFF



笹岡 俊邦  
助教授





ゲノム構造は必ずしも安定ではなく、時にダイナミックに変化して種々の生体機能の発現に影響を与える。ゲノムにダイナミズムを賦与し、種々のDNA再編成を起こして遺伝子の発現様式を変える配列としてトランスポゾンが注目されている。また、DNAのメチル化やクロマチン構造の変化によるエピジェネティックな発現制御もゲノムにダイナミズムを賦与する要因である。当研究室では、主に「アサガオ」と「イネ」を材料として、(1)目に見える変異形質からゲノム配列の変化を解明する“Genetics”，(2)エピジェネティックな発現制御を解明する“Epigenetics”，(3)相同組換えやトランスポゾンを用いて遺伝子を改変して変異形質を探る“Reverse Genetics”，(4)“Genomics”による網羅的解析の4方向から“ゲノムダイナミズムと生体機能”的解明をめざしている。これらゲノム動態の解明は、進化や多様性にも重要な知見を提供するであろう。

### アサガオの易変性変異とトランスポゾン

我々は平賀源内「物類品鑑」(1763)に記載された「時雨絞(雀斑; *flecked*)」や19世紀初頭の文化文政期に出現した「吹掛絞(*speckled*)」、紫地に青色の絞り花を咲かせる易変性「紫(*purple*)」変異など種々の花色に係る易変性変異の同定を行った(図1A-H)。その結果、江戸時代に花卉園芸化されて多種多様な変異が分離されたアサガオの自然突然変異の大部分は、我々がアサガオから最初に単離した *En/Spm* 系の *Tpn1* と名付けたトランスポゾンとその類縁因子の挿入変異であることが明らかになった。*Tpn1* はトランスポゾンがコードしている転移に必要な転移酵素遺伝子が欠損している非自律性因子で、同じ細胞内に共存する自律性因子が作り出す転移酵素が作用して初めて転移脱離できる。多くの自然突然変異も *Tpn1* 類縁の非自律性トランスポゾンの挿入変異であり、また易変性の変異形質を示さずに安定な変異であると考えられている自然突然変異の中にも、エピジェネティックな遺伝子発現の抑制などによって挿入された *Tpn1* 類縁の非自律性トランスポゾンが転移脱離できなくなつて一見安定な変異形質を示すものや、挿入トランスポゾンの脱離やDNA再編成に付随する変異など種々の安定化機構が関与したと思われるものも見出せた。また、エピジェネティックな遺伝子発現制御が関与する花模様の形成機構や花で発現する遺伝子の網羅的解析も行っている。

[www.nibb.ac.jp/gene1](http://www.nibb.ac.jp/gene1)

## 分子遺伝学研究部門



図1. 野生型の青花アサガオ (A) と花色と模様に関する自然突然変異 (B)-(H)、易変性ソライロアサガオ (I)。易変性「雀斑」変異 (F)、易変性「吹掛絞」変異 (G)、易変性「紫」変異 (E)、少なくとも (B,C,H) の変異にも *Tpn1* 類縁因子が関与している。矢印は青色スポット。

### アサガオ近縁種の易変性変異

メキシコが原産で、18世紀頃欧米で園芸化されたマルバアサガオにも「条斑絞(*flaked*)」と呼ばれる絞り花を咲かせる易変性変異が知られている。この易変性変異は、*Ac/Ds* 系のトランスポゾン *Tip100* が色素合成系遺伝子に挿入した自然突然変異であった。さらに、マルバアサガオの花色に関する安定な自然突然変異の中にも新たな *Ac/Ds* 系トランスポゾンの挿入変異変異系統もあることが判明した。これらの結果は、アサガオやマルバアサガオの園芸化や育種の過程に自然突然変異原としてのトランスポゾンが重要な役割を果してきたことを示唆している。また、20世紀中葉に米国で園芸化された鮮やかな青色の花を咲かせるソライロアサガオの白色花自然突然変異体もトランスポゾン挿入変異体であった。淡青色地に青色の小さなスポットの花を咲かせる自然突然変異は、色素合成に係る転写制御遺伝子内にタンデムな重複が起こった変異で、体細胞相同組換えが重複配列間で起きて復帰変異が生ずると思われる(図1-I)。

### イネの易変性変異

ゲノム配列の解明が行なわれた単子葉植物のイネは、全世界の人口の過半数の主食であり、また穀類のモデル植物でもある。しかしながら、トウモロコシの場合とは異なり、イネ

の易変性変異に関する解析はほとんどない。そこで、淡黄緑色地の葉に濃緑色のセクターが入る易変性 *virescent* 変異(図 2-A)をマップベースクローニングにより、*Ac/Ds* 系の *nDart* と名付けた新たなトランスポゾンの挿入変異であることを明らかにした。現在、このトランスポゾンの転移に係るエピジェネティックな転移制御の機構解明や *nDart* を利用した新たなイネのトランスポゾンタギング系の開発を行っている。

## 相同組換えを利用したイネゲノムの改変

イネのゲノム配列が明らかになるに従い、かなりのイネの遺伝子のホモログがシロイヌナズナには見出されないことも明らかになってきた。それ故、相同組換えによりゲノム上の

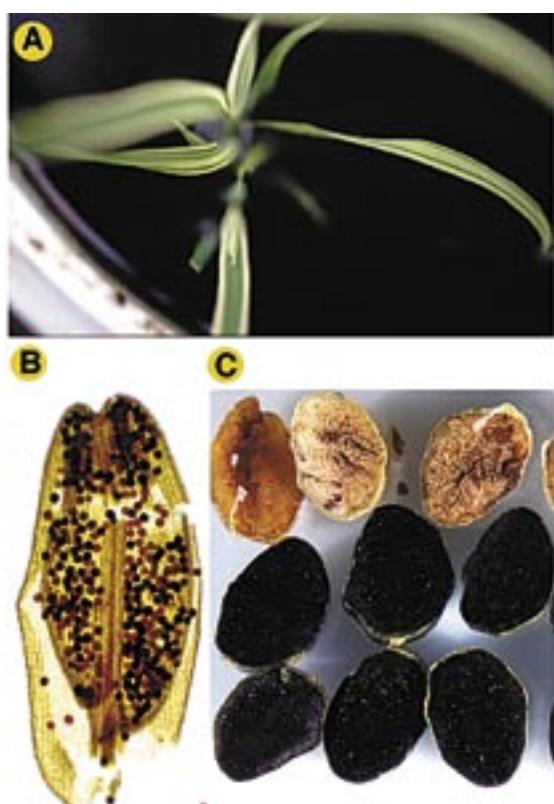


図 2. イネの易変性 *virescent* 変異 (A) と相同組換えにより *Waxy* 遺伝子が改変されたトランスポゾンタギングイネの葦 (B) と胚乳 (C)

1対の *Waxy* 遺伝子の片方がターゲットされたイネの葦中に 1:1 で含まれるウルチ性とモチ性の花粉と *Waxy* 遺伝子の次世代の胚乳での分離。ヨード染色によりウルチ性は濃く、モチ性は薄く染まる。

内在性遺伝子をあらかじめデザインした配列に正確に改変する遺伝子ターゲティング法は未知遺伝子の機能解明のための必要不可欠な “Reverse Genetics” の手法と考えられる。従来、高等植物においては導入遺伝子の非相同組換えによるランダムなゲノムへの挿入に比べて相同組換えは起こりにくいため、組換えや修復の過程に関わる遺伝子の機能を改変して、相同組換えと非相同組換えの起こる相対的頻度を改善し、ターゲットされた形質転換体を得ようとする研究に多くの関心が集まっている。しかしながら、ゲノム配列の解読後の機能ゲノム学的展開を視野に入れ、相同組換えのための遺伝子導入に伴って再生能や稔性の低下など種々の遺伝形質に影響を与えることは好ましくないと考え、ゲノム解析が進行していたイネ品種 ‘日本晴’ を用いて稀に生じる正しくターゲットされた体細胞相同組換えを多数の形質転換体中より探すことにした。そのため、我々は導入ベクターや選抜方法を工夫し、形質転換効率を高めて稀に起きる体細胞相同組換え体を効率的に選抜するイネの遺伝子ターゲティング法を開発し、食味に関わる *Waxy* 遺伝子をモデルとした遺伝子ターゲティングに成功した(図 2-B,C)。今後、さらにこの手法を用いてエピジェネティックス関連遺伝子などイネの重要な生体機能に係る遺伝子を改変して、ゲノムの動態の解明に迫りたいと考えている。

### 参考文献

1. Inagaki, Y., Hisatomi, Y., Suzuki, T., Kasahara, K., and Iida, S. (1994). Isolation of a *Suppressor-mutator/Enhancer*-like transposable element, *Tpn1*, from Japanese morning glory bearing variegated flowers. *Plant Cell* 6, 375-383.
2. Iida, S., Hoshino, A., Johzuka-Hisatomi, Y., and Inagaki, Y. (1999). Floricultural traits and transposable elements in the Japanese and common morning glories. *Annals New York Acad. Sci.* 870, 265-274.
3. Fukada-Tanaka, S., Inagaki, Y., Yamaguchi, T., Saito, N., and Iida, S. (2000). Colour-enhancing protein in blue petals. *Nature* 407, 581.
4. Terada, R., Urawa, H., Inagaki, Y., Tsugane, K., and Iida, S. (2002). Efficient gene targeting by homologous recombination in rice. *Nature Biotech.* 20, 1030-1034.
5. Iida, S., and Terada, R. (2004). A tale of two integrations, transgene and T-DNA: gene targeting by homologous recombination in rice. *Curr. Opin. Biotech.* 15, 132-138.
6. Park, K.I., Choi, J.D., Hoshino, A., Morita, Y., and Iida, S. (2004). An intragenic tandem duplication in a transcription regulatory gene for anthocyanin biosynthesis confers pale-colored flowers and seeds with fine spots in *Ipomoea tricolor*. *Plant J.* 38, 840-849.

### STAFF



飯田 滋  
教授



寺田 理枝  
助手



星野 敦  
助手



梅根 一夫  
助手



朴 慶一  
研究員

技術課技術職員	特別協力研究員	技術支援員
田中 幸子	香村 敏郎	森田 裕将
山口 勝司	大西 誠	小野 明美
博士研究員	総合研究大学院大学院生	浅尾 久世
定塚 恵世	島谷 善平	松本 美和子
森藤 晓	小野田志歩	島本 三樹
殷 彰顥		松田 知里
姜 恭好	特別共同利用研究員	事務支援員
	高木 恭子	三城 和子
	山内 卓樹	
	奥村 悠紀	



[www.nibb.ac.jp/gene2](http://www.nibb.ac.jp/gene2)

## ゲノム動態研究部門

正常に進行しなくなった時、その回避あるいは突破するため起こる生物反応の一部であろうと考えた。もしそうであれば、生物に普遍的な反応である可能性が高いと考え、この関係が真核生物でも成り立つかどうかを調べた。

**ゲノム**は非常に安定に振る舞う反面、融通無碍（ゆうずうむげ）に変化する面を合わせ持つ。それはメガ塩基レベルの大きな変化から、「変異」と呼ばれる 1 塩基レベルの小さな変化まで様々だ。当研究室ではこのようにダイナミックに変化するゲノムに焦点を当て、そのメカニズムと生物学的な意味を明らかにしようとしている。特にゲノム変化の原因となる「複製・組み換え・変異生成」などの分子レベルの過程と、「遺伝子増幅・遺伝子進化」などの生物学的に重要な過程の間に存在するであろうダイナミックな関係を突き止めたい。

### 複製阻害による組み換えの活性化

複製の阻害によって、組み換えが活性化されることを大腸菌で見出した。大腸菌ゲノムには複製を阻害する部位 (Ter と呼ぶ) が知られており、その阻害部位近傍の組み換え頻度が著しく上昇したからだ。このようにゲノム上に見出される高い組み換え領域を「組み換えのホットスポット」と呼んでいる。つまり複製阻害点はホットスポットになるが、複製阻害が起らなくなった変異株では、活性化した組み換えは消失し、他の領域と区別できなくなった。この現象は、複製が

### 複製阻害による遺伝子増幅

複製を阻害する部位は、バクテリアばかりでなく真核生物（酵母からヒトまで）のゲノムにも存在する。場所はリボソーム RNA 遺伝子 (rDNA と呼ぶ) にある。真核生物の rDNA は、典型的な「繰り返し（リピート）遺伝子」として知られている。例えば出芽酵母では約 200 コピーの rDNA が 12 番染色体の一個所に集中している。このようなリピート遺伝子は、高等動植物ゲノムに広く存在するリピート配列と同様不安定で、そのコピー数が常時変動している。また、何らかの理由でコピー数が激減しても自律的なコピー数の回復能力を有する。我々は複製阻害部位 (RFB と呼ぶ) における複製阻害が欠損した変異株を分離し、その原因遺伝子 (FOB1) を同定した。この遺伝子の産物 Fob1 タンパクは RFB に結合し、複製を阻害する。この変異株では rDNA 領域における組み換えばかりでなく、通常起こるはずの rDNA コピー数の増減が全く起こっていなかった。この現象は、基本的に大腸菌の複製阻害による組み換えの活性化モデルでうまく説明できる（詳しくは <http://www.nibb.ac.jp/gene2/>）。この発見が突破口となり、rDNA をモデルとして、組織された遺伝子増幅やその安定化の機構について当研究室で詳細な解析が進んでいく。また、大腸菌の Ter による複製阻害においても遺伝子増幅が起こることも見出した（図 1 参照）。

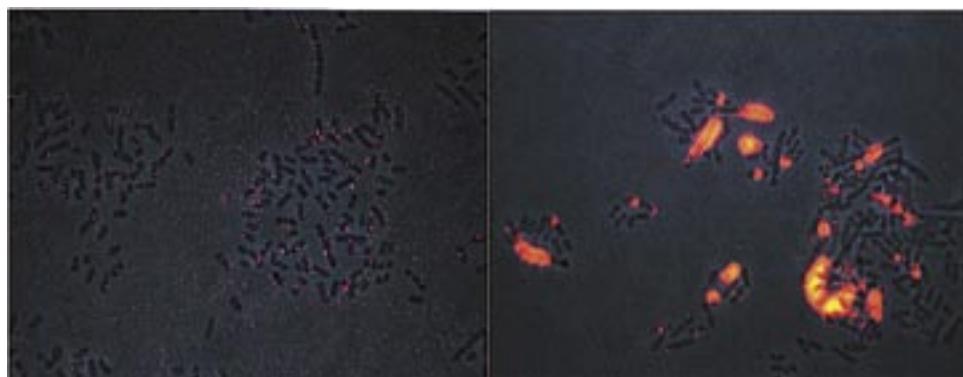


図 1. 大腸菌の複製阻害による DNA 増幅

複製阻害によって組み換えが活性化される領域 (Hot) を人为的に 2 コピーにしてやると菌の一部で爆発的な増幅が起こる (右)。左は 1 コピーのコントロール。蛍光標識した HotDNA を用いて FISH 法により観察した。

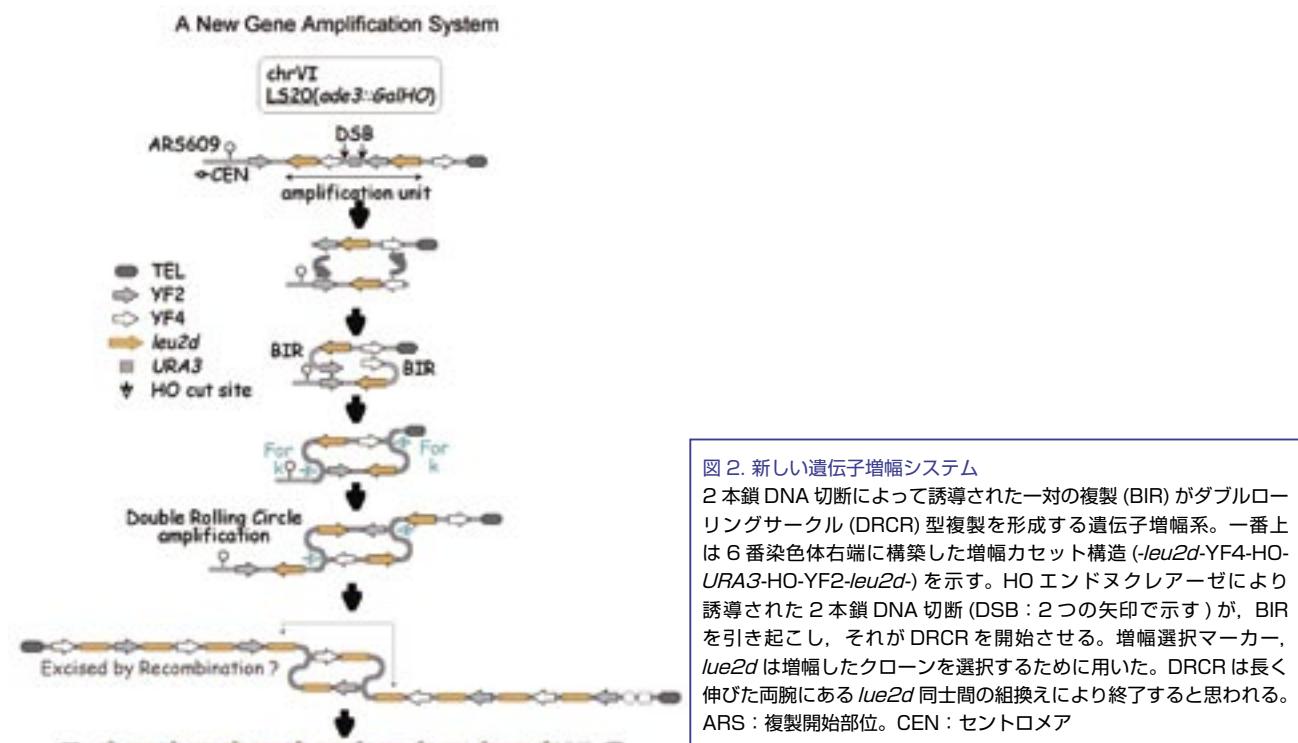
## 遺伝子増幅と遺伝子進化

「生物の進化」はもちろん生物学の大問題であるが、それには「遺伝子の進化」が起こる必要があろう。各生物種のゲノム配列決定により、多量で詳細な遺伝子構造間の比較がなされているものの、そこから遺伝子進化の遷移状態や機構が簡単にはわかりそうにない。一般には、遺伝子進化（一つの遺伝子から異なる機能を持つ遺伝子への変化）には、まず遺伝子コピーの増加が先行するという。次にそれらへの多数の変異が導入された後、選択圧が掛かり、それら遺伝子集団の中から新しい機能を獲得した遺伝子が選ばれるのが一つの考え方であろう。その視点から rDNA の増幅を見ると、その速度が 1 コピー / 世代で極めて遅く、環境の急激な変化（例えば農薬散布）には、より素早い増幅が要求されよう。そこで、出芽酵母を用いて、出来るだけ早い増幅速度を有する新たなシステムを考案し試みたところ、一世代で 100 コピー以上増幅する系を開発することが出来た（図 2 参照）。この解析から、ゲノム構造上の簡単な条件さえ満たせば、爆発的な遺伝子増幅が起り得ることが強く示唆された。この系を足掛

かりに、魅力に富んだ未知領域、「遺伝子増幅から遺伝子進化へ」の具体的過程の実像に迫りたい。

### 参考文献

1. Kodama, K., Kobayashi, T., Niki, H., Hiraga, S., Oshima, T., Mori, H., and Horiuchi, T. (2002). Amplification of Hot DNA segments in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 45, 1575-88.
2. Johzuka, K., and Horiuchi, T. (2002). Replication fork block protein, Fob1, acts as an rDNA region specific recombinator in *S. cerevisiae*. *Genes Cells* 7, 99-113.
3. Takeuchi, Y., Horiuchi, T., and Kobayashi, T. (2003). Transcription-dependent recombination and the role of fork collision in yeast rDNA. *Genes Dev.* 17, 1497-1506.
4. Kobayashi, T., Horiuchi, T., Tongaonkar, T., Vu, L., and Nomura, M. (2004). SIR2 regulates recombination between different rDNA repeats, but not recombination within individual rDNA genes in yeast. *Cell* 77, 441-453.
5. Watanabe, T., and Horiuchi, T. (2005). A novel gene amplification system in yeast based on double rolling-circle replication. *EMBO J.* 24, 190-198.
6. 小林武彦、竹内 靖、定塚勝樹、堀内 嵩 (2001). 「DNA 複製フォークの進行阻害と遺伝子増幅」蛋白質核酸酵素 増刊号『DNA 修復ネットワークとその破綻の分子病態』46, 1004-1012.



### STAFF



堀内 嵩  
教授



小林 武彦  
助教授



定塚 勝樹  
助手



渡邊 孝明  
研究員

#### 技術課技術職員

諸岡 直樹

#### 博士研究員

児玉 順一

崔 泰林

AUSTEN, Ganley

大住 克史

芹澤 尚美

#### 総合研究大学院生

板津 昌子

#### 事務支援員

三上由利子

#### 特別共同利用研究員

氏家 義史

#### 技術支援員

井川 紗美



## 生物進化研究部門

**形**の多様性は生物の大きな特徴である。多様な形態は個々の生物に固有の発生プログラムの違いによって生じている。では、発生プログラムはどのように進化し多様化したのだろうか。どのような遺伝子がどのように変化して発生プロセスが進化したか、即ち発生進化の分子機構を解明することが本研究部門のメインテーマである。

### 植物細胞の起源

植物細胞は原始真核細胞にラン藻が共生することによって進化した。原始真核細胞はどのような分子機構を進化させることによってラン藻を自由に制御できるようになったのだろうか。葉緑体運動を制御する因子の解析を通して共生進化の分子機構にアプローチしている。

### 単細胞から多細胞への進化

単細胞生物から多細胞生物へと進化する最初のステップは一つの細胞から二つの異なる細胞を作り出すこと、すなわち不等分裂である。コケ植物セン類のヒメツリガネゴケから単離したプロトプラストの最初の細胞分裂が幹細胞と非幹細胞への不等分裂であることに着目し、この不等分裂を制御する遺伝子群の単離、解析を行っている。EST解析によりカタログ化した約1万5千遺伝子の全長cDNAを順次プロトプラストで過剰発現し、不等分裂に異常を引き起こす遺伝子の探索を行い、これまでに約60個の不等分裂関連遺伝子の単離に成功し、機能解析をすすめている。

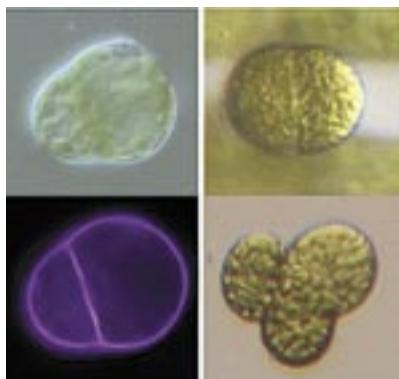


図1. ヒメツリガネゴケプロトプラストの正常な不等分裂（左上。左下は細胞壁を染色してある）と異常を示すもの（右上、右下）

### 細胞から組織への進化

植物細胞は動物細胞と異なり細胞壁で囲まれており動けず、形態形成運動の代わりに細胞分裂・伸長方向制御によってその後の組織形態が決定されるため、植物の発生進化に細胞形態制御機構の進化が大きな役割を果たしたと考えられる。植物の細胞分裂・伸長方向制御は表層微小管系により行われる。動物細胞では中心体から微小管が形成されるが、植物表層微小管がどのようにできるかはわかつていなかった。我々は表層微小管が既存の表層微小管から枝分かれすることによってできることを発見した。では、この植物特有の微小

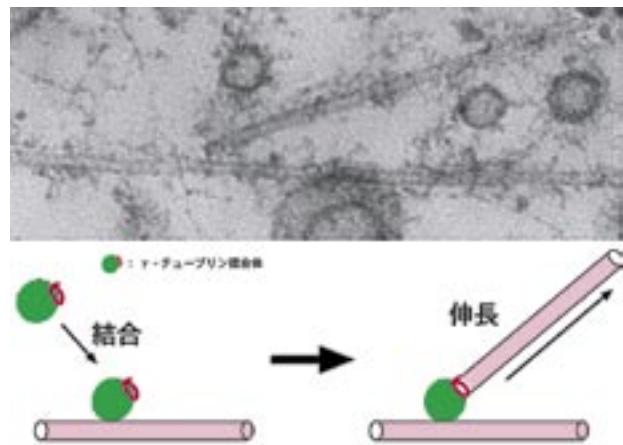


図2. タバコ培養細胞抽出液から作らせた微小管の分枝（上）と、微小管の分枝における $\gamma$ -チューブリンの役割のモデル（下）

管形成機構はどのように進化したのだろうか。表層微小管の分岐点にどのようなタンパク質が局在しているかを調べることによって動物細胞と異なった微小管形成機構がどのように進化したのかを明らかにすることを目指している。

### 分裂組織の形成・維持機構の進化

茎頂分裂組織から無限に茎葉が形成される発生様式は植物の大きな特徴であるが、その分子機構はよくわかつていな。我々は茎頂分裂組織の観察が容易なヒメツリガネゴケで遺伝子トラップ系を作出し、約2万ラインをスクリーニングし茎頂分裂組織特異的発現を示す遺伝子の解析をすすめている。また、茎頂分裂組織は陸上植物の中で多様性に富んでいる。そこで、被子植物の茎頂分裂組織形成維持に重要なKNOX, ZWILLE, NACなどの転写因子、オーキシンの極性輸送およびその排出キャリアーであるPIN遺伝子のシダやコケホモログの機能を調べることにより茎頂分裂組織の多様性の分子的実態を明らかにしようとしている。

## 花の進化

被子植物の生殖器官である花はホメオティック遺伝子によって形成される。花の起源と進化を調べるためにシャジクモ類、コケ植物、シダ植物、裸子植物における花器官形成ホメオティック遺伝子（MADS-box 遺伝子, *LEAFY* 遺伝子）ホモログの機能解析を行った。その結果、これらの遺伝子は元来、卵、精子形成に関わっており、植物が陸上化した前後に遺伝子重複によって数が増え、増えた遺伝子が機能分化することによって花器官が進化した可能性が高いことがわかった。

螺旋状に花器官をつけるモクレン類、総苞が花弁化したドクダミ、ガク片と花弁の区別が困難な *Amborella* やスイレン類での花器官形成遺伝子系をモデル植物と比較することにより、花形態多様性の分子基盤を明らかにしようとしている。



図3. ヒメツリガネゴケ *PpLEAFY* 遺伝子破壊体では、受精は起こるが受精卵の第一分裂が進行しない  
元来細胞分裂全般を制御していた *PpLEAFY* 遺伝子が進化の過程で花器官形成に特殊化したらしい。図は造卵器内の卵と精子。

## 世代の進化

コケ植物と被子植物は4億年前に分岐した。ヒメツリガネゴケの完全長cDNAライブラリーを作成し、約8万のESTシーケンスを行い、シロイヌナズナゲノムと比較した。その結果、被子植物はコケ植物と大きく形態が異なっているにも関わらずほとんど同じ遺伝子を持っていることがわかつ

た。約800程度の遺伝子だけがコケ特異的であり、これらは被子植物が進化する過程で失われてしまったものや、菌類などから平行伝搬してきたものらしい。ヒメツリガネゴケは植物の中で最も遺伝子ターゲティング効率が良いことから、分子生物学の新しいモデルとして注目されており、日米英独共同で核ゲノム解析を進めている。

## 種形成の分子機構

生殖的隔離は種形成の第一段階である。精子を含む花粉管が、卵を持つ胚珠に正確に誘導されることが生殖に必須であり、この誘導機構の変化が生殖的隔離へつながる。我々が開発したシロイヌナズナ *in vitro* 受精系を用いて花粉管誘導因子の探索を行っている。植物の70%以上は倍数体であり、倍数体化は植物の種形成の重要なモードとなっている。倍数体化に伴い巨大化などが生じるがその理由はわかっていない。この変化を引き起こす理由を調べるためにシロイヌナズナの人工倍数体において遺伝子発現がゲノムレベルでどのように変化しているかを調べている。

### 参考文献

1. Maizel, A., Bush, M. A., Tanahashi, T., Perkovic, J., Kato, M., Hasebe, M., and Weigel, D. (2005). The floral regulator *LEAFY* evolves by substitutions in the DNA binding domain. *Science* **308**, 260-263.
2. Tanabe, Y., Hasebe, M., Sekimoto, H., Nishiyama, T., Kitani, M., Henschel, K., Munster, T., Theisen, G., Nozaki, H., and Ito, M. (2005). Characterization of MADS-box genes in charophycean green alga and its implication for the evolution of MADS-box genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 2436-2441.
3. Tanahashi, T., Sumikawa, N., Kato, M., and Hasebe, M. (2005). Diversification of gene function: homologs of the floral regulator *FLO/LFY* control the first zygotic cell division in the moss *Physcomitrella patens*. *Development* **132**, 1727-1736.
4. Nishiyama, T., Fujita, T., Shin-I, T., Seki, M., Nishide, H., Uchiyama, I., Kamiya, A., Carninci, P., Hayashizaki, Y., Shinozaki, K., Kohara, Y., and Hasebe, M. (2003). Comparative genomics of *Physcomitrella patens* gametophytic transcriptome and *Arabidopsis thaliana*: Implication for land plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 8007-8012.
5. Hasebe, M., Wen, C.-K., Kato, M., and Banks, J. A. (1998). Characterization of MADS homeotic genes in the Fern *Ceratopteris richardii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 6222-6227.
6. Hasebe, M., Omori, T., Nakazawa, M., Sano, T., Kato, M., and Iwatsuki, K. (1994). *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 5730-5734.
7. 長谷部光泰 (2002) 発生と進化を結ぶヒメツリガネゴケ . 蛋白質核酸酵素 **47**, 1494-1499.

### STAFF



長谷部光泰  
教 授



村田 隆  
助教授



藤田 知道  
助 手



日渡 祐二  
助 手



佐藤 良勝  
研究員

技術課技術職員	総合研究大学院大学院生	平岩 宏基
住川 直美	橋本 薫	平松 美佳
博士研究員	特別共同利用研究員	牧野 治子
青野 直樹	森長 真一	渡瀬 昌洋
宮崎さおり	細川健太郎	事務支援員
特別協力研究員	小島 洋子	
小原 真理	技術支援員	
佐藤 良勝	青木栄津子	
研究員	市川 幸奈	
	後藤みさ子	
	棚橋 貴子	
	長谷川訓子	



生物の進化における重要な要素と考えられるものの一つは、多様化の原動力としての種分化・種形成のメカニズムである。その過程を理解するには、生物の新奇形質の獲得や新たな環境への適応が、遺伝学的・発生学的にどのようなプロセスで起こってきたか明らかにすることが必須である。本研究部門では、現在、アフリカ産カワスズメ科魚類の視覚をつかさどるオプシン遺伝子などを対象とし、分子的手法を用いて生物の種形成のメカニズムを明らかにしてゆく試みを行っている。

### 種分化・種形成のメカニズムを探る

アフリカ大陸のタンガニイカ湖、マラウイ湖、ビクトリア湖には、それぞれ数百種の固有のカワスズメ科魚類(シクリッド)が生息しており、爆発的な適応放散によって著しい多様



図1. 捕獲直後の *Pundamilia nyererei* ♂

体表の色彩パターンは雌が雄を交配相手として選ぶ際に重要と考えられている。

性を獲得していることで知られている。しかし、その種分化や多様化の背景となった遺伝子の変化はまだほとんど未解明である。本研究室では、特にアフリカ三大湖のシクリッド群集のうち、ビクトリア湖産群集にスポットを当て、爆発的種分化の背景を遺伝的に探ってゆくことを主な研究テーマとしている。

地質学的な証拠から、この湖は約12,000年前に一度完全に干上がったことが示唆されている。従って、この湖のシクリッド群集は、進化

## 種形成機構研究部門 (客員部門)

的に見て極めて若い群集であり、短期間のうちにわずかな祖先種から現在見られる数百種にまで種分化し、様々な形質の多様化を遂げたと考えられている。その証拠に、我々のグループのレトロポゾン解析などによって示されているように、ほとんどの中立的な遺伝子では、多型が存在している場合、複数の対立遺伝子が異種間で共有されていることが明らかになっている。これは逆に、特定の遺伝子が種分化・種形成に伴って正の選択圧を受けていた場合、それを検出する指標として対立遺伝子の置換という現象を用いることが出来るということを意味する。

シクリッドは、交配相手の選択や捕食などにおいて視覚に大きく依存していることが知られている。本部門では視物質であるオプシンに着目し、ビクトリア湖で採集された各種個体において上記アプローチによる分子進化学的な解析を進めしており、観察された変異が種分化・種形成に関わるどのような要因に関与してきたのか考察を進めている。

### 参考文献

1. Sugawara, Y., Yerai, Y., Imai, H., Turner, G. F., Koblmüller, S., Sturmbauer, C., Shchida, Y., and Okada, N. (2005). Parallelism of amino acid changes at the RH1 affecting spectral sensitivity among deep-water cichlids from Lakes Tanganyika and Malawi. Proc. Natl. Acad. Sci. USA in press.
2. Terai, Y., Takezaki, N., Mayer, W.E., Tichy, H., Takahata, N., Klein, J., and Okada, N. (2004). Phylogenetic relationships among East African haplochromine fishes as revealed by short interspersed elements (SINEs). J. Mol. Evol. 58, 64-78.
3. Terai, Y., Mayer, W.E., Klein, J., Tichy, H., and Okada, N. (2002). The effect of selection on a long wavelength-sensitive (LWS) opsin gene of Lake Victoria cichlid fishes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 15501-15506.
4. Sugawara, T., Terai, Y., and Okada, N. (2002). Natural selection of the rhodopsin gene during the adaptive radiation of East African great lakes cichlid fishes. Mol. Biol. Evol. 19, 1807-1811.
5. Takahashi, K., Nishida, M., Yuma, M., and Okada, N. (2001). Retroposition of the AFC family of SINEs (short interspersed repetitive elements) before and during the adaptive radiation of cichlid fishes in Lake Malawi and related inferences about phylogeny. J. Mol. Evol. 53, 496-507.
6. Takahashi, K., Terai, Y., Nishida, M., and Okada, N. (2001). Phylogenetic relationships and ancient incomplete lineage sorting among cichlid fishes in Lake Tanganyika as revealed by analysis of the insertion of retrotransposons. Mol. Biol. Evol. 18, 2057-2066.

### STAFF



岡田 典弘  
教 授



高橋 一彦  
助 手



佐々木 剛  
研究員

博士研究員  
溝入 真治

技術支援員  
三浦 誓子

## 構造多様性研究室

チョウの翅は、単層上皮の袋が封筒のようにたたまれたものであり、幾何学的構造および構成細胞の種類のシンプルさゆえに、形態形成過程を考えるのに適した材料である。この系を使って、成虫翅の輪郭形成過程および、その周辺のメカニズムを調べている。

鱗翅目昆虫（チョウやガ）の翅は、幼虫期に成虫原基の形で準備されているものが、蛹の期間に大きく面積を拡大するとともに、その輪郭の形も変化して成虫の翅として完成する。たとえばアゲハチョウの尾状突起も、このようにして蛹の期間に形作られる。この輪郭の変化が、脊椎動物の指の形成過程で知られるアポトーシス（プログラムされた細胞死）と類似のしくみによって引き起こされていることを既に報告した。すなわち、蛹の翅の周縁部に境界線ができ、その外側が急速に細胞死を起こす一方、内側が鱗粉形成などの分化をして、成虫の翅が完成するのである。

アポトーシスをおこした細胞は、翅を作っている2枚の細胞シート（上皮）の隙間にいるマクロファージによって速やかに貪食・除去される。その後分かったところでは、細胞死の時期の前後で、境界線の内側でだけ翅の2枚の上皮間の接着が強くなってマクロファージが入り込めなくなり、その結果、細胞死を起こす部分にマクロファージが濃縮されて、死んだ細胞の貪食が効率よく行われるようになっているらしい。

翅の形態形成の過程では、気管およびトラキオール（毛細気管）が何度も進入して、空気供給をおこなうとともに、翅脈の配列や斑紋パターンを形作る因子として作用しているらしい。一部の気管の走行が、上記の細胞死の境界線と重なっていることから、この過程にも注目し、終令幼虫から蛹をへて成虫にいたる過程で、気管やトラキオールの変化を、光顕・電顕を併用して詳細に観察している。このような研究は、翅脈依存性の斑紋パターンのなりたちを研究する基礎としても重要である。

このほかに、光学顕微鏡・電子顕微鏡などの経験を生かして、所内の神経生理学研究室や性差生物学研究部門などの共同研究を行っている。2005年度から連携・広報企画運営戦略室を兼任し、研究所全体の国際連携および広報関連業務に広く関わることになったので、今後は主にこのような共同研究の形で研究所の研究活動に寄与していきたいと考えている。

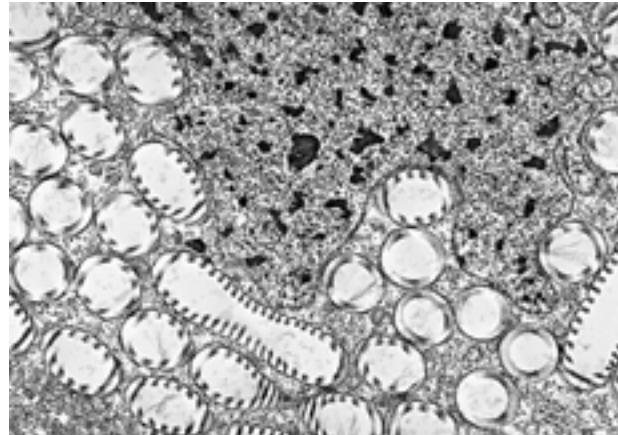


図1. トラキオール（毛細気管）細胞の透過型電子顕微鏡観察像  
細胞内に既に形成されているトラキオールの断面が多数見える。細胞が移動するにつれて、その後ろにトラキオールが伸びていく。

### 参考文献

1. Kodama, R., Yoshida, A., and Mitsui, T. (1995). Programmed cell death at the periphery of the pupal wing of the butterfly, *Pieris rapae*. *Roux. Arch. Dev. Biol.* 20, 418-426.
2. Watanabe, E., Hiyama, T. Y., Kodama, R., and Noda, M. (2002). Nax sodium channel is expressed in non-myelinating Schwann cells and alveolar type II cells in mice. *Neurosc. Letters* 330, 109-113.

### STAFF



児玉 隆治  
助教授



**生**体内に存在するホルモンや生体を取り巻く化学物質の作用・影響について個体レベルから分子レベルまでの総合的な研究視野から基礎研究を行っている。生物の発生・生殖・成長などの生命活動は内在性のエストロゲンやアンドロゲンといった性ホルモンに大きく依存しているが、近年棲息環境中に放出されている多くの化学物質の中にエストロゲン受容体に結合してエストロゲン類似作用を示したり、アンドロゲン受容体や甲状腺ホルモン受容体に結合してホルモン作用を阻害する物質（内分泌かく乱物質、ホルモン活性物質）が見いだされ、野生動物やヒトの内分泌系をかく乱している可能性がある。

### 生殖器官への不可逆的な影響

出生時のマウスの生殖器系の発達はヒトの妊娠3-4ヶ月の胎児の生殖器系の発達段階と相同であることから、周生期のマウスは、ヒトでの胎児曝露のモデルとなりうる。出生直後のマウスにエストロゲンやアンドロゲンを投与すると、本来のエストロゲンに対する反応性を失い、不可逆的な腫瘍上皮の角質化・腫瘍化、子宮の形成不全・扁平上皮化・腫瘍、輸卵管腫瘍、多卵性卵胞・多核卵、不妊などが誘起される。これらの組織の中で、特に不可逆的増殖が見られる腫瘍上皮についての研究が進んでいる。新生児期におけるエストロゲンの投与により増殖因子であるEGFが高発現しその受容体が活性化する。その後細胞内でタンパク質のリン酸化カスケードが動き、最終的にエストロゲン受容体のリン酸化・活性化が起こる。そして活性化したエストロゲン受容体によりEGFの転写が誘導されその受容体が活性化するというポジティブフィードバックループが出来上がる。これによって、エストロゲン非依存的な細胞増殖が制御されていると考えられる（文献1）。また不可逆的な増殖を起こしている腫瘍に特異的に発現している遺伝子の探索も行なっている（文献2）。現在エストロゲン受容体によってどのように細胞増殖が起こるのか、どのように角質化への分化が制御されているのか、その分子機構の解析を進めている。

[www.nibb.ac.jp/bioenv1/index-j.html](http://www.nibb.ac.jp/bioenv1/index-j.html)

## 分子環境生物学研究部門



図1. 周生期のDES投与によって誘起される腫瘍の不可逆的変化  
通常、卵巣を摘出すると、アボトーシスが増加するが、周生期にDESを投与されたマウスでは細胞増殖因子のmRNA増加や、細胞壞死因子の発現の低下が誘導されるため、アボトーシスが起らなくなる。さらにER発現も低下している。これらの現象と腫瘍化の関連が注目されている。

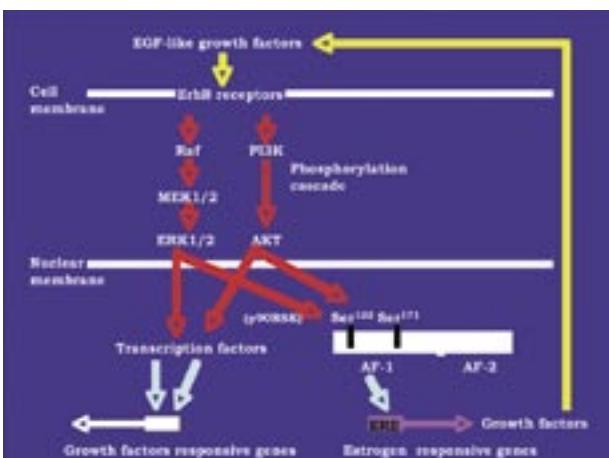


図2. マウス腫瘍におけるエストロゲン非依存的なエストロゲン受容体の活性化モデル

転写活性を有するエストロゲン受容体が成長因子の転写を高める。生成した成長因子が膜上に局在する成長因子受容体に作用すると細胞内でタンパク質リン酸化のカスケードが動き最終的にエストロゲン受容体の122番目、171番目のセリン残基をリン酸化する。するとエストロゲン受容体はリガンド非依存的な転写活性を持つようになる。

## 内分泌かく乱物質の作用機序の解明

内分泌かく乱物質の作用機序を明らかにするためのアプローチの一つとして、遺伝子発現のレベルからの解明を行っている。本来のステロイドホルモン受容体は転写因子であることから、エストロゲンや内分泌かく乱物質が転写に及ぼす影響を解析することにより、その機能的な共通性と特異性を見出そうとしている。DNAマイクロアレイを用いて約1万の遺伝子の発現状態を解析することにより、エストロゲンや内分泌かく乱物質が遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにしている（文献3,4）。これらの比較により、エストロゲン本来の遺伝子発現パターンと内分泌かく乱物質による遺伝子発現パターンが異なっていることを明らかにしてきており、こうした遺伝子の機能を解明していくことにより、内分泌かく乱物質の広範な影響について明らかにしていく。

## は虫類、両生類および魚類への影響

発生中の胚に対するエストロゲンや化学物質の影響はアフリカツメガエル、アメリカワニ、海産メダカのマミチョグやゼブラフィッシュで、骨形成の異常や性分化の異常として見いただされている。これらの動物では、エストロゲン受容体は胚にも存在し、エストロゲン様物質の影響を受ける可能性がある。エストロゲンおよびエストロゲン様物質の作用機構を解析するために、エストロゲン受容体、エストロゲン応答遺伝子のクローニングが不可欠であり、現在遺伝子の解析をすすめている（文献5）。さらに、発生途上の胚における性ホ

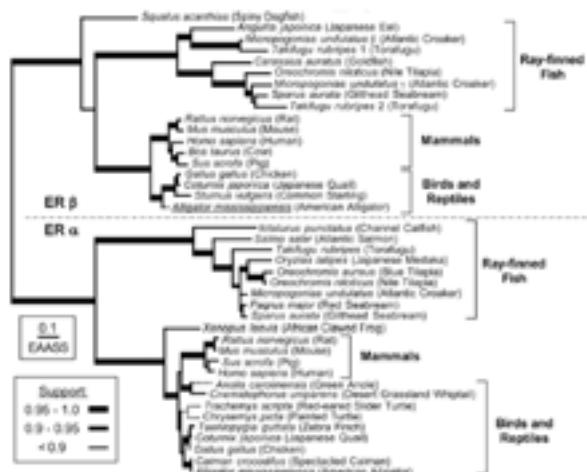


図3. エストロゲン受容体遺伝子の進化系統樹

ルモンや化学物質影響の解析も進んでいる（文献6,7）。

## エストロゲン様化学物質の検出

一般にビスフェノールAなどのエストロゲン様物質の検出には酵母を用いた系、培養細胞を用いた系、動物に投与して子宮肥大を観察する系などがある。実験動物に与えられる餌にどれほどのエストロゲン様物質が含まれているのかを酵母を用いた系を使って調べた（文献8）。餌に含まれている様々な植物由来のエストロゲン様物質により、餌はエストロゲン活性を持っていることが示された。この検定法は簡便であることから、様々な化学物質がエストロゲン活性を持つかどうかを調べる非常に重要な系を提供する。

### 参考文献

1. Miyagawa, S., Katsu, Y., Watanabe, H., and Iguchi, T. (2004). Estrogen-independent activation of erbBs signaling and estrogen receptor  $\alpha$  in the mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol. *Oncogene* 23, 340-349.
2. Miyagawa, S., Suzuki, A., Katsu, Y., Kobayashi, M., Goto, M., Handa, H., Watanabe, H., and Iguchi, T. (2004). Persistent gene expression in mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol. *J. Mol. Endocrinol.* 32, 663-677.
3. Watanabe, H., Suzuki, A., Goto, M., Lubahn, D.B., Handa, H., and Iguchi, T. (2004). Tissue-specific estrogenic and non-estrogenic effects of a xenoestrogen, nonylphenol. *J. Mol. Endocrinol.* 33, 243-252.
4. Watanabe, H., Suzuki, A., Goto, M., Lubahn, Osako, S., Tohyama, C., Handa, H., and Iguchi, T. (2004). Comparative uterine gene expression analysis after dioxin and estradiol administration. *J. Mol. Endocrinol.* 33, 763-771.
5. Katsu, Y., Bermudez, D.S., Braun, E., Helbing, C., Miyagawa, S., Gunderson, M., Kohno, S., Bryan, T., Guillette, L., and Iguchi, T. (2004). Molecular cloning of the estrogen and progesterone receptors of the American alligator. *Gen. Comp. Endocrinol.* 136, 122-133.
6. Kohno, S., Fujime, M., Kamishima, Y., and Iguchi, T. (2004). Sexually dimorphic basal water absorption at the isolated pelvic patch of Japanese tree frog, *Hyla japonica*. *J. Exp. Zool. A Comp. Exp. Biol.* 301, 428-438.
7. Sone, K., Hinago, M., Kitayama, A., Morokuma, J., Ueno, N., Watanabe, H., and Iguchi, T. (2004). Effects of 17beta-estradiol, nonylphenol, and bisphenol-A on developing *Xenopus laevis* embryos. *Gen. Comp. Endocrinol.* 138, 228-236.
8. Kato, H., Iwata, T., Katsu, Y., Watanabe, H., Ohta, Y., and Iguchi, T. (2004). Evaluation of estrogenic activity in diets for experimental animals using in vitro assay. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1410-1414.

### STAFF



井口 泰泉  
教 授



渡邊 肇  
助教授



勝 義直  
助 手



加藤 泰彦  
研 究員

### 技術課技術職員

水谷 健

博士研究員

漆谷 博志

総会研究大学院大学院生

小林 未佳

永田恵美子

中村 武志

### 特別共同利用研究員

加藤 英男

技術支援員

日名子 恵

高橋 紗里

小林かおる

事務支援員

今泉妙依子



## 葉の研究から植物を理解する

葉 私たちは「葉の形態形成」をキーワードとして、「植物」という生命を理解しようと試みている。

その第1の理由として、葉は植物の最も重要な基本器官であり、花弁などの花器官もすべて葉の変形した器官と考えられる。したがって、葉の形態形成の仕組みを明らかにすることでできれば、植物の地上部におけるかたち作りの仕組みは、大部分を理解できることになる。第2に、光合成の場である葉は、光など環境シグナルの受容部位であると共に、形態的な環境適応や可塑性が著しい。したがって葉形の制御機構を解明することは、植物の環境適応戦略の理解、あるいは植物形態の多様性形成機構の解明にも必須と考えられる。

そこで私たちはシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) をモデル植物に選び、この問題の解明をめざしている。これが本研究室の大きな柱である。さらに、葉形に関する基本的な制御系遺伝子が単離できれば、それは植物形態の多様性の遺伝子的背景を理解する上でも、有力な手がかりとなる。そのような立場から私たちは、植物の形態の多様性を対象としたエボデボ研究にも取り組んでいる。

## 葉の形を制御する遺伝子

これまでの発生遺伝学的解析の結果、世界に先駆け、シロイヌナズナより *AN*, *AS1*, *AS2*, *BOP1*, *ROT3*, *ROT4* 遺伝子等、葉形態を制御する遺伝子群の同定に成功してきた(図1、文献1)。中でも、シロイヌナズナの葉の全形が、縦方向と横方向との二方向それぞれ独立に制御を受けていた、という発見は、世界的に高く評価されており、海外の教科書にも引用されている。縦の長さを制御する *ROT3* はブラシノステロイド合成系に関与した遺伝子(文献2)、また横幅を制御する *AN* は動物の *CtBP* 遺伝子に類似した遺伝子(文献3)である。興味深いことに、それぞれ植物に特異的なサブファミリーの一員を構成しており、葉の形の制御系が植物で独自の進化を遂げたことを示唆している。

その意味で興味深いのは、細胞の増殖過程の遺伝制御を明らかにする過程で見つかった *ROT4* 遺伝子である。これはシロイヌナズナの国際ゲノムプロジェクトで見逃されてきた遺伝子で、小さなペプチドをコードする(文献4)。ペプチドが葉の細胞数の制御をしているという知見はこれが初めて

[www.nibb.ac.jp/bioenv2/indexj.html](http://www.nibb.ac.jp/bioenv2/indexj.html)

## 植物発生遺伝学研究部門

であり、しかもこの遺伝子産物と相同性のあるペプチドは、種子植物以外からは見つかっていない。動物にはない特異な細胞増殖制御系として、植物のボディプラン進化のメカニズムを知る上で、重要な手がかりではないかと期待される。

その他、葉の厚さの制御、あるいは光や重力等の外部環境因子の作用など、他の側面についての解析をも行なうことで、葉の形態制御系のネットワークを一つ一つ明らかにしている。

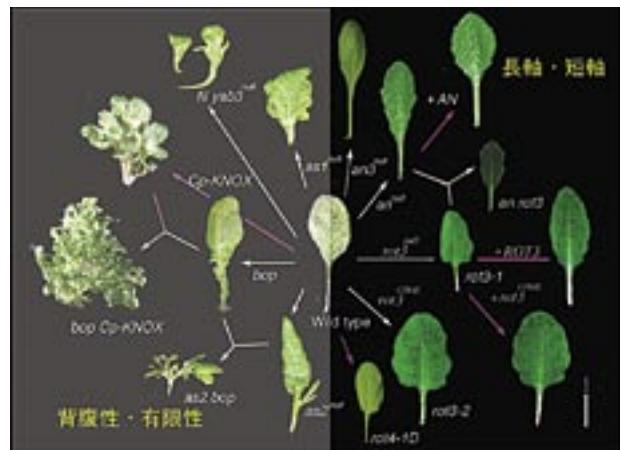


図1. シロイヌナズナの葉形を制御する遺伝子群とその形態的な作用  
右半分に示される遺伝子群は、葉の縦あるいは横といった平面上の極性伸長を制御しており、葉の長さや幅の決定に深く関わっている。左半分に示される遺伝子群は、葉の背腹性や形状の複雑さに深く関わっていると共に、葉原基の分裂組織の制御を行なっている。白矢印は、遺伝子の機能喪失を、紫の矢印は、遺伝子の人为的な構成発現を示す。

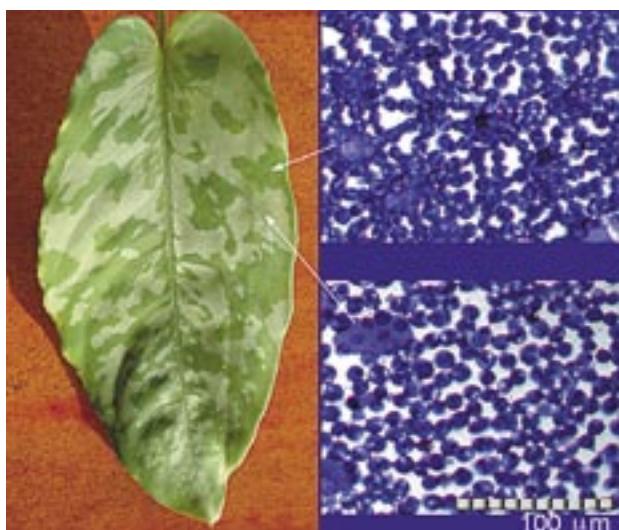
## 葉を構成する細胞数はどのように制御されているのか

一方、私たちはこれまでに葉の有限成長性に注目した研究も進めてきた。その過程で、*AS2* および *bop1* の解析(文献5)から、葉において、ホメオボックス遺伝子である *KNOX* の発現を抑制する *AS2* や *BOP1* の存在を明らかにした。これらの遺伝子の異常により、葉は無限成長性を獲得してしまう。しかし本来葉は、有限成長型の発生様式を持つという点で大きな特徴を示す器官である。すなわち葉の発生の過程で、葉を構成する細胞は有限回数の細胞分裂しかしない。興味深いことに、細胞分裂回数の低下が起ると、葉ではそれを補償するかのように細胞体積の増加が起きることが多い。そこで、私たちはこれを補償作用と命名した(文献6)が、補償作用の正体、そのメカニズムについては現在、全く不明である。そこで私たちは現在、植物に特異的な発生制御過程・補償作用の分子メカニズムも明らかにしようと、葉を構成する細胞数、細胞体積の制御系の変異体の解析も進めている。こ

これまでに新たな変異体 *an3* とその原因遺伝子の同定を皮切りとして、多数の補償作用の変異体を単離することに成功しており、これらを用いて、その特異な性質の解明を行なっている。本テーマは、多細胞生物が器官のサイズをどのように決めているか、という大きな課題の解明に結びつく重要な視点であり、今後が期待される。

## 自然界における葉の形の多様性はどのような遺伝子変異によって生じてきたのか

上記のように、シロイヌナズナを用いた解析から、次第に葉の形態を司る基本制御系が明らかになってきている。それを踏まえ、自然界における葉の形態の多様性の、遺伝子的な背景を明らかにできないか、というエボデボ的な観点からの試みも始めた。現時点で特に注目している葉の進化形態は、渓流沿い植物に見られる狭葉形質の進化や、屋久島における植物の矮小化、日本各地の島嶼および神社仏閣におけるオオバコの矮小形質の進化である。これまでに、種子植物における渓流沿い環境に対する狭葉形質は、葉を構成する細胞数の減少によることを明らかにしてきたほか、屋久島矮小型のヤクシマネジバナやヒメツルアリドオシなど、矮小形質を示す植物群については、その推定母種との間の分子系統学的な位置づけを明らかにしてきた。いずれの進化形質も、葉を構成する細胞の制御系に鍵があると見られることから、これらの点に関しては、前述のように、シロイヌナズナを用いた解析により、原因遺伝子変異の探索を試みている。



またより一般的な視点として、<葉>をキーワードとした植物形態の多様性の理解を一層進めるべく、アジア各地域のフィールド調査を軸とした解析を行なっている。その結果、未記載の遺伝子交流や新分類群の存在、新たなタイプの構造的斑入り（図2、文献7）の存在など、これまでに見逃されてきたような、様々な植物多様性が見いだされてきた。

将来の展望として、以上のような成果の蓄積を有機的に統合することで、自然界での葉の形態の多様性の理解と、シロイヌナズナにおける分子メカニズムの理解とを直結させるべく、研究を進めている。

### 参考文献

1. Tsukaya, H. (2002). Leaf Development, The *Arabidopsis* Book, eds. C.R. Somerville and E.M. Meyerowitz, doi/10.1199/tab.0072, <http://www.aspb.org/downloads/arabidopsis/tsukaya.pdf>
2. Kim, G.-T., Fujioka, S., Kozuka, T., Tax, F.E., Takatsuto, S., Yoshida, S., and Tsukaya, H. (2005). The biosynthesis of active forms of brassinosteroids in *Arabidopsis*. *Plant J.* 41, 710-721.
3. Kim, G.-T., Shoda, K., Tsuge, T., Cho, K.-H., Uchimiya, H., Yokoyama, R., Nishitani, K., and Tsukaya, H. (2002). The *ANGUSTIFOLIA* gene of *Arabidopsis*, a plant *CtBP* gene, regulates leaf-cell expansion, the arrangement of cortical microtubules in leaf cells and expression of a gene involved in cell-wall formation. *EMBO J.* 21, 1267-1279.
4. Narita, N. N., Moore, S., Horiguchi, G., Kubo, M., Demura, T., Fukuda, H., Goodrich J., and Tsukaya, H. (2004). Over-expression of a novel small peptide *ROTUNDIFOLIA4* decreases of cell proliferation and alters leaf shape in *Arabidopsis*. *Plant J.* 38, 699-713.
5. Ha, C.-H., Kim, G.-T., Kim, B.-C., Jun, J.-H., Soh, M.-S., Ueno, Y., Machida, Y., Tsukaya, H., and Nam, H.-G. (2003). The *BLADE-ON-PETIOLE* gene controls leaf pattern formation through regulation of meristematic activity. *Development* 130, 161-172.
6. Tsukaya, H. (2003). Organ shape and size: a lesson from studies of leaf morphogenesis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 57-62.
7. Tsukaya, H., Okada, H., and Mohamed, M. (2004). A novel feature of structural variegation in leaves of tropical plant, *Schismatoglottis calyptata*. *J. Plant Res.* 117, 477-480.

### 図2. 葉の構造斑入り

熱帯雨林の林床には構造斑入りを葉に示す植物が多い。*Schismatoglottis* 属からは、柵状組織の配列の違いにより斑入りを生じる事例が新たに発見された（文献7）。

### STAFF



塚谷 裕一  
助教授



堀口 吾朗  
助手



石川 直子  
研究員

#### 博士研究員

FERJANI, Ali  
矢野 覚  
山口 貴大

#### 総合研究大学院大学院生

#### 事務支援員

間野 絵梨子

小島 洋子

藤倉 潮

#### 技術支援員

高部 恵理子  
山口 千波  
名倉 真子



**私**たちは植物の形作りに重要な光の作用をシダやシロイヌナズナを使って研究している。特に光合成が行われる細胞小器官である葉緑体が光条件によって葉の細胞内を移動する現象を解析し、そのメカニズムと意義を明らかにしたい。また遺伝子機能の解明に有効な技術の開発にもたずさわっている。

### 葉緑体光定位運動

食物を食べてエネルギーを獲得する動物と違って、植物は太陽光をエネルギー源として光合成を行い、有機物を自ら合成して自活している。植物の生活にとって最も重要な戦略は、いかにして光合成を効率的に行うかである。植物は弱光下では葉緑体を細胞表面に集め、効率よく光を吸収し、強光下では、葉緑体の傷害をさけるために細胞の脇側の細胞壁に移動する。これらの現象は19世紀から知られており、また植物細胞には普遍的な現象であることから、植物にとって重要な現象であると考えられる。そこで我々は実際に植物にとってどれほど重要な現象であるのか、また光の強弱を閲知しているのはどのような色素系であるのかを解析してきた。光受容や移動のメカニズムについてはまだ解明されていない部分が多く、今後の我々の研究に託されている。

### トランスポゾンと遺伝子サイレンシング

遺伝子解析の結果、アミノ酸配列が明らかになったが機能がわからない遺伝子が膨大な数に上っている。我々は機能未知の遺伝子作用を明らかにする手法を開拓するために、相同組み換え技術の開発、トランスポゾンの解析、遺伝子サイレンシングの利用法などをイネやシダを使って行っている。新

#### STAFF



和田 正三  
特任教授



山内 大輔  
助教授  
(兵庫県立大学大学院 生命理工学研究科)

助手  
菊池 一浩  
特別訪問研究員  
末次 憲之  
博士研究員  
豊岡(河合)博子  
特別協力研究員  
坪井 秀憲  
技術支援員  
清水 峰子

### 光情報研究部門 (客員部門)

しいトランスポゾンの発見や、シダではDNA断片による特異な遺伝子サイレンシングの発見があり、これらの現象の今後の利用に向けて技術の確立を急いでいる。

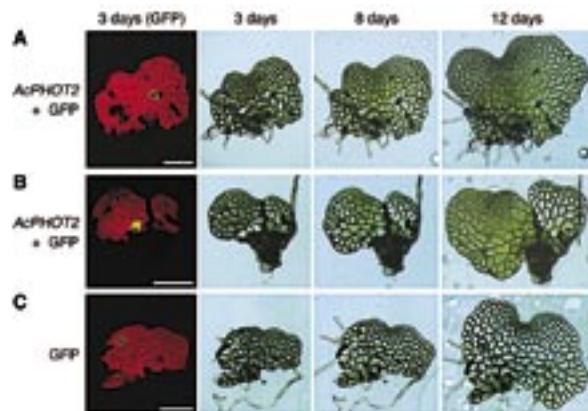


図1. シダの前葉体は他の組織に囲まれていないため、葉緑体運動を観察するには、絶好の材料である

強光下では葉緑体は細胞表面から逃避するが、我々は逃避運動を仲介する光受容体がフォトトロビン2であることを明らかにした(Science 2001)。一方シダ前葉体ではある遺伝子配列の一部をDNA断片として細胞に導入すると、RNA干渉(RNAi)のようにその遺伝子の機能を押さえられることを発見した(Plant Cell Physiology 2004)。我々はこの現象をDNA干渉(DNAi)と呼んでいる。図1はホウライシダの前葉体にフォトトロビン2のcDNA断片をparticle bombardmentで導入し、葉緑体の強光反応が阻害されたもの(AおよびBの最左列)とその対照(C)の時間変化である。GFPの蛍光を発する1細胞から、DNAiの情報が時間の経過に伴って、前葉体に広がって行くこと(A)、その情報は生細胞を通して伝達されること(B)が観察された。GFP蛍光の周りの赤色蛍光はクロロフィルの蛍光。

#### 参考文献

1. Kagawa, T., and Wada, M. (2004). Chloroplast avoidance movement rate is fluence dependent. *Photochem. Photobiol. Sci.* 3, 592-595.
2. Kawai-Toyooka, H., Kuramoto, C., Orui, K., Motoyama, K., Kikuchi, K., Kanegae, T., and Wada, M. (2004). DNA interference: a simple and efficient gene-silencing system for high-throughput functional analysis in the fern *Adiantum*. *Plant Cell Physiol.* 45, 1648-1657.
3. Kagawa, T., Kasahara, M., Abe, T., Yoshida, S., and Wada, M. (2004). Function analysis of Acphot2 using mutants deficient in blue light-induced chloroplast avoidance movement of the fern *Adiantum capillus-veneris* L. *Plant Cell Physiol.* 45, 416-426.
4. Kasahara, M., Kagawa, T., Sato, Y., Kiyosue, T., and Wada, M. (2004). Phototropins mediate blue and red light-induced chloroplast movements in *Physcomitrella patens*. *Plant Physiology* 135, 1388-1397.
5. Wada, M. (2005). Chloroplast movement. In *Light Sensing in Plants*, M. Wada, K. Shimazaki, and M. Iino, eds. (Tokyo, Springer-Verlag), pp. 193-199.
6. Yamauchi, D., Sutoh, K., Kanegae, H., Hiroguchi, T., Matsuoka, K., Fukuda, H., and Wada, M. (2005). Analysis of expressed sequence tag in prothallia of *Adiantum capillus-veneris*. *J. Plant Research* in press.

## 光環境学研究室

**微生物**の多様性に着目しつつそれらの光センシング反応の現象論的解析を続け、その結実として、世界で全く予想されていなかった一人三役の光センサーである「光活性化アデニル酸シクラーゼ」(PAC)を、ミドリムシの青色光センシングの実体分子として発見するに至った。

### 背景

ミドリムシ（下図）は、鞭毛を動かして水中を泳ぎ回り、また、植物と同じく光合成をする単細胞生物である。また、光に向かって集まる、いわゆる「走光性」を示す生物としてもよく知られている。では、ミドリムシはどのように光を感じて明るい所へ集まつたり、強い光を避けたりするのであろうか？このような、光感覚の仕組み、とりわけ、光センサーの実体については、100年以上の研究が積み重ねられて來たが、明確な答えは得られなかった。最近、私たちは、この長年の謎に関して決定的な答えを得た（文献1）。



### PACの発見

まず、基礎生物学研究所の大型スペクトログラフを用いてミドリムシの運動に注目した波長感度を調べたところ、紫外線と青色光が有効であり、このことからビタミンB2の仲間であるフラビンが関与していることが推察された。次に、ミドリムシの細胞内で光を感じる部分と考えられている構造体を単離し、その中に含まれるフラビンを結合したタンパク質を精製・分析した。その結果、このタンパク質は青色光で活性化されるアデニル酸シクラーゼの性質を持つことが明らかになった。アデニル酸シクラーゼは、多くの生物の細胞内情報伝達系において重要な役割を果たす環状アデノシン一リン酸（cAMP）を產生する酵素であるが、このような、自身が光センサーとして機能するアデニル酸シクラーゼは從来全く知られておらず、極めてユニークな分子と言ってよい。私たちはこれを光活性化アデニル酸シクラーゼ（PAC）と名付けた。

### PACの進化的由来

では、ミドリムシはこのユニークな光センサーをどのように獲得してきたのだろうか？私たちは、数種類のミドリムシ近縁生物からPAC類似タンパク質をコードするcDNAを検出し、得られた配列のアデニル酸シクラーゼ触媒領域について系統解析を行った。その結果、PACは二次共生による葉緑体獲得時あるいはそれ以降に出現したものと推測された（文献2）。



### PACの光活性化

また、私たちは、PACの光活性化の基本的な性質を明らかにするため、精製したPACのアデニル酸シクラーゼ活性に及ぼす光の効果を詳細に調べ、PACは光量依存的に活性化されること、PACの活性変化は数十ミリ秒オーダーのパルス光刺激に追従可能であること、等を明らかにした。これらの性質はミドリムシの光応答現象を説明するに足るものであり、また、将来、細胞工学的応用を考えるうえでの重要な基礎データでもある（文献3）。

### 将来の展望・夢と社会的意義

PACはそれ自身が光センサーとしても機能するユニークなアデニル酸シクラーゼである。そこでPACを細胞工学的に任意の細胞に導入すれば、光条件を変えることで、細胞内のcAMP濃度を人為的に変化させ、神経の走行方向・記憶・発生その他の生命活動をコントロールする「細胞機能光スイッチ」として応用することが可能となることを夢見ている。純基礎生物学的な研究から面白い成果が出ることがあるという例として社会の人たちに知って頂きたいと思っている。

#### 参考文献

- Iseki, M., Matsunaga, S., Murakami, A., Ohno, K., Shiga, K., Yoshida, K., Sugai, M., Takahashi, T., Hori, T., and Watanabe, M. (2002). A blue-light activated adenylyl cyclase mediates photoavoidance in *Euglena gracilis*. *Nature* 415, 1047-1051.
- Koumura, Y., Suzuki, T., Yoshikawa, S., Watanabe, M., and Iseki, M. (2004). The origin of photoactivated adenylyl cyclase (PAC), the *Euglena* blue-light receptor: phylogenetic analysis of orthologues of PAC subunits from several euglenoids and trypanosome-type adenylyl cyclases from *Euglena gracilis*. *Photochem. Photobiol. Sci.* 3, 580-586.
- Yoshikawa, S., Suzuki, T., Watanabe, M., and Iseki, M. (2005). Kinetic analysis of the activation of photoactivated adenylyl cyclase (PAC), a blue-light receptor for photomovements of *Euglena*. *Photochem. Photobiol. Sci.* 4, in press.

#### STAFF



共同研究員  
伊間 峰生  
鈴木 武士  
鈴木 淑子

博士研究員  
伊藤 慎治

渡辺 正勝  
教授  
(総合研究大学院大学 先導科学研究科)

## ストレス応答機構研究室

植物は生育している場所からの移動ができないため、常に変化する自然環境へ柔軟に適応することで自らの生育を可能にしている。例えば、光屈性や重力屈性が示すように、植物では環境変化に応じて成長軸の再決定がなされる。これは植物らしさという点において際立った特徴であるが、その分子機構は不明な点が多い。当研究室では、植物の形態形成における環境応答と成長軸再決定の関連についてホスホリバーゼ C (PLC) に焦点を当てて解析している。

### 植物特異的な PLC 活性化機構の解析

コケ植物のセン類に属するヒメツリガネゴケ *Physcomitrella patens* では、光屈性過程において PLC の活性が上昇する。その分子機構の解明を目的に、ヒメツリガネゴケから PpPLC1 ~ PpPLC5 の 5 つの cDNA とそれらに 対応する遺伝子の単離を行った。ヒメツリガネゴケや他の植物の PLC は構造的に哺乳類の δ 型 PLC (PLC δ 1) に大変良く似ているが、植物 PLC では PLC δ 1 の膜移行に必要な PH ドメインが存在しない (図 1)。一方、PpPLC1 は哺乳類 PLC と同様の酵素活性を有しており、その遺伝子を破壊すると形態形成に異常をきたす。これらのことより、植物の PLC 活性化機構は独自のものであることが推察された。今後はこの仮説の検証を行い、PLC を介した植物の環境応答と成長軸再決定との関連を明らかにしていく。

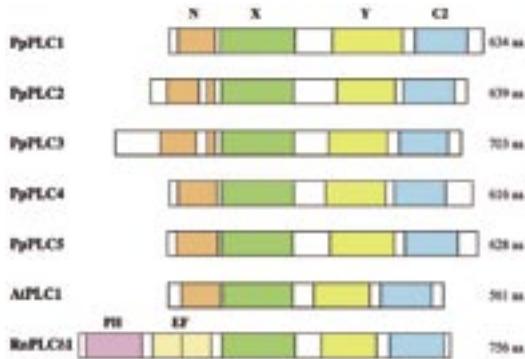


図 1. ヒメツリガネゴケ PLC の構造的特徴

クローニングした 5 つの PLC の基本構造は AtPLC1 等の高等植物のものと同一であった。X および Y 領域は触媒領域を形成し、N および C2 領域はその制御領域として機能する。哺乳類 PLC で膜移行に必須な PH 領域は、植物 PLC では保存されていない。At, シロイヌナズナ; Rn, ラット。

### 植物 PLC の機能獲得プロセスの遺伝子進化的解析

PpPLC2 と PpPLC3 は、N ドメインに挿入配列を持ち (図 1)、さらに Y ドメインの機能に必須なアミノ酸残基に

変異が見られる。また、PLC は通常ホスファチジルイノシトール 2 リン酸を基質とするが、PpPLC2 はこれを基質としない。さらに、系統樹を作成するとヒメツリガネゴケ PLC は他の植物 PLC に近い PpPLC1, PpPLC4, PpPLC5 とそうでない PpPLC2, PpPLC3 の 2 群に分かれる (図 2)。PpPLC2 や PpPLC3 と相同な PLC は他の植物には見られないことから、これらは進化の過程で失われた植物 PLC の原形に近いものと考えられた。今後は植物 PLC が独自の構造と活性化機構を持つようになった生物進化的な意義を形態形成や環境応答との関連において考えていきたい。



図 2. 植物 PLC の系統樹解析

ヒメツリガネゴケ PLC は PpPLC1, PpPLC3, PpPLC4 と PpPLC2, PpPLC3 の 2 つの異なるグループに分かれる。At, シロイヌナズナ; Vr, マングビーン; Gm, ダイズ; Nr, タバコ; St, トマト; Nt, タバコ; Bn, アブラナ; Ps, エンドウマメ; Mt, ウマゴヤシ; Os, イネ; Ds, メヒシバ。

#### 参考文献

1. Mikami, K., Repp, A., Graebe-Abts, E., and Hartmann, E. (2004). Isolation of cDNAs encoding typical and novel types of phosphoinositide-specific phospholipase C from moss *Physcomitrella patens*. *J. Exp. Bot.* 55, 1437-1439.
2. Repp, A., Mikami, K., Mittmann, F., and Hartmann, E. (2004). Phosphoinositide-specific phospholipase C is involved in cytokinin and gravity responses in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant J.* 40, 250-259.
3. Mikami, K., Katagiri, T., Iuchi, S., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K. (1998). A gene encoding phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase is induced by water stress and abscisic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 15, 563-568.

#### STAFF



三上 浩司  
助教授





**理**論生物学研究部門は、計算機や数理的手法を用いて、生命現象に取り組んでいる。増加し続ける生命科学の情報を統合し、高次生命現象の理解につなげるために、数理的手法は有効な手段である。特に、時空間中にパターンが展開する過程である発生・形態形成現象や、遺伝子制御ネットワークの解析を中心課題として、研究活動を行っている。

### 遺伝子制御ネットワークと細胞状態の多様性

一般に遺伝子の発現は、複数の転写因子の調節領域への結合により、コントロールされている。発生過程では、相互作用により遺伝子の活性に違いが生じ、多様な細胞状態や複雑な体制が実現されるのだと考えられる。我々は、遺伝子ネットワークを一般的に扱える数理モデルを開発し、発現レベルの動的な変化を数理的に解析した。その結果、「遺伝子の数や相互作用の数が、細胞分化状態の多様性に寄与しない」ことが、明らかとなった。つまり、進化の過程における遺伝子数の増加は、体制の複雑化の直接の原因ではない、と言える。さらに、複雑な遺伝子制御ネットワークから、細胞状態を制御する部分構造を、抽出する方法を開発した。これを現実の遺伝子情報に適用することで、特に重要な制御の局所構造を発見できると考えている。

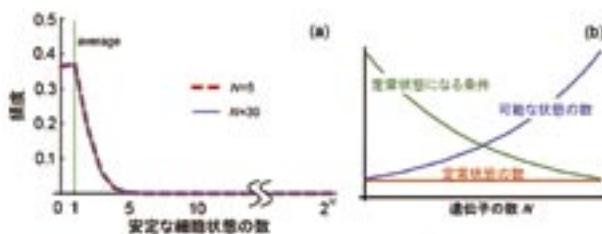


図1. 細胞状態の多様性は遺伝子数に依存しない

(a) 横軸は一つのネットワークが作る細胞状態の数。縦軸はその頻度。ネットワークのほとんどは、分化状態を数個しか持たず、遺伝子が増えてもそれは変わらない。実際の生物の遺伝子ネットワークは、分布の中心から極端に偏った位置にある。(b) 直感的説明。遺伝子が増えることによる状態数の増加と、定常の条件の変化がちょうど相殺する。

### 葉脈ネットワークパターン

葉脈は馴染み深いパターンであるが、その形成メカニズムはまだ明らかでない。葉脈形成の代表的な仮説である運河モ

[www.nibb.ac.jp/math](http://www.nibb.ac.jp/math)

## 理論生物学研究部門

デルによれば、シグナル分子である auxin の流量の大きい細胞がより流れやすい性質を獲得し、生じた分布の偏りに従って葉脈が分化する。auxin 輸送蛋白質を取り込んだ数理モデルを構築し、解析した。数値計算を行うと、伸長と分岐の繰り返しにより葉脈が作られる一方で、全体として等間隔のネットワークが形成された。また、パラメータを変化させることで、多様な葉脈パターンが再現できた。

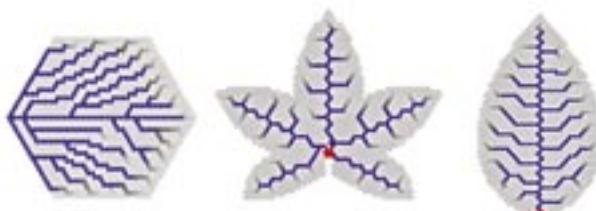


図2. 様々な葉脈パターン

### シアノバクテリア概日リズムの分子機構

シアノバクテリアは、時計遺伝子の発現振動による概日リズムをもつことが知られている。この振動の詳しいメカニズムは、未だ不明である。既知の情報を取り込んだ数理モデルを設定し、未知の機構についてありとあらゆる可能性を取り込んだ数理モデルを構築し、解析を行っている。振動が起きた条件を数理的に求めることで、現実の生物で働くメカニズムの予測が可能になると考えている。

#### 参考文献

1. Mochizuki, A. (2005). An analytical study of the number of steady states in gene regulatory networks. *J. Theor. Biol.* in press.
2. Fujita, H., and Mochizuki, A. (2005). Pattern formation by the positive feedback regulation between flow of diffusible signal molecule and localization of its carrier. *J. Theor. Biol.* in press.
3. Shoji, H., Mochizuki, A., Iwasa, Y., Hirata, M., Watanabe, T., Hioki, S., and Kondo, S. (2003). Origine of directionality in the fish stripe pattern. *Dev. Dyn.* 226, 627-633.
4. Ryohji, T., Mochizuki, A., and Iwasa, Y. (2003). Possibility of tissue separation caused by cell adhesion. *J. Theor. Biol.* 221, 459-474.

#### STAFF



望月 敦史  
助教授



藤田 浩徳  
研究員

特別協力研究員  
望月(綾部)慈子

総合研究大学院大学院生  
今村 寿子

事務支援員  
梅林 弘美

## ゲノム情報研究室

世界中で多様な生物種についてのゲノム解析が進み、急速にデータが蓄積している。これらのデータを生命現象の解明に役立てるために、特に比較ゲノム解析のアプローチを中心とした研究を行っている。すなわち、多数のゲノムを比較して、その間にみられるパターンの共通性と多様性を解析することによって、遺伝子の集合体としてのゲノムの成り立ちを理解し、それによってゲノムの進化過程を推定したり、機能未知遺伝子の機能を推定したりすることを目指す。この目的のため、大量のゲノムデータを比較するためのデータベースの構築や、ゲノム比較のための新しいアルゴリズムの開発などを行っている。

### 微生物ゲノム比較解析システム

ゲノムサイズが数メガ塩基程度の原核生物においては、全配列が決定されたゲノム数がすでに百を超え、なお数百のプロジェクトが進行中である。こうした圧倒的なデータ量と多様性を持つ微生物ゲノムの比較解析を推進するため、微生物ゲノム比較解析システム MBGD の構築を行っている。特に、比較解析を行う際に必要となる多数のゲノム間のオーソログ対応付けについて、効率的なアルゴリズムの開発を行っている。また、オーソログ分類の結果として得られる系統パターン(ある遺伝子が各ゲノム中に存在するかしないかというパターン)や融合タンパク質の存在などから遺伝子の機能推定を行える可能性が指摘されており、大量のデータを活用することにより、その可能性を高めることも目指している。

### 近縁ゲノムの比較解析

比較的類縁度の高いゲノムを比較することによって、ゲノム構造の進化などについても、より詳細な解析ができる。すでに *Bacillus* 関連種など、複数の類縁ゲノムが決定されたケースがいくつか存在するので、MBGD を活用しつつ、国内のゲノム研究者と共同で具体的なゲノムの解析を行っている。特に、原核生物のゲノム進化においては、通常の垂直伝搬に加えて水平伝搬も考慮しなければならないが、ゲノム比較を通じてその実態を明らかにすることを目指した研究も行っている。

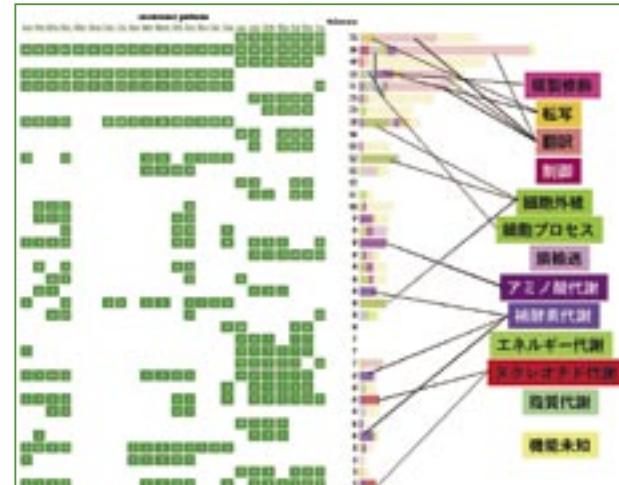


図 1. MBGD で作成されたオーソログ分類に基づく系統パターンと遺伝子機能との対応関係

#### 参考文献

1. Nobusato, A., Uchiyama I., Ohashi, S., and Kobayashi, I. (2000). Insertion with long target duplication: a mechanism for gene mobility suggested from comparison of two related bacterial genomes. *Gene* 259, 99-108.
2. Kuroda, M., Ohta, T., Uchiyama, I., Baba, T., Yuzawa, H., Kobayashi, I., Cui, L., Oguchi, A., Aoki, K., Nagai, Y., et al. (2001). Whole genome sequencing of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 357, 1225-1240.
3. Takami, H., Takaki, Y., and Uchiyama, I. (2002). Genome sequence of *Oceanobacillus iheyensis* isolated from the Iheya Ridge and its unexpected adaptive capabilities to extreme environments. *Nucleic Acids Res.* 30, 3927-3935.
4. Uchiyama, I. (2003). MBGD: Microbial genome database for comparative analysis. *Nucleic Acids Res.* 31, 58-62.
5. Takami, H., Takaki, Y., Chee, G.-J., Nishi, S., Shimamura, S., Suzuki, H., Matsui, S., and Uchiyama, I. (2004). Thermoadaptation trait revealed by the genome sequence of thermophilic *Geobacillus kaustophilus*. *Nucleic Acids Res.* 32, 6292-6303.

#### STAFF



内山 郁夫

助手

計算科学研究センター  
基生研電子計算機室担当



**所長研究室**では、以下のテーマで、遺伝子操作マウスを作り解析を進めている。

### ドーパミン神経系の機能解析

ドーパミンは中枢神経の神経伝達物質で、受容体を介して、運動の制御、情動、報酬系など、心の働きにも関与する重要な働きをしていると考えられる。ヒトでは、その働きが衰えたり、過剰になると、パーキンソン病や統合失調症などになると言われてきた。ドーパミン受容体は5種類のサブタイプ(D1, D2, D3, D4, D5)が存在し、所長研究室では、ドーパミン受容体として重要なD1受容体(D1R)、D2受容体(D2R)の欠損マウスを作り、さらに、D1R / D2R二重欠損マウスを作り観察したところ、D1R欠損マウスとD2R欠損マウスのそれぞれには特徴的な運動の亢進と低下とが認められるが、成長し生殖能力も持つことが判った。一方、D1R / D2R二重欠損マウスは、吸乳は順調に出来るものの、離乳期にさしかかると、急速に運動量が低下し、また摂食がまったく見られず、生後3週目頃に餓死することが判った。

このことは、ドーパミン神経系が運動系または食欲を支配する領域で発達に関与していることを示唆している。

そこで、テトラサイクリン系の条件的遺伝子発現システムを使い、D1R / D2R二重欠損の遺伝背景にD1R遺伝子の発現制御可能なマウスの作製を試みた。その結果、見事に条件的遺伝子発現を示すマウスが得られ、現在、その生産段階に入っている。このマウスを使って今後、分子生物学・形態学・行動学的な実験を行う予定である。

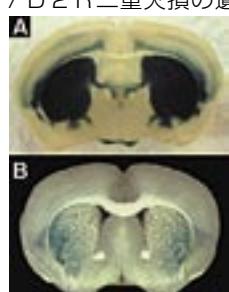


図1. テトラサイクリン遺伝子発現システム用いて作成されたD1R遺伝子条件的発現マウス  
(A) ドキシサイクリン(Dox)投与前には線条体での導入遺伝子発現がマーカー遺伝子のX-gal染色により検出される。(B) Dox投与により導入遺伝子の発現が抑制される。

### NMDA型グルタミン酸受容体(NMDA受容体)の機能解析

NMDA受容体は、多くの実験から、記憶と学習とに関連していると考えられている。我々もNMDA受容体のうちNR2Aサブユニット、NR2Bサブユニットの欠損マウスを作り解析してきたところ、その過程で、二重欠損マウスのうちNR2Aホモ / NR2Bヘテロマウスにおいて、統合失調症に観られる行動異常を観察した。そこで、今後、行動測定

## 所長研究室

の新しい装置を開発し、機能解析研究を深めていきたい。

### ras遺伝子の欠損と脳での働き

ras遺伝子ファミリーとして、H-, N-, K-rasが存在し、癌組織において高頻度にras遺伝子の活性化が観察される。Rasタンパク質は多くの組織に重複して発現し、個体の発生、細胞増殖・分化の情報伝達に関わることが知られている。しかし、個々のras遺伝子の特定の生理機能の解明、特定の癌組織における個々のras遺伝子の活性化機構の解明などの課題も多い。我々はH-, N-, K-ras遺伝子の欠損マウスを作成し、H-rasタンパク質は、海馬での記憶に関与していることを明らかにしてきた。今後、H, N, Kの3つの主要なRasタンパク質の役割を、それぞれの欠損マウスを組み合わせて作成した多重欠損マウスの解析を通して行う。

#### 参考文献

- Yamaguchi, H., Aiba, A., Nakamura, K., Nakao, K., Sakagami, H., Goto, K., Kondo, H., and Katsuki, M. (1996). Dopamine D2 receptor plays a critical role in cell proliferation and proopiomelanocortin expression in the pituitary. *Genes to Cells* 7, 253-268.
- Kadotani, H., Hirano, T., Masugi, M., Nakamura, K., Nakao, K., Katsuki, M., and Nakanishi, S. (1996). Motor coordination results from combined gene disruption of the NMDA receptor NR2A and NR2C subunits, but not from single disruption of the NR2A or NR2C subunit. *J. Neurosci.* 16, 7859-7867.
- Koera, K., Nakamura, K., Nakao, K., Miyoshi, J., Toyoshima, K., Hatta, T., Otani, H., Aiba, A., and Katsuki, M. (1997). K-Ras is essential for the development of the mouse embryo. *Oncogene* 15, 1151-1159.
- Manabe, T., Aiba, A., Yamada, A., Ichise, T., Sakagami, H., Kondo, H., and Katsuki, M. (2000). Regulation of long-term potentiation by H-Ras through NMDA receptor phosphorylation. *J. Neurosci.* 20, 2504-2511.
- Ise, K., Nakamura, K., Nakao, K., Shimizu, S., Harada, H., Ichise, T., Miyoshi, J., Gondo, Y., Ishikawa, T., Aiba, A., and Katsuki, M. (2000). Targeted deletion of the H-ras gene decreases tumor formation in mouse skin carcinogenesis. *Oncogene* 19: 2951-2956.
- Matsui, T., Kinoshita, T., Morikawa, Y., Tohya, K., Katsuki, M., Ito, Y., Kamiya, A., and Miyajima, A. (2002). K-Ras mediates cytokine-induced formation of E-cadherin-based adherens junctions during liver development. *EMBO J.* 21, 1021-1030.
- Tran, A. H., Tamura, R., Uwano, T., Kobayashi, T., Katsuki, M., Matsumoto, G., and Ono, T. (2002). Altered accumbens neural response to prediction of reward associated with place in dopamine D2 receptor knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 8986-8991.
- Kuriwaki, J., Nishijo, H., Kondoh, T., Uwano, T., Torii, K., Katsuki, M., and Ono, T. (2004). Comparison of brain activity between dopamine D2 receptor-knockout and wild mice in response to dopamine agonist and antagonist assessed by fMRI. *Neurosignals* 13, 227-240.
- Konishi, S., Naora, H., Kimura, M., Sato, M., Nagasaki, M., Yokoyama, M., Otani, H., Moritake, K., and Katsuki, M. (2004). Expression of SV40 T antigen gene in the oligodendroglia induced primitive neuroectodermal tumor-like tumors in the mouse brain. *Congenit Anom (Kyoto)* 44, 215-224.
- Sato, M., Tabata, T., Hashimoto, K., Nakamura, K., Nakao, K., Katsuki, M., Kitano, J., Miyoshi, K., Kano, M., and Nakanishi, S. (2004). Altered agonist sensitivity and desensitization of neuronal mGluR1 responses in knock-in mice by a single amino acid substitution at the PKC phosphorylation site. *Eur. J. Neurosci.* 20, 947-955.
- Tran, A. H., Tamura R., Uwano, T., Kobayashi, T., Katsuki M., and Ono T. (2005). Dopamine D1 receptors involved in locomotor activity and accumbens neural responses to prediction of reward associated with place. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 102, 2117-2122.
- Hiratsuka, S., Nakao, K., Nakamura, K., Katsuki, M., Maru, Y., and Shibuya, M. (2005). Membrane fixation of vascular endothelial growth factor receptor 1 ligand-binding domain is important for vasculogenesis and angiogenesis in mice. *Mol. Cell Biol.* 25, 346-354.
- Hiratsuka, S., Kataoka, Y., Nakao, K., Nakamura, K., Morikawa, S., Tanaka, S., Katsuki, M., Maru, Y., and Shibuya, M. (2005). Vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) is involved in guidance of VEGF receptor-positive cells to the anterior portion of early embryos. *Mol. Cell Biol.* 25, 355-363.
- Tomemori, Y., Ichiba, M., Kusumoto, A., Mizuno, E., Sato, D., Muroya, S., Nakamura, M., Kawaguchi, H., Yoshida, H., Ueno, S., Nakao, K., Nakamura, K., Aiba, A., Katsuki, M., and Sano, A. (2005). A gene-targeted mouse model for choreo-akathexis. *J. Neurochem.* 92, 759-766.

#### STAFF

所長	技術支援員
勝木 元也	宮川 敦士
	宮川 裕子
特別訪問研究員	
小林 聰子	

## 連携・広報企画運営戦略室

略称「戦略室」は、基礎生物学研究所が行う対外的事業を円滑に運営するための組織として、今年度から新たに発足した。文字通り、基礎生物学研究所が国内外の研究グループや研究者と行う共同研究など連携事業の推進と実施におけるサポート、国際会議やセミナーの企画運営、さらに本研究所の研究活動とその実績を社会に公表するなどの広報活動を主な任務としている。

従来、現戦略室が担当する右リストにある各項目の事業を行うにあたり、当該年度の担当者である教授は各自の経験に基づき、それぞれの方法で運営してきた。その結果当研究所には共同研究や国際シンポジウムの企画や運営、研究者の往来における事務処理などに関する多くの know how が蓄積している。戦略室の一つの任務はこれらの know how を活用して各事業に共通な部分を担当し、事業を円滑かつ迅速に遂行することである。また、基生研の主催する国際会議、シンポジウム等のポスターの作成や、ホームページの作成・維持、将来計画を検討・立案するための基礎資料としてのアーカイブの整備を統括すること、基生研の研究内容等を外部に紹介する広報活動などもその任務である。



戦略室の様子



### 現在行っている主な活動

- 1) EMBL(European Molecular Biology Laboratory)との共同研究の推進とセミナーの開催
- 2) 生物学国際高等コンファレンス (Okazaki Biology Conferences: OBC) の企画・運営
- 3) NIBB コンファレンスの企画・運営
- 4) バイオサイエンストレーニングコースの企画・運営
- 5) ホームページの維持管理
- 6) 「NIBB ニュース」の企画・編集
- 7) 要覧、Annual Report の編集・作成
- 8) 各種パンフレット・ポスターの作成
- 9) 来訪者への対応
- 10) アーカイブの企画整備・維持・統括



2005 年作製ポスター

#### STAFF



長濱 嘉孝  
室長  
(兼任)



上野 直人  
室員  
(兼任)



諸橋憲一郎  
室員  
(兼任)



和田 正三  
特任教授  
(研究室を兼任)



児玉 隆治  
助教授  
(研究室を兼任)

技術支援員  
牧原暢子  
向田恭世  
太田美咲  
杉山朋美  
柘植豊子

## 培養育成研究施設

施設長：西村幹夫教授（併）

培養育成研究施設は、良質な研究材料の確保に必要な培養・育成設備及び適正な実験計測・解析のための種々の設備からなり、これらを一括して管理運営することにより、研究の能率化を計ろうとするもので、次の5室、1圃場から構成される。

### 大型スペクトログラフ室 [www.nibb.ac.jp/lspectro](http://www.nibb.ac.jp/lspectro)



大型スペクトログラフ照射室

#### STAFF

教授  
(総合研究大学院大学 先導科学研究科)  
渡辺 正勝

技術課技術職員  
東 正一  
中村 貴宣

技術支援員  
市川 千秋

### 細胞器官培養室



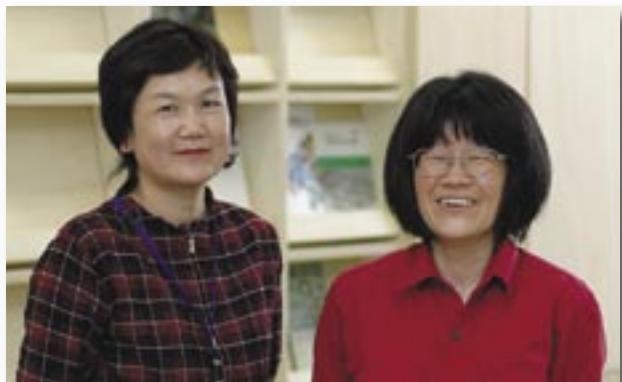
単細胞生物から多細胞生物までの細胞・組織・器官等を種々の物理的(光・温度)、化学的(ガスの組成)環境条件のもとで培養する。さらに、遺伝子解析システムを用いての遺伝子のクローニングや構造解析、またP3レベルの遺伝子組換え実験室では大腸菌を宿主とする組換え実験をはじめ、ウィルスの分離及び動物細胞への外来遺伝子導入などの実験が行われている。

#### STAFF

助手  
濱田 義雄

技術支援員  
竹下美也子

## 人工気象室・実験圃場・下等真核細胞培養室



人工気象室では、実験植物及び動物を光・温度・湿度等を厳密に制御した条件のもとに培養育成するためのインキュベーターや恒温室が整えられている。特に強光及び極低・高温で培養育成する施設が設置され、順調に稼動している。これらのうちいくつかはP1レベルに指定されており遺伝子組換え実験も可能である。

実験圃場では、実験室では育成できない動・植物実験材料を大量に栽培及び飼育する設備で、大小2温室、6室のファイトロン、3室の形質転換植物用温室、圃場及び管理室などが設置されている。

下等真核細胞培養室では、下等真核生物の培養を専門に行う施設で、下等真核細胞を一定の環境条件下で培養、維持するための設備を整えている。



人工気象室

### STAFF

技術課技術職員  
難波千鶴子

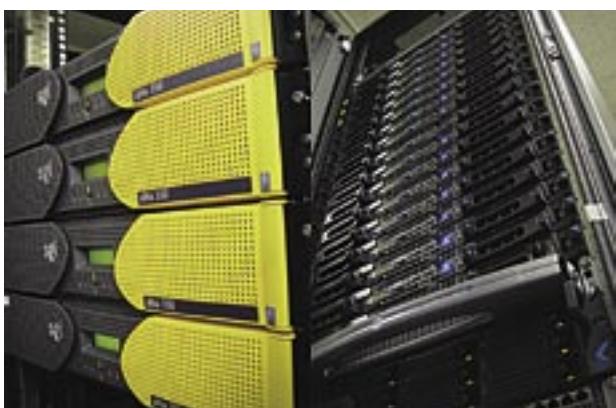
技術支援員  
鈴木 恵子

## 電子計算機室

[www.nibb.ac.jp/cproom/jp](http://www.nibb.ac.jp/cproom/jp)



平成17年に生物情報解析システムとして新たなコンピューターシステムを導入し、運用を開始している。共有メモリ型サーバ、大容量ディスクアレイ装置、クラスタ計算機、ファイルサーバ等からなるUNIXサーバ群を中心に、周辺機器やパーソナルコンピュータを有する。それらは所内の全研究室とネットワーク接続されており、インターネット(SINET)を介して所外へもアクセスできる。これらを用いてメールやWWWなどのネットワークサービス、データベースなどの情報提供を行っている。配列解析等コンピュータ利用全般に関する相談、新しいサービスの導入と広報活動のほか、ゲノム規模の解析に基づくデータベースの構築やその公開のサポートにも力を入れている。



生物情報解析システム

### STAFF

助手  
内山 郁夫

技術課技術職員  
三輪 朋樹  
西出 浩世

技術支援員  
山本 久美



世界規模で進められてきたゲノムプロジェクトがほぼ完了し、基礎生物学研究は個々の遺伝子機能を解析するポストゲノムの時代に入った。この遺伝子機能の研究で主流となるのが、生物個体レベルでの遺伝子操作技術である。これは特定の遺伝子を欠損・改変・挿入した遺伝子操作生物(形質転換生物)を開発することによって、遺伝子機能を個体レベルで解明しようとするものである。開発された形質転換生物はライフサイエンス研究にとって貴重なバイオリソースであり、研究者間で共有することによって遺伝子機能の研究が大きく進展することとなる。

形質転換生物研究施設は、こうした基礎生物学研究に必要な動物や植物の形質転換体の開発と解析を行なうための施設であり、平成10年4月に設置され、明大寺地区内に2室を設け、施設長(併任)と助教授(専任)1名で活動を開始した。平成13年度には明大寺地区にSPFグレードのマウス



山手地区の形質転換生物研究施設

職員・技術支援員のスタッフとともに施設の運営・管理をおこない、形質転換生物による研究を推進している。

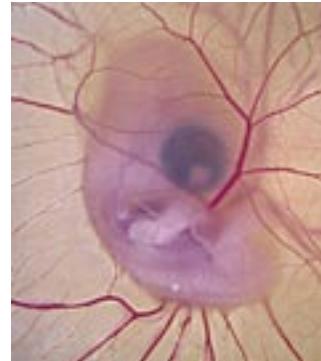
また平成15年度には、山手地区にSPFマウス・小型魚類・鳥類・昆虫などの形質転換動物を開発・解析する施設棟(総床面積2500平方メートル)が竣工した。本施設は、研究者・施設スタッフ・動物・飼育器材・機器類の動線を明確にし、飼育エリアのクリーンエリアとセミクリーンエリアを厳密に区分して、動物や作業者の健康保持と汚染防止に努め、高い精度の動物実験を行なうという概念のもとに作られている。また「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」に定める基準に適合した構造をもち、遺伝子組換え生物の施設外への拡散防止措置がとられている。

[www.nibb.ac.jp/transgen](http://www.nibb.ac.jp/transgen)

## 形質転換生物研究施設

### 施設長:高田慎治教授(併)

山手地区施設の3階・4階の飼育エリアはバリア区域となっており、SPFマウス飼育室、胚操作実験室、行動解析実験室を備えている。遺伝子ノックアウトマウス・トランスジェニックマウスなどの遺伝子操作マウスの開発・飼育維持・解析を行ない、開発したマウス系統を受精卵凍結法により系統保存を行っている。



ニワトリ胚

山手地区施設の1階部分では主として小型魚類・鳥類を用いた実験と動物の飼育が行われている。前記の遺伝子組換え実験の基準に従った遺伝子導入動物の作成と飼育管理が可能なように、専門の技術支援員が配置され、各部屋は動物が決して外部にでない構造になっている。また効率的な飼育が可能なように、照明と温度が制御できる小型魚類のための自動循環水槽や大量のニワトリ卵を孵卵できる恒温室などが装備されている。温度や水質も管理室で一括管理され、異常があれば警報で示されるようになっている。現在、このような施設のもと、分子の個体導入や細胞移植実験に寄与できるメダカ・ニワトリ卵を飼育管理しており、これらの飼育動物は神経形成や生殖腺形成などの生物現象における細胞挙動や遺伝子同定、機能解析の研究などに貢献している。

平成16年度には、明大寺地区における形質転換マウスによる遺伝子機能研究のサポート体制を充実させるために、新たにSPFグレードのマウス飼育施設の設置を行った。

山手地区ならびに明大寺地区の飼育施設の利用にあたり、研究者と施設スタッフの双方が協力して飼育動物数・飼育スペース・飼育器材・人的資源に効率化をはかり施設運用を行なっている。このような飼育施設を積極的に活用し、平成14年度からナショナルバイオリソースプロジェクトの実施機関として発生・細胞分化・脳機能の解析のための形質転換マウスの開発を進めている。

また、専任教官は、施設の運営業務に並行して各自の研究を進めている。

### STAFF

助教授

渡辺  
英治

笹岡  
俊邦

田中  
実

技術課技術職員

林  
晃司

安田  
聖愛

市川  
洋子

高木由香利

野口  
裕司

吉田  
悦子

河村  
基史

技術支援員

安田  
聖愛

市川  
洋子

高木由香利

事務支援員

小林  
慶子

## 情報生物学研究センター

センター長：高田慎治教授（併）

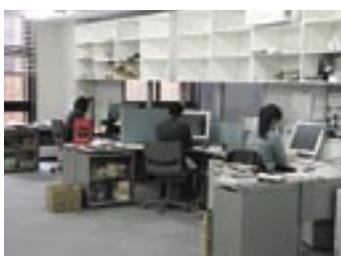
情報生物学研究センターは、以下の目的に従い研究活動を行っている。すなわち、(1) 様々な生命現象の根底に有る基本原理を、生物情報学と生物学の融合により解き明かすこと、(2) その過程で生命現象を解析するための、新たな方法論を確立すること、そして(3) 得られた計算科学的技術や知識を、基礎生物学研究所内外の研究者の利用に供すること、である。センターの最終目標は、生物諸科学と数理・情報科学を融合した、新しい生命科学を創造することにある。

### 研究活動

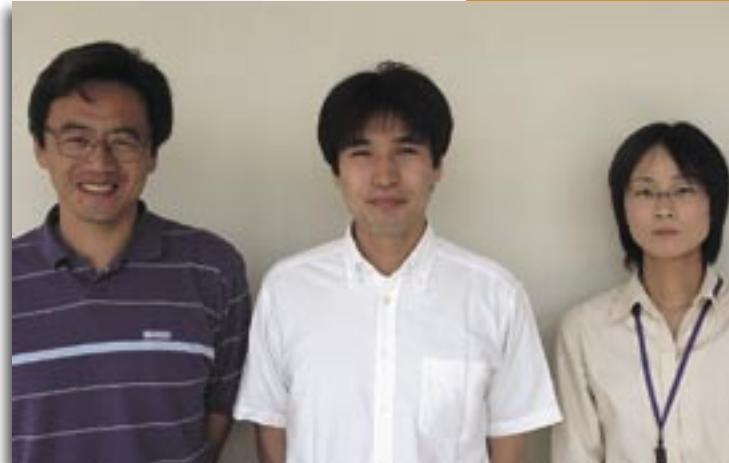
情報生物学研究センターは、生命科学における情報量の急速な増大を背景にして、2001年に創設された。近年のゲノム研究の急速な進展により、多くの生物種でゲノム情報が解明され、現在もその情報は増加しつつある。これらをもとにした難病に対する新薬の開発や、病害虫に強い植物の開発などが、社会的要請として現れ始めている。また、多数の遺伝子とその複雑なネットワークによって構築される、高次生命現象を解明することは、次の生命科学の課題である。これらの要請に対応していくには、膨大なゲノム情報を解明して、生物学本来の目的に沿って整理し、重要な要素の抽出を行うことが重要な鍵となっている。

情報生物学研究センターは、これらの要請に応えるべく数理・情報科学を駆使した生命科学の研究を続けている。数理・情報科学は、現在の生命科学の現状に対して、強力に力を発揮できる二つの特徴を備えている。第一に計算機を用いることで、人の情報処理能力を超える膨大な実験データを処理できること、第二に実験では再現不可能な系や、あるいは過去の生物の進化についてすら、仮想的な系を組み計算機実験を行えることである。これらの数理・情報生物学が持つ高いポテンシャルを十分に駆使し、様々な高次生命現象を対象として、現象の理解に迫る研究や、方法論の開発を行っている。

センターは、計算生物学ならびに実験生物学を行うための、各種の設備を備えている。計算機設備として、数台のクラスターマシンならびに十分な数の Unix ワークステーションおよびパーソナルコンピュータを備えている。また計算科学センターに敷設の、大型計算機の利用も可能である。また将来の共同研究に備えて、大規模な実験研究を行うための環境も整えられている。



研究センター内の様子



### 交流活動

数理・情報科学的研究を、生物現象の予測に生かすためには、実験生物学と情報学や計算生物学との連携を発展させることが必要である。これにより新たな情報処理技術の発見や学問領域の形成も期待される。これまでに情報生物学研究センターでは、基礎生物学研究所の特長である、普遍的な生物現象を研究することを主題として、活動を抜けしてきた。今後もそれら基礎研究を続けていく一方で、より一層多方面の研究者との共同研究を推し進める。ゲノム情報の処理、生物情報からの生物現象の予測、地球時間で進んできた生物の進化多様性獲得の研究など、基礎生物学研究に必須の分野に、研究の最新のツールを提供し、共同研究を推進する。生物科学と情報学の知識と技術をともに使いこなせる研究者を養成することもセンターの目的の一つであり、若手研究者の養成に力を入れている。



クラスターマシン

生命現象に対する数理・情報科学的研究を活性化させるために、研究者間の交流を継続して積極的に進めていく必要がある。情報生物学研究センターでは、生命科学における数理・情報生物学者同士の交流を推し進めるため、定期的に研究会を行っている。研究会では、新しい視点や情報処理技術の交換の場として、活発に交流が行われている。特に2004年度は、第50回 NIBB Conference として国際研究集会を企画推進した。テーマを「Structure and Dynamics of Complex Biological Networks (複雑な生物ネットワークの構造と動的挙動)」と設定し、2005年2月8日からの3日間で、内外の研究者が数多く参加する研究会を行った。多数の研究発表が行われ、活発な議論がなされた。

### STAFF

助教授  
望月 敦史

事務支援員  
梅林 弘美



[www.nibb.ac.jp/techdep](http://www.nibb.ac.jp/techdep)

## 技 術 課

技術課は所長に直属した技術者の組織で、専門技術を通して、研究所における研究活動を支援している。全ての技術職員は技術課に所属しているが、日常は研究施設又は研究部門へ配属されて技術支援業務を行っている。平成3年より定員削減により漸次技術職員が減っているが、平成9年から技術支援員を採用し、特に研究施設系で技術職員と共に研究支援に重要な役割を担っている。

研究施設においては、各種分析機器の保守・管理及び測定、ラジオアイソトープ施設の管理、大型スペクトログラフや計算機、ネットワークの維持管理、実験動物・植物の飼育や栽培等を行っている。また、研究部門においては、研究者のもとで、実験材料の調製、蛋白質等の精製及び分析、遺伝子の解析、形態観察、形質転換生物の作成、細胞・組織の培養等を行い、幅広い、高度な技術を通して研究を支援している。また、研究所共通の機器や室の保守・管理等の研究支援も行っている。

技術課は、業務を円滑に遂行し、技術の向上を図るために下記の活動を行っている。

1. ミーティング：毎週月曜日に課長から教授会議、各種委員会等の報告を受け、課の運営を議論し、日常業務の連絡や技術的な情報交換を行っている。
2. 課内セミナー：毎週、ミーティング終了後、各自の携わっている日常業務に関する技術について、まとめ、発表し情報交換を行うことにより相互の技術交流を深め、知識の向上に努めている。
3. 課内研修：専門技術の幅を広げるため、新しい技術の取得を目的に、相互に技術情報の交換、各種機器の操作法や、実験技術の実習等を行う。より専門的な技術習得を目的とする、外部講師等を招いた技術研修も企画する。また、業務を遂行する上で必要な安全教育も行う。
4. 生物学技術研究会：他大学及び研究機関等の生物学の研究分野に携わる技術系職員との技術の交流や情報交換を目的に、毎年「生物学技術研究会」を開催している。日常関わっている幅広い技術活動での成果や問題点を発表し、討論することにより技術の向上に努めている。

平成16年度は、平成17年2月17日～18日に、当研究所技術課主催の「第16回生物学技術研究会」と、隣接の生理学研究所技術課主催の「第27回生理学技術研究会」を合同開催した。全国30機関48部局から130名の参加があり、活発な技術交流が行われた。両研究会の合同開催は平成13年度から行っており、生物系技術分野における共通技術で、一層幅広く交流できることで好評である。この研究会の報告は、「生物学技術研究会報告 第16号」と「生理学技術研究会報告第27号」の合併号として出版される予定である。



第16回 生物学技術研究会（第27回生理学技術研究会と合同開催）

■技術課長



古川 和彦



三輪 朋樹  
技術班長



東 正一  
技術係長



松田 淑美  
技術係長



森 友子  
技術係長



難波千尋子  
技術主任



澤田 薫  
技術主任



林 晃司  
技術主任



牧野由美子  
技術主任



飯沼 秀子  
技術職員



高見 重美  
技術職員



西出 浩世  
技術職員

■研究系技術班



中村 貴宣  
技術職員



百々由希子  
技術職員



小林 弘子  
技術班長



大澤 園子  
技術係長



近藤 真紀  
技術係長



田中 幸子  
技術係長



壁谷 幸子  
技術主任



水谷 健  
技術主任



山口 勝司  
技術主任



竹内 靖  
技術主任



高木 知世  
技術職員



内海 秀子  
技術職員



岡 早苗  
技術職員



住川 直美  
技術職員



諸岡 直樹  
技術職員



野田 千代  
技術職員

技術支援員  
伊藤 崇予  
森部 初美  
鈴木 恵子  
市川 千秋  
竹下美也子  
市川 洋子  
高木由香利  
西村 紀子  
山本 久美

事務支援員  
片岡ゆかり  
都築志保子  
弘中東美江  
宇野 智子  
坂神 真理

## 岡崎統合バイオサイエンスセンター

センター長：高田慎治教授（併）

本センターは、2000年4月に岡崎3研究所の共通研究施設として設立された。設立の目的は、分子科学、基礎生物科学、生理学などの学際領域にまたがる諸問題に対して、総合的な観点と方法論を適用し、新たな生物学の分野を切り拓くことにある。現在、本センターでは、電子顕微鏡を駆使した新たな方法論の開発、さまざまなセンサー・タンパク質の機能解析、動植物の発生のメカニズムの解析、さらには生体を取り巻く化学物質の生物に及ぼす影響など、生物学のさまざまな分野にわたる問題を総合的に捉え、研究を展開している。平成17年度からは、膜タンパク質の構造と機能に関する連携研究を、大阪大学蛋白研究所との間で進めている。現在、本センターには、以下に示す3つの研究領域が設置されている。なお、基礎生物学研究所からは4つの研究部門が本センターに参加している。

### 時系列生命現象研究領域

発生遺伝研究室（基礎生物学研究所・発生遺伝学研究部門）  
分子発生研究室（基礎生物学研究所・分子発生学研究部門）  
神経分化研究室

### 戦略的方法論研究領域

ナノ形態生理研究室  
生物無機研究室  
生体物理研究室

### 生命環境研究領域

生体分子研究室  
生命環境研究室（基礎生物学研究所・分子環境生物学研究部門）  
植物発生研究室（基礎生物学研究所・植物発生遺伝研究部門）

[www.ccinfo.ims.ac.jp](http://www.ccinfo.ims.ac.jp)

## 計算科学研究センター

センター長：永瀬茂教授（併）

計算科学研究センターは、我が国唯一の分子科学計算のための共同利用基盤センターとしての経験を活かし、分子科学計算に加えて分子科学—生物の境界領域に展開を図る岡崎3研究所共通研究施設である。機構内の岡崎3研究所はもちろん、国内外の分子科学研究者、バイオサイエンス研究者に対して大学等では処理が困難な大規模な計算処理環境を提供する共同利用施設としての基盤強化を目指している。

## 動物実験センター

センター長：池中一裕教授（併）

機構における研究基盤の強化を図るために、これまでの生理学研究所動物実験施設を岡崎3研究所共通の研究施設として動物実験センターに転換した。センターでは、実験動物の飼育と供給、系統の保存と併せて動物実験の指導、条件整備等といった研究環境の一層の充実を図ることを目指している。

## アイソトープ実験センター

センター長：野田昌晴（併）

当センターは、主に分子科学、基礎生物学及び生理学研究のために放射性同位元素（ラジオアイソトープ）で標識された非密封の化合物を使用するための施設である。

センター運営は、センター長（併任）、助教授1名、技術職員3名、事務支援員1名、技術支援員2名で行われている。使用許可核種は次のようになっている。

### 明大寺地区実験施設

共通棟 RI 室：

<sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>28</sup>Mg, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>P, <sup>35</sup>S, <sup>36</sup>Cl,  
<sup>42</sup>K, <sup>45</sup>Ca, <sup>89</sup>Sr, <sup>125</sup>I

形質統御棟 RI 室：

<sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>P, <sup>35</sup>S, <sup>45</sup>Ca, <sup>125</sup>I

### 山手地区実験施設

<sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>P, <sup>35</sup>S, <sup>125</sup>I

平成16年度の放射線業務従事者数は明大寺地区実験施設107名、山手地区実験施設52名、延べ施設利用者数は明大寺地区実験施設3398名、山手地区実験施設1620名であった。



### STAFF

助教授  
小川 和男

技術課技術職員  
松田 淑美  
澤田 薫  
飯沼 秀子

技術支援員  
伊藤 崇予  
神谷 清美  
事務支援員  
兼氏 君恵



**基**礎生物学研究所および生理学研究所に共通する施設として、現代の生物科学研究を総合的に推進し得るよう、以下の様に共通施設を設置している。これらに、平成12年度から機構共通研究施設となったアイソトープ実験センターおよび動物実験センターを含めて、一つの生物科学総合実験研究システムとして機能している。

## 基礎生物学研究所が担当する施設

### 分析室 [www.nibb.ac.jp/analyins/CAI-home.html](http://www.nibb.ac.jp/analyins/CAI-home.html)

分析室は基礎生物学研究所および生理学研究所に共通する施設として運営され、両研究所において研究を推進するに必要な分析機器を設置している。約70種類の分析機器を備えており、タンパク質・遺伝子の解析、生理活性物質等の分離、精製、同定、構造解析そして画像解析まで広く、基礎生物学および生理学の研究に利用されている。

分析機器は系統的に下記のように5つに分類され、それぞれの装置は担当職員が維持管理している。

#### 1. タンパク質・遺伝子解析装置

プロテインシーケンサ、アミノ酸分析計によりタンパク質の一次構造決定や組成分析を行い、ペプチド合成装置によりペプチドの化学合成を行う。さらに表面プラズモン共鳴を利用した生体分子相互作用解析装置により、生体分子間の特異



プロテインシーケンサ

## 共通施設

的相互作用を解析する。また核酸やプラスミドの抽出・分離装置、PCR、DNAシーケンサ等も備えている。

### 2. 分離分析装置

高速液体クロマトグラフ、ガスクロマトグラフ等を備え、生体中に含まれる微量物質の分析、定量および分取精製を行う。また各種の分離用遠心機やフローサイトメータを備え、細胞や生体物質の解析や分離調製を行う。

### 3. 物理化学的解析装置

核磁気共鳴装置(NMR)、電子スピン共鳴装置(ESR)および質量分析装置(MS)による生体物質の定性・定量分析および構造解析を行う。特にMALDI/TOF-MSはプロテ



MALDI/TOF-MS

オーム解析などに活用されている。

### 4. 分光分析装置

紫外可視分光光度計、蛍光分光光度計、フーリエ変換赤外分光光度計、レーザーラマン分光光度計、円偏光二色性分散計、マイクロプレートリーダー、マイクロプレートルミナメータ等、各種分光分析装置による生体物質の定量分析や分光学的解析を行う。

### 5. 顕微鏡・画像解析装置

共焦点レーザースキャン顕微鏡、超深度形状測定顕微鏡や環境制御型走査電子顕微鏡を備え、組織学的・細胞学的観察および細胞・組織レベルでの解析を行う。また化学発光、蛍光の画像解析装置により、電気泳動像等の画像解析を行う。

#### 参考文献

Pfister, T.D., Ohki, T., Ueno, T., Hara, I., Adachi, S., Makino, Y., Ueyama, N., Yi Lu, and Watanabe, Y. (2005). Monoxygenation of an aromatic ring by F43W/H64D/V68I myoglobin mutant and hydrogen peroxide. *J.Biol.Chem.* 280, 12858-12866.

#### STAFF

##### 技術課技術職員

森 友子

牧野由美子

百々由希子

高見 重美

##### 技術支援員

森部 初美

##### 事務支援員

服部 宣子

## 洗滌室

実験に使用されるガラス器具・プラスチック器具等の洗浄・乾燥・滅菌を集中的に行う。

全自動洗浄機、超音波洗浄装置および滅菌装置（オートクレーブ、乾熱滅菌器）を備え、実験で使用されているガラス器具等の洗浄・滅菌が効率的に行える施設である。

## 廃棄物処理室

実験で生じた廃液および廃棄物を回収し、研究所内外の環境保全を行う。

実験洗浄廃水処理施設の管理および実験濃厚廃液の分別回収を行い、研究所内外の環境の維持に努めている。

廃水処理施設では、両研究所から排出される約200t/日 の廃水処理を行い、併せて処理水の水質管理を行っている。また、平成16年度は基礎生物学研究所および生理学研究所の各部門・施設から約3,600Lの濃厚廃液及び20箱(20Kg/箱)の感染性廃棄物を回収し、処理を廃棄物処理業者に委託した。



共通施設棟 I  
1階 分析室  
2階 アイソトープ実験センター  
地階 電子顕微鏡室および分析室



実験洗浄廃水処理施設

## 生理学研究所が担当する施設

### 電子顕微鏡室

透過型、走査型電子顕微鏡や共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて生物細胞、組織または、生体分子の微細構造の観察を行う。さらに、コンピュータによる、画像処理、画像計測、画像出力(フィルムレコーダー、フルカラープリンター)も行う。

### 機器研究試作室

NC放電加工機、精密旋盤などの精密工作機械類を設備し、大型実験装置から小型精密機器に至るまで、各種の研究実験用機器や電子機器の製作、開発や改良、補修などを行う。

基礎生物学研究所は、総合研究大学院大学の基盤機関のひとつとして生命科学研究科・基礎生物学専攻の大学院教育を行っています。恵まれた研究環境で、将来の生物学におけるリーダーを輩出すべく、高度な大学院教育を行っています。

## 総合研究大学院大学とは

総合研究大学院大学は、基礎学術分野の総合的発展を目指した大学院教育を行うために、学部を持たない大学として1988年に設置されました。神奈川県の葉山に本部をもち、18の基盤機関である国立学術研究機関に学生を分散配置し大学院教育を行っています。生命科学研究科は基礎生物学専攻と同じ岡崎にある生理学研究所の生理科学専攻と、静岡県三島市の国立遺伝学研究所の遺伝学専攻との3専攻により構成されています。基礎生物学専攻は、分子生物学を基盤として動植物にかかわる基本的、かつ、高次な生物現象を分子レベルまで掘り下げて解析する高度な研究者の養成課程です。

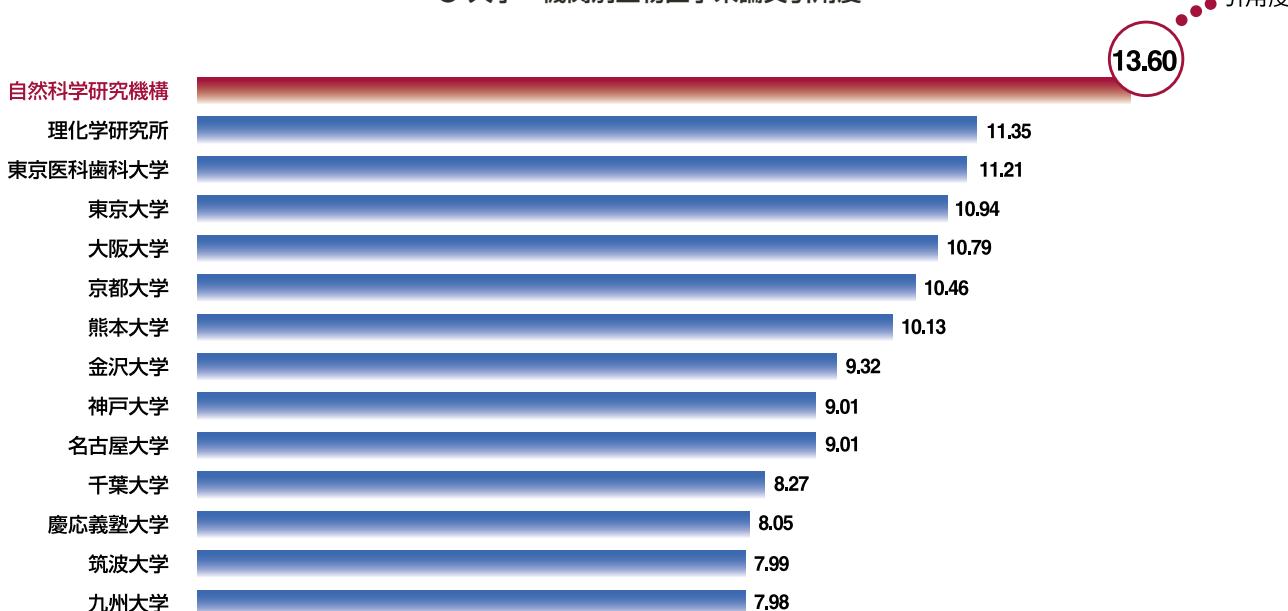
## 基礎生物学研究所の素晴らしい研究環境

基礎生物学研究所(基生研)は大学における学術研究の発展に資するため、基礎生物学に関する総合研究を行うことを目的として、1977年に創設されました。生命現象の基礎的な問題の解明を目指し、動物・植物を対象に、

生物の基本単位である細胞の構造・働き・増殖・分化、器官の形成、外界からの刺激に対する生体の反応・制御等について先端的な研究を行っています。基礎生物学研究所は、我が国の生物学研究の中核の一つとして、最先端の施設や設備が整備されているばかりでなく、教授陣は、優れた創造的な研究を発信し続けており、論文の被引用回数は、我が国だけでなく世界でもトップクラスに位置しています。また科学研究費の獲得率でも常にトップクラスです。基礎生物学研究所で学位を取得するためには、総合研究大学院大学(総研大)に入学する必要があります。

これまで総合研究大学院大学は修士課程修了者を対象する博士課程の大学院として開かれていましたが、平成16年4月から5年一貫制のコースが開設され、学部卒業生から基礎生物学研究所で学ぶことが可能となりました。21世紀の新しい日本の生物学をリードする意欲に溢れた若者の入学を期待し研究所内外で大学院説明会を行っています。修士課程修了者の入学も従来通り10月と4月の2回行っています。

● 大学・機関別生物医学系論文引用度

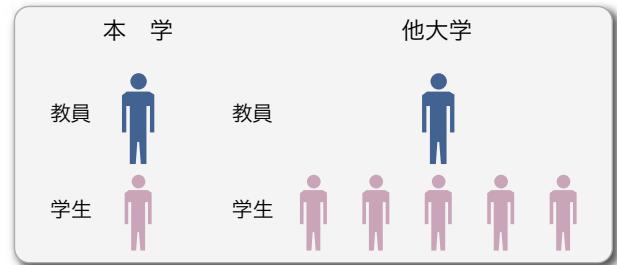


ISI NCR for Japan(1981-2002)に対する根岸の調査

## 基礎生物学専攻での大学院生活

### 少数精銳の大学院教育

多くの大学では、大学院生数に対して教員数が少ない（国立大学では学生一人あたり約0.16人）のに対して、総研大は教員数が圧倒的に多い（約2.6人）ため、個別指導が希薄になるという問題点がなく、学生生活実態調査でも9割以上の学生の満足度を得ています。現在基礎生物学専攻でも、大学院生40名に対して教員数が62名で、まさに「マンツーマン」の教育を行っています。



### 質の高いセミナー

基礎生物学研究所では各研究部門での研究セミナーはもちろんのこと、所外から著名な講師を招き、年10数回の基生研セミナーを行っています。その他、部門公開セミナー、所長招へいセミナーなど、誰もが参加できるセミナーが豊富で研究者としての視野をひろげる良い機会となっています。



セミナー風景

### 高い研究者養成率

基礎生物学専攻では高度な研究者の養成を行っています。過去5年間で約8割の学位取得者が助手、ポスドク等研究者として従事しています。



### 平成16年度学位授与者（修了者）の進路

研究所等の博士研究員	7名
大学の博士研究員	2名
その他	2名



### 先導科学研究科・生命体科学専攻

総合研究大学院大学の葉山キャンパス（神奈川県三浦郡葉山町（湘南国際村））には、先導科学研究科（<http://sendou.soken.ac.jp/>）の2専攻（生命体科学専攻と光科学専攻）が設けられており、基礎生物学研究所の一部教員は担当教員としてそれら2専攻の教育研究活動に寄与しています。

### 大学院に入学するには

基礎生物学研究所の研究に興味を持ち、総研大への入学を希望する方は、総研大ホームページ <http://www.soken.ac.jp/index.html> および基礎生物学研究所ホームページ <http://www.nibb.ac.jp/souken/life/> をご覧ください。また、受験にあたっては進学希望研究室の担当教員と事前に連絡をとることが必要です。

基礎生物学研究所は、大学共同利用機関として、広く基礎生物学に及びこれに関連する分野における研究者の共同利用に供されるとともに、研究者の養成に関しては、国・公・私立大学の要請に応じて、「特別研究学生」を受け入れ、大学院にお

ける教育に協力を行ってきたが、近年における、研究所の研究活動への大学院学生の参画の重要性に鑑み、平成9年度からは当該大学院学生を「特別共同利用研究員」として受け入れ、併せて研究指導を行い大学院教育の協力をを行っている。

**平成17年度特別共同利用研究員**

氏名	所属大学院・研究科・専攻等	研究題目
高木 恭子	北海道大学大学院・農学研究科・応用生命科学	イネ易変性ヴィレッセント変異に係る新規DNAトランスポゾンの解析
森長 真一	東北大学大学院・生命科学研究科・生態システム生命科学	閉鎖花の収斂進化に関する進化遺伝学的研究
竹内 基貴	名古屋大学大学院・生命農学研究科・応用分子生命科学	行動内分泌系における雌雄特異性の基盤となる核内受容体のエピジェネティック制御
中村 修平	北海道大学大学院・理学研究科・生物科学	生殖腺形成における体細胞系列分化に関する細胞・分子遺伝学的研究
黒川 紘美	北海道大学大学院・理学研究科・生物科学	生殖腺形成における生殖細胞と体細胞系列との相互作用の研究
青木裕美子	北海道大学大学院・理学研究科・生物科学	生殖腺形成時における生殖細胞分化の細胞分子遺伝学的研究
有田かおり	北海道大学大学院・理学研究科・生物科学	生殖腺体細胞可視化メダカ・形成不全メダカの解析
加藤 英男	山口大学大学院・連合獣医学研究科・基礎獣医学	内分泌かく乱化学物質の生体に及ぼす影響
奥村 悠紀	静岡県立大学大学院・薬学研究科・薬学	<i>Ipomoea</i> 属植物をモデルとした高等植物の色素合成の解明
宮林香奈子	東北大学大学院・農学研究科・応用生命科学	生殖腺分化過程における <i>Arx</i> の機能解明
山内 卓樹	千葉大学大学院・自然科学研究科・生物資源科学	高等植物の Epigenetics に関する研究
川俣 朋子	神戸大学大学院・自然科学研究科・生命科学	酵母のオートファジーの膜動態に関する分子遺伝学的解析
鄭 恵英	東京大学大学院・工学系研究科・化学生命工学	アフリカツメガエルを用いた、 <i>fibroblast growth factor (FGF)</i> の初期発生における役割の解析
吉兼 奈美	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・細胞生物学	<i>dNAT1</i> の機能解析
佐藤 弘明	名古屋大学大学院・生命農学研究科・生命技術科学	げっ歯類行動内分泌系の基盤となる性ステロイド受容体のエピジェネティクス

## 第2回 生物学国際高等コンファレンス (OBC)

### Terra Microbiology 「地圖微生物学」

開催期間

2004年9月26日～30日

オーガナイザー

埼玉大学 大森 正之

Michigan 州立大学 James M. Tiedje

会議は4つのセッション ((1) 環境による制限と進化の多様性, (2) 生物地球化学的循環と土壤形成, (3) 共生と相互作用, (4) 微生物系への新しいアプローチ) からなり, それぞれを通じて, 噴火直後の火山周辺や洞窟, 岩石表面などの極端な環境を含む地球上の多様な環境に生育するバクテリアの集団や, バクテリアと植物, バクテリアと昆虫などの共生体について幅広い研究が紹介された。さらに, 分子生物学技術とコンピュータを駆使して, 遺伝子の側面から複雑な微生物集団を解析する研究の急速な発展が報告された。現代生物学の基礎を築くための重要な貢献をしてきた微生物学が, 生物学の新たな発展の最前線を形成しつつあることが示された会議だった。研究の最前線に携わっている若手研究者も多数参加し, 5日間隔離された環境の中で集中した雰囲気を持続することにより, 今後の研究の核となるコミュニティー形成に資するところが大きかった。



#### ■ 招待講演者

Allen, Eric E.	(University of California, Berkeley, USA)	稻垣 史生	(海洋研究開発機構)
Arp, Daniel J.	(Oregon State University, USA)	大熊 盛也	(理化学研究所)
Broughton, William	(University of Geneva, Switzerland)	太田 寛行	(茨城大学)
Engel, Annette Summers	(Louisiana State University, USA)	大森 正之	(埼玉大学)
Gorbushina, Anna A.	(Institute for Chemistry and Biology of the Marine Environment, Germany)	岡部 聰	(北海道大学)
Hennecke, Hauke	(Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Switzerland)	掛川 武	(東北大)
King, Gary M.	(University of Maine, USA)	片山 葉子	(東京農業工業大学)
Kirshchvink, Joseph L.	(California Institute of Technology, USA)	加藤 憲二	(静岡大学)
Koch, Alexander M.	(University of Lausanne, Switzerland)	木村 浩之	(静岡大学)
Lake, James A.	(University of California, Los Angeles, USA)	久我ゆかり	(信州大学)
Liu, Shuang-Jiang	(Chinese Academy of Sciences, P. R. of China)	黒川 観	(奈良先端科学技術大学院大学)
Liu, Wen-Tso	(National University of Singapore, Singapore)	斎藤 雅典	(農業環境技術研究所)
Madsen, Eugene L.	(Cornell University, USA)	佐伯 和彦	(大阪大学)
Murray, Alison	(Desert Research Institute, USA)	佐々木まゆみ	(産業技術総合研究所)
Neu, Thomas R.	(UFZ Centre for Environmental Research, Germany)	諫訪 裕一	(産業技術総合研究所)
Olsen, Gary J.	(University of Illinois at Urbana-Champaign, USA)	関口 勇地	(産業技術総合研究所)
Rainey, Paul	(University of Auckland, New Zealand)	妹尾 啓史	(東京大学)
Soderstrom, Bengt	(Lund University, Sweden)	津田 政孝	(東北大)
Tiedje, James M.	(Michigan State University, USA)	難波 謙二	(東京大学)
Torsvik, Vigdis	(University of Bergen, Norway)	野村 暢彦	(筑波大学)
Treusch, Alexander H.	(Darmstadt University of Technology, Germany)	早津 雅仁	(静岡大学)
Whiteley, Andrew S.	(Centre for Ecology and Hydrology Oxford, UK)	平石 明	(豊橋技術科学大学)
		深津 武馬	(産業技術総合研究所)
		福井 学	(東京都立大学)
		南澤 究	(東北大)
		望月 敦史	(基礎生物学研究所)
		安田 剛	(製品評価技術基盤機構)
		吉村 仁	(静岡大学)
		和田 実	(東京大学)

第 50 回 基礎生物学研究所コンファレンス

「複雑な生物ネットワークの構造と動的挙動」

Structure and Dynamics of Complex Biological Networks

開催期間

2005 年 2 月 8 日～10 日

オーガナイザー

基礎生物学研究所 望月 敦史



生命科学における分子遺伝学的手法の進歩により、遺伝子の制御や相互作用に関する膨大な情報が得られるようになった。これらの情報を、生物としての高次な振る舞いへと結びつける

ことが、生命科学の次の課題である。しかし多数の遺伝子が相互作用して、高次生命現象を作り出す機構を、実験だけから解くのは容易ではない。これに答える手法として、情報科学や数理科学の可能性が、現在注目されている。

この会議では、様々な生命現象に対して、数理・計算機的手法を用いて取り組む研究者や、これらの手法に関心のある実験研究者に広く参加を呼びかけ、国際交流を行った。国内外から 91 名 (海外から 12 名) の参加者を得て、39 題の研究発表がなされ、活発な議論が進められた。これまで、生命現象を対象とした数理的・計算機的研究は、バイオインフォマティクスや数理生物学、物理学など、異なる領域のそれぞれにおいて進められてきた。これら異分野間の研究者が、一同に会する画期的な会議となった。

会議のキーワードとして、理論分野で注目を集めている「相互作用のネットワーク」を特に重視した。現在、代謝系から生態系まで、生命現象の様々なレベルにおける相互作用構造に関して、理論的研究が活発に行われている。それら異なる生命現象を対象とした研究が、この会議に於いては統一的に



議論された。また、ネットワーク構造が生み出す、動的な振る舞いを明示することが、次の重要課題であるとの共通認識が得られた。この会議から始まる交流が、それぞれの分野をさらに発展させると期待できる。会議終了後には参加者の多くから、理論生命科学の将来の方向を予期させる会議であった、との謝辞が寄せられた。



■ 招待講演者

Albert, R'eka	(Pennsylvania State University, USA)	阿久津達也	(京都大学)
Almaas, Eivind	(University of Notre Dame, USA)	有田 正規	(東京大学)
Alvarez-Buylla, Elena Roces	(Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexico)	巖佐 康	(九州大学)
CHING, Wai-Ki	(University of Hong Kong, China)	金子 邦彦	(東京大学)
Craciun, Gheorghe	(Ohio State University, USA)	近藤 滋	(名古屋大学)
King, Ross	(University of Wales, UK)	時田恵一郎	(大阪大学)
Martinez, Neo	(Pacific Ecoinformatics and Computational Ecology Laboratory, USA)	中井 謙太	(東京大学)
Muratov, Cyril	(New Jersey Institute of Technology, USA)	望月 敦史	(基礎生物学研究所)
Paulsson, Johan	(University of Cambridge, UK)		
Reinitz, John	(Stony Brook University, USA)		
Vert, Jean-Philippe	(Ecole des Mines de Paris, France)		

■ グループ共同研究

研究課題	提案代表者名・所属	
車軸藻綱植物と陸上植物の分子進化学的解析	伊藤 元己	東京大学大学院総合文化研究科
黄色植物の青および緑色光を受容する光反応系の解明	片岡 博尚	東北大学大学院生命科学研究科
アゲハチョウ上科の系統発生学的研究	江本 純	南山大学人文学部
ネナシカズラの寄生根形成部位の光による決定と形成予定部位の解析	山田 恭司	富山大学理学部
食虫植物の消化酵素遺伝子の起源と進化	鵜澤 武俊	大阪教育大学教育学部

■ 個別共同研究

研究課題	提案代表者名・所属	
イネ老化葉における Rubisco 分解の分子機構	石田 宏幸	東北大学大学院農学研究科
青色花弁色素細胞の液胞成分と発色に関する研究	吉田 久美	名古屋大学大学院情報科学研究科
高等植物における高次リン酸化イソトールに注目したリン代謝ダイナミクスの解明	三村 徹郎	神戸大学理学部
植物ペルオキシソームの形成とカタラーゼの細胞内輸送	江坂 宗春	広島大学大学院生物圏科学研究科
選択的オートファジーにおける新生膜合成の時空制御機構	阪井 康能	京都大学大学院農学研究科
酵母液胞アミノ酸トランスポーターの局在性と生理機能	柿沼 喜己	愛媛大学農学部
動物卵成熟におけるサイクリン B 翻訳制御蛋白質 Pumilio の機能調節	山下 正兼	北海道大学大学院理学研究科
ヒトデ生殖巣刺激物質 (GSS) の同定および生合成系の解明	三田 雅敏	帝京大学理工学部
魚類生殖腺刺激ホルモン受容体に関する分子生物学的研究	平井 俊朗	帝京科学大学理工学部
魚類卵成熟の分子メカニズムの解析	徳元 俊伸	静岡大学理学部
魚類卵巣分化後の性転換による精巣分化機構解明	中村 將	琉球大学熱帯生物圏研究センター
魚類卵母細胞核マトリクスに存在する高分子量蛋白質のプロテオーム解析	山口 明彦	九州大学大学院農学研究院
鳥類の生殖腺の性分化機構の解明	吉岡 秀文	兵庫教育大学学校教育学部
ペルオキシソーム膜透過装置の解明	伊藤 正樹	佐賀大学医学部
トランジェニックカエルを用いた発生における細胞死の解析、並びにコンディショナル遺伝子発現システムのカエルへの応用	酒巻 和弘	京都大学大学院生命科学研究科
RNAi を用いた神経再生遺伝子の機能解析	加藤 聖	金沢大学大学院医学系研究科
小脳皮質形成における PTP の役割の解明	田中 正彦	藤田保健衛生大学総合医科学研究所
植物体内における無機元素関連遺伝子についての解析	中西 友子	東京大学大学院農学生命科学研究科
シンタキシンノックアウトマウスの高次神経機能の解析	赤川 公朗	杏林大学医学部
タバコモザイクウイルスの移行タンパク質を利用した原形質連絡タンパク質の解析	渡辺雄一郎	東京大学大学院総合文化研究科
花器官形態形成遺伝子の被子植物における初期進化の機能的・系統的研究	青木誠志郎	東京大学大学院総合文化研究科
ミカズキモの有性生殖機構の分子生物学的解析	関本 弘之	東京大学大学院総合文化研究科
ヒメツリガネゴケの受精・胚発生課程の解析	加藤 雅啓	東京大学大学院理学系研究科
高等植物ミトコンドリア核構成タンパク質の同定	酒井 敦	奈良女子大学理学部
UV-B 光受容体の同定	植野 洋志	奈良女子大学生活環境学部
褐藻の鞭毛局在フラビンタンパク質の構造解析	村上 明男	神戸大学内海域環境教育研究センター
周生期エストロゲン処理によるマウス多卵性濾胞誘導機構の解明	佐藤 友美	横浜市立大学大学院総合理学研究科
酸化剤・抗酸化剤による遺伝子発現変化のマイクロアレイを用いた網羅的解析	綾木 仁	神戸大学大学院医学系研究科
子宮内膜細胞の増殖と機能発現に及ぼす発情ホルモンおよび内分泌擾乱物質の作用機構の解析	高橋 純夫	岡山大学理学部
ショウジョウバエ学習記憶中枢形成遺伝子の網羅的解析	古久保(徳永)克男	筑波大学生物科学系
ホヤ精子鞭毛分子構築と分子運動調節機構の解明	稻葉 一男	筑波大学下田臨海実験センター
レポーター酵素特異的蛍光プローブの開発と、これに基づく新規生理学研究ツールの確立	浦野 泰照	東京大学大学院薬学研究科
両生類における内分泌擾乱化学物質応答遺伝子の単離と構造解析	高瀬 稔	広島大学大学院理学研究科
強光ストレスの検知に関わるシグナル伝達経路の解明	林 秀則	愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター
生殖細胞の性分化に関わる体細胞の特性	小林 亨	(独)水産総合研究センター養殖研究所
オートファゴソーム膜新生における脂質の役割	梅田 真郷	京都大学化学生研究所
哺乳動物におけるオートファジーの分子機構と生理的意義の解明	水島 昇	(財)東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所
植物細胞内物質輸送系に関わる構造体の超微形態学的解析	林 八寿子	新潟大学教育研究院自然科学系
分化の影響を受けるコサプレッションの研究	児玉 浩明	千葉大学園芸学部
葉緑体運動機構の解析	門田 明雄	東京都立大学大学院理学研究科
ミドリムシ光活性化アデニル酸シクラーゼ (PAC) の光活性化機構の分光学的研究	志賀 潔	熊本大学大学院医学薬学研究部
ヒメツリガネゴケの $Ca^{2+}$ シグナル伝達因子の同定と機能解析	朽津 和幸	東京理科大学大学院理工学研究科
シアノバクテリアの紫外線耐性	坂本 敏夫	金沢大学大学院自然科学研究科

高等植物の液胞選別輸送の分子機構	西村いくこ	京都大学大学院理学研究科
マウス皮膚発生におけるWnt受容体の役割の解析	武藤正彦	山口大学医学部
Atg蛋白質の結晶構造解析	稻垣冬彦	北海道大学大学院薬学研究科
ヒメツリガネゴケ <i>Phan</i> 遺伝子, <i>Phb</i> 遺伝子の解析	出口博則	広島大学大学院理学研究科
周生期に投与したビスフェノールAのラット卵巣への影響	太田康彦	鳥取大学農学部
ゼブラフィッシュにおける精子形成の分子調節機構	酒井則良	情報・システム研究機構国立遺伝学研究所
環境ストレスに対するペルオキシソームタンパク質遺伝子の変動と新奇ストレス応答性ペルオキシソームタンパク質の探索	加藤朗	新潟大学理学部
光合成物における概日時計による代謝調節機構	近藤孝男	名古屋大学大学院理学研究科
<i>I pomea</i> 属植物をモデルとした高等植物の色素生合成機構の解明	野口博司	静岡県立大学薬学部

## 研究会

研究課題	提案代表者名・所属	
光生物学の課題と光技術の展望	片岡博尚	東北大学大学院生命科学研究所
オオバコの生物学=その現代的見直し=	塚谷裕一	自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター
SUMO修飾のバイオロジー	中村真	自然科学研究機構基礎生物学研究所
東アフリカ大湖群のシクリッド類における種分化の分子機構研究のストラテジー	岡田典弘	東京工業大学大学院生命理工学研究科
生体シグナルの可視化を目指して	上野直人	自然科学研究機構基礎生物学研究所

## 大型スペクトログラフ共同利用実験

研究課題	提案代表者名・所属	
紫外線による酸化的DNA損傷形成の波長依存性に関する研究	竹内裕一	北海道東海大学
イネのフィトクロム突然変異体を用いた子葉鞘の伸長抑制に対する短時間照射光の強度の効果	高野誠	(独)農業生物資源研究所
好熱性ラン藻 <i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1の走行性に関する研究	眞鍋勝司	横浜市立大学総合理学研究所
太陽UV-B人体被曝量計の高精度校正に関する研究	竹下秀	東海大学総合科学技術研究所
ベタレイン色素合成に関する光受容体の特定(Ⅱ)	足立泰二	大阪府立大学大学院農学生命科学研究所
マウス皮膚における紫外線誘発突然変異の作用スペクトル解析	池畠広伸	東北大学大学院医学系研究科
シアノバクテリアの遺伝子発現の光応答性研究	池内昌彦	東京大学大学院総合文化研究科
ラン藻の光運動反応に及ぼす青色光, 紫外光の影響	広瀬正紀	和歌山大学教育学部
脊椎動物生物時計の光入力系	飯郷雅之	宇都宮大学
器官培養皮膚組織における紫外線誘発アポトーシスの作用スペクトル	大西武雄	奈良県立医科大学
太陽光紫外線単独あるいは化学物質共存でのDNA傷害と突然変異、アポトーシスの誘導あるいはその抑制に関する研究	根岸友恵	岡山大学薬学部
シロイヌナズナのフィトクロム発色団構造と光生理応答の解析	河内孝之	京都大学大学院生命科学研究所
ユーグレナの光周的細胞増殖に有効な光の作用スペクトル	後藤健	帯広畜産大学
UVA照射により誘発される各種の酸化的DNA損傷の修復欠損大腸菌株による解析	二階堂修	金沢学院短期大学
Dual Irradiation Technique for Plastic Materials	Andrade, Anthony L.	Research Triangle Institute
Determining the action spectrum of phototaxis in diatoms and identification of the photoreceptors involved	Bowler, Chris	Stazione Zoologica
難治性皮膚および血液疾患に対する選択的波長を用いた光線療法の開発	森田明理	名古屋市立大学大学院医学研究科
歯の動力応答の光制御	塚谷裕一	自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター
新規青色光センサータンパク質、光活性化アデニル酸シクラーゼの作用スペクトル	伊関峰生	(独)科学技術振興機構
歯周病原性細菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> に対する光照射の影響の測定	里村一人	徳島大学医学部・歯学部付属病院

## 形質統御実験施設共同利用実験

研究課題	提案代表者名・所属	
イネの易変性葉緑素異体における転移性因子の探索	前川雅彦	岡山大学資源生物学研究所
サル大脳皮質錐体細胞に発現する voltage-gated ion channel の検索: 迂縁皮質と他の新皮質との比較	一戸紀孝	(独)理化学研究所脳科学研究推進部
RNAiの脳内局所注入による神経伝達物質受容体の強制脱落と発現	木村實	京都府立医科大学

## ■ 基生研セミナー

- |         |                         |
|---------|-------------------------|
| 1 深津 武馬 | ((独)産業技術総合研究所産学官連携部門)   |
| 2 石浦 章一 | (東京大学大学院総合文化研究科)        |
| 3 広瀬 進  | (国 立 遺 伝 学 研 究 所)       |
| 4 品川日出夫 | (大 阪 大 学 微 生 物 病 研 究 所) |
| 5 西島 正弘 | (国 立 感 染 症 研 究 所)       |

- |         |                  |
|---------|------------------|
| 6 田村 宏治 | (東北大学大学院生命科学研究科) |
| 7 岡田 清孝 | (京都大学大学院理学研究科)   |
| 8 木山 博資 | (大阪市立大学大学院医学研究科) |
| 9 谷坂 隆俊 | (京都大学大学院農学研究科)   |

## ■ 所長招へい

- |                       |                         |
|-----------------------|-------------------------|
| 1 大森 正之               | (埼 玉 大 学 理 学 部)         |
| 2 加藤 憲二               | (静 岡 大 学 理 学 部)         |
| 3 諏訪 裕一               | ((独)産業技術総合研究所産学官連携部門)   |
| 4 姜恭好(JIANG, Gonghao) | (上 海 鍼 灸 経 路 研 究 所)     |
| 5 EPSTEIN,Douglas,J.  | (ペニシルヴァニア大学スクールオブメディシン) |

- |  |                      |
|--|----------------------|
| 6 OLIVIER, Cotsaftis (C I R A D)             |                      |
| 7 CHOW, Jeremy (The University of Hong Kong) |                      |
| 8 奥本大三郎                                      | (埼 玉 大 学 教 養 学 部)    |
| 9 宮田 清司                                      | (京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科) |
| 10 坂口 拓哉                                     | (カ リ フ オ ル ニ ア 大 学)  |

■ 岡崎情報図書館 [www.lib.orion.ac.jp](http://www.lib.orion.ac.jp)



図書館建物

主な機能

- ・ライブラリーカードによる 24 時間利用。
- ・情報検索サービス (Web of Science, Inside web, NACSIS-IR, SciFinder Scholar 等)。

■ 岡崎コンファレンスセンター [www.occ.orion.ac.jp](http://www.occ.orion.ac.jp)



岡崎コンファレンスセンター

岡崎情報図書館は、岡崎 3 研究所の図書、雑誌等を収集・整理・保存し、機関の職員、共同利用研究者等の利用に供している。



図書館内部

学術の国際的及び国内的交流を図り、岡崎 3 機関の研究、教育の進展に資するとともに、社会との連携、交流に寄与することを目的に平成 9 年 2 月に竣工した。大会議室 250 名収容、中会議室 150 名収容、小会議室(2 室)各 50 名収容。



大会議室

■ 岡崎共同利用研究者宿泊施設 [www.occ.orion.ac.jp/lodge](http://www.occ.orion.ac.jp/lodge)

共同利用研究者等の宿泊に供するため、岡崎 3 機関の共通施設として宿泊施設「三島ロッジ」[個室 51、特別個室(1 人用) 9、特別個室(2 人用) 4、夫婦室 10、家族室 20] 及び「山手ロッジ」[個室 11、特別個室(2 人用) 4、家族室 2] があり、共同利用研究者をはじめ外国人研究員等に利用されている。



三島ロッジ

山手ロッジ

■ 現員

(平成 17 年 4 月 1 日現在)

	所長	教授 (客員)	助教授 (客員)	助手	さきがけ 研究員	博士研究員 (うち外国人)	大学院生	特別協力研究員 (うち外国人)	特別共同利用 研究員	技術職員
合計	1	14 (4)	14 (3)	34	2	52 (7)	43	47 (6)	18	28

■ 予算

(平成 16 年度決算額)

人件費 (千円)	物件費 (千円)	計 (千円)
793,750	797,773	1,591,523

■ 配置図



施設

施設	面積 (m <sup>2</sup> )
⑧ 山手 1 号館 A (動物実験センターの一部, アイソトープ実験センターの一部)	4,674
⑨ 山手 1 号館 B (形質転換生物研究施設)	2,303
⑩ 山手 2 号館 (統合バイオサイエンスセンターの一部, 計算科学研究センターの一部, 生理学研究所の一部)	8,453

施設

施設	面積 (m <sup>2</sup> )
⑪ 山手 3 号館 (基礎生物学研究所の一部, 生理学研究所の一部, 分子科学研究所の一部, 統合バイオサイエンスセンターの一部)	10,757
⑫ 山手 4 号館 (分子スケールナノサイエンスセンター)	3,813
⑬ 山手 5 号館 (核磁気共鳴装置による実験施設)	664
⑭ 高圧配電施設	440
⑮ 実験排水処理施設	111

岡崎統合事務センター長			栗	城	繁	夫		
総務部		部長	(兼務)		栗	城	繁	夫
総務課		課長			田	境	守	康
		課長補佐			水	野	均	
		課長補佐			神	谷	利	昌
		専門職員			鈴	木	昇	治
		総務係長			桑	原	博	明
		企画評価係長			小	林	高	士
		情報処理係長			服	部	康	史
		図書館係長			古	田	克	敏
		人事係長			山	本	寛	幸
		労務係長			杉	浦	鈴	代
		給与係長			廣	岡	義	彦
国際研究協力課		課長			平	尾	耕	二
		専門員			行	田	豊	
		国際係長			山	田	一	郎
		大学院係長	(兼務)		山	田	一	郎
		共同利用係長			伊	藤	伸	二
		産学連携係長			神	谷	良	志
		研究助成係長	(兼務)		神	谷	良	志
財務課		部長			原	口	正	明
財務課		課長			林	正	憲	
		課長補佐			白	井	啓	夫
		総務係長			稻	垣	道	雄
		財務第一係長			二	村	浩	臣
		財務第二係長			加	藤	厚	
		財務第三係長			村	木	教	悦
		出納係長			浅	井	誠	
調達課		課長			葛	西		勇
		専門員			藤	本	和	夫
		調達第一係長			浦	野	實	
		調達第二係長			加	藤	嘉	之
		調達第三係長			高	藤	八	朗
施設課		課長			渡	邊	壽	夫
		課長補佐			渋	谷	省	一
		資産管理係長			佐	々	部	真
		環境保全係長			地	中		剛
		施設係長						
		電気係長			井	川	正	幸
		機械係長			浅	野	一	夫

平成17年4月1日現在

## INDEX

あ

青木栄津子	41
青木裕美子	26,68
青野直樹	41
赤沼啓志	25
浅尾久世	37
浅野恵	21
綾部タ子	29
新井祐子	9
有田かおり	26,68
有田佳代	23
易梅生	17
飯岡英和	21
飯田滋	5,37
飯沼秀子	61,63
井川絵美	39
井口泰泉	45
池中一裕	62
石川あすさ	19
石川隆子	31
石川直子	47
井尻成保	17
伊関峰生	49,72
板津昌子	39
市川千秋	56,61
市川幸奈	41
市川洋子	58,61
市川理恵	11
市川真理子	21
伊藤慎治	49
伊藤崇子	61,63
井原賢	29
今井亜紀子	31
今井闇	25
今泉妙依子	45
今村拓也	32
今村寿子	52
上田千弦	9
植田佳子	23
上野直人	5,6,21,55,72
宇佐美剛志	17
氏家義史	39
内山郁夫	53,57
内海秀子	25,61
宇野智子	61
梅林弘美	52,59
漆谷博志	45

殷	彰顥	37
榎谷	和真	29
及川	和聰	9
尾板	英子	11
AUSTEN, Ganley	39	
大久保範聰	17	
大澤園子	31,61	
大住克史	39	
大隅良典	5,11	
太田耕平	17	
太田美咲	55	
おおにし誠	37	
大根田守	11	
大野薰	17	
大林享子	25	
大林典彦	25	
おおむろまつやまゆき	17	
大室(松山)有紀	17	
おおわきあきこ	19	
大脇亜希子	19	
岡早苗	19,61	
小笠原希実	9	
岡田典弘	42	
小川和男	13,63	
小川英知	19	
奥公秀	11	
奥村悠紀	37,68	
織田敬子	25,26	
小田律子	25	
小野明美	37	
小野田志歩	37	
小野寺純	11	
小原圭介	11	
小原真理	41	

か

陰山卓哉	11
片岡ゆかり	61
片山知美	29
勝義直	45
勝木元也	1,6,12,54
加藤恭子	9
加藤英男	45,68
加藤泰彦	45
兼氏君恵	63
金子裕代	17
壁谷幸子	11,61
鎌田知江	9
鎌田芳彰	11
神垣あかね	9
神谷清美	63

香村	敏郎	37	佐藤	弘明	32,68
川俣	朋子	11,68	佐藤	優子	19
川村	哲規	25	佐藤	良勝	41
河村	基史	58	澤田	薰	61,63
菊池	一浩	48	三城	和子	37
北館	祐	23	重信	秀治	23
木津川尚史		31	司馬	桂君	17
木下	典行	21	柴田惠美子		17
日下	雅友	19	柴田	やすし	17
鯨岡	昌裕	21	柴田	かおる	21
久保木悠子		9	柴本佳緒里		21
倉田(千野)智子		25	島嶋	雄一	19
栗田加代子		17	島嶋	ゆう	17
黒川	紘美	26,68	島谷	善平	37
小池ゆかり		19	島本	三樹	37
幸田	龍紀	19	清水	ひでたか	29
郷野	弘江	19	清水	秀忠	48
こしだ	澄人	25	峰子	くわにこ	37
越田		41,47	姜	恭好	39
小島	洋子		定塚	かつみ	37
小玉	明子	29	定塚	勝樹	37
児玉	顯一	39	定塚	恵世	37
児玉	隆治	43,55	新谷	隆史	29
後藤みさ子		41	進藤	あさこ	21
後藤	恵	29	未次	麻子	48
小林かおる		45	司	憲之	31
小林	慶子	58	杉浦	暁輝	19
小林	聰子	54	杉山	未央	55
小林	悟	23	鈴木	朋美	17
小林	武彦	39	鈴木	亜矢	9
小林	弘子	17,61	鈴木	育	11
小林	未佳	45	鈴木	邦律	57,61
小松	朋子	19	鈴木	恵子	49
小松	勇介	31	鈴木	けいこ	49
小峰由里子		31	鈴木	亮子	29
近藤	千香	11	鈴木	直美	41,61
近藤	真紀	9,61	住川	かのみ	11
			関藤	孝之	39
			芹澤	尚美	17
			周	林燕	

## さ

崔	泰林	39
齊藤	大助	26
酒井	章衣	17
阪井	康能	12
坂神	真理	61
作田	拓	29
笹岡	俊邦	34,58
佐々木	剛	42
佐々木	哲也	31
佐藤	香織	23
佐藤	仁泰	23

## た

田尾	ひろたか	21
高木	きよこ	37,68
高木	千賀子	17
高木	知世	21,61
高木	ゆずり	58,61
高木	由香利	31
高司	雅史	25
高代加代子	かよこ	5,25,58,59,62
高田	しんじ	25
高田	慎治	45
高橋	絵里	42
高橋	かずひこ	

たかはし	潤	じゅん	.....	25
たかはし	弘雄	ひろお	.....	29
たかはし	弘樹	ひろき	.....	21
たかはし	高畑	たおる	.....	31
たかはし	高畠	たおる	.....	47
たかはし	高部恵理子	かおりこ	.....	21
たかまつ	高松	かおり	.....	61,64
たかみ	高見	かみ	重美	61,64
たけうち	竹内	たけうち	和美	33
たけうち	竹内	たけうち	基貴	32,68
たけうち	竹内	たけうち	靖	29,61
たけした	竹下	たけした	美也子	56,61
たなか	田中	たなか	幸子	37,61
たなか	田中	たなか	実	26,58
たなはし	棚橋	たなはし	貴子	41
たにやま	谷山	たにやま	かずみ	21
たむら	田村	たむら	ひろし	29
チャウベ	CHAUBE, Radha	チャウベ	ラダ	17
ちょう	CHOW, Pak Hong Jeremy	ちょう	ほんじえみー	29
ちゅん	鄭	ちゅん	恵英	21,68
つがね	梅根	つがね	一夫	37
つかむら	束村	つかむら	博子	32
つかや	塙谷	つかや	裕一	47,72
つけしば	柘植	つけしば	豊子	21,55
つけしば	附柴	つけしば	久美	11
つちや	土屋	つちや	直美	23
つちや	土屋	つちや	惠	19
つづき	都築志保子	つづき	志保子	61
つぼい	坪井	つぼい	秀憲	48
てらさか	寺坂	てらさか	知恵	21
てらた	寺田	てらた	理枝	37
どどゆ	百々由希子	どどゆ	由希子	61,64
とよおか	豊岡(河合)博子	とよおか	かわい	48
とみだ	富田	とみだ	早苗	19

## な

ながせ	永瀬	ながせ	茂	しげる	.....	62
ながた	永田恵美子	ながた	えみこ	.....	45	
ながた	長田	ながた	重一	しげかず	.....	12
なかと	中戸川	なかと	仁	ひとし	.....	11
ながはま	長瀬	ながはま	嘉孝	よしたか	5,6,17,55	
なかむら	中村	なかむら	佳世	かよ	.....	29
なかむら	中村	なかむら	修平	しゅっぺい	.....	26,68
なかむら	中村	なかむら	貴宣	たかひろ	.....	56,61
なかむら	中村	なかむら	隆弘	たけし	.....	29
なかむら	中村	なかむら	志	たけし	.....	45
なかむら	中村	なかむら	徹	とおる	.....	31
なかむら	中村	なかむら	眞	まこと	.....	21,72
なかむら	中森	なかむら	ちひろ	まさこ	.....	9
なからり	名倉	なからり	眞子	まさこ	.....	47

なんば	難波	なんば	千嘗子	ちよこ	.....	57,61
にしで	西出	にしで	浩世	ひろよ	.....	57,61
にしな	仁科	にしな	桃子	ももこ	.....	9
にしむら	西村	にしむら	紀子	きこ	.....	61
のくち	野村	のくち	幹夫	みきお	.....	5,6,9,56
のだ	野裕司	のだ	裕司	ゆうじ	.....	58
のだ	野健司	のだ	健司	けんじ	.....	11
のだ	野千代	のだ	千代	ちよ	.....	23,61
のだ	野昌晴	のだ	昌晴	まさはる	.....	5,6,29,63

## は

ばく	朴	ばく	慶一	きよひる	.....	37
はしもと	橋本	はしもと	薰	かおる	.....	41
ばす	BASU, Dipanjan	ばす	でいばんじゅん	.....	17	
はせがわのりこ	長谷川訓子	はせがわのりこ	訓子	くにこ	.....	41
はせ	長谷部光泰	はせ	光泰	みつやす	.....	5,41
はつどり	服部	はつどり	宣子	のぶこ	.....	64
はなだ	花田	はなだ	孝雄	たかお	.....	11
ばば	馬場	ばば	崇	たかし	.....	19
ばば	馬場	ばば	美鈴	みすず	.....	11
ばは	BHANDARI, Ramji Kumar	ばは	ラムジ・カーマー	ラムジ・カーマー	.....	17
はまだ	濱田	はまだ	義雄	よしお	.....	14,56
はやかわ	早川	はやかわ	利枝	りえ	.....	17
はやし	林	はやし	晃司	こうじ	.....	58,61
はやし	林	はやし	誠	まこと	.....	9
はやし	林	はやし	誠	まこと	.....	23
はやし	林	はやし	良樹	よしき	.....	23
はら	原	はら	郁代	いくよ	.....	17
はら	原	はら	洋子	ようこ	.....	11
ひがし	東	ひがし	正一	しょういち	.....	56,61
ひなこ	日名子	ひなこ	恵	めぐみ	.....	45
ひやま	檜山	ひやま	武史	たけし	.....	29
ひらいわ	平岩	ひらいわ	宏基	ひろき	.....	41
ひらかわ	平川	ひらかわ	恵里	えり	.....	17
ひらまつ	平松	ひらまつ	美佳	みか	.....	41
ひろかわ	廣川	ひろかわ	純也	じゅんや	.....	31
ひろなか	弘中	ひろなか	東美江	とうみえ	.....	61
ひわちし	日渡	ひわちし	祐二	ゆうじ	.....	41
ふあ	Fatchiyah	ふあ	ちや	にあり	.....	19
ふえ	FERXI, Ali	ふえ	じゅじや	にあり	.....	47
ふかざわ	深澤	ふかざわ	美津江	みつえ	.....	9
ふかだ	深田	ふかだ	齊秀	さいゆ	.....	29
ふくい	福井	ふくい	由宇子	ゆうこ	.....	19
ふじかわ	藤川	ふじかわ	顯寛	あきひろ	.....	29
ふじき	藤木	ふじき	友紀	ゆうき	.....	11
ふじくら	藤倉	ふじくら	潮	うしお	.....	47
ふじた	藤田	ふじた	知道	ともみち	.....	41
ふじた	藤田	ふじた	浩德	ひろのり	.....	52
ふるかわ	古川	ふるかわ	和彦	かずひこ	.....	61

ぼーる びんどう	PAUL, Bindhu	17	もろはしけんいちろう	諸橋憲一郎	5,6,19,55
ほの あつし	星野 敦	37			
ほそかわん たろう	細川健太郎	41			
ほつづみげる	BOSCH, Miquel	31			
ほりうち たかし	堀内 高	5,39	や		
ほりくち ごろう	堀口 吾朗	47	八木 美奈	みなえ	9
ほんだ さとこ	本多 聰子	23	安田 聖愛	じゅんめい	58
			谷津 潤	じゅん	23
ま			矢野 覚	さくし	47
まえざわ たかのぶ	前澤 孝信	23	山内 卓樹	たくじき	37,68
まえだ まさと	前田 昌人	21	山内 大輔	だいすけ	48
まきの はるこ	牧野 治子	41	山口 勝司	かつじ	37,61
まきの のぶこ	牧野由美子	61,64	山口 賴大	たかひろ	47
まきはら みのこ	牧原 暢子	55	山口 ちなみ	ちなみ	47
まつい まこと	松井 誠	11	山口 千波	せんぱ	25
まつだ ちさと	松田 知里	37	山口 良文	りょうぶん	29
まつだ まさる	松田 勝	17	山田 かのる	かのる	29
まつだ かじら	松田 淑美	61,63	山田 けんじ	けんじ	9
まつもと みかこ	松本美和子	37	山田 誠	まこと	19
まのえりこ	間野絵梨子	47	山田 美鈴	みすず	33
まのじゅじ	眞野 昌二	9	山田 成宏	せいこう	21
みうら せいこ	三浦 誓子	42	山本 久美	くみ	57,61
みうら じゅんこ	三浦 純子	21	山本 泰憲	やすのり	29
みかみ こうじ	三上 浩司	50	山本 たかまさ	たかまさ	21
みかみ ゆりこ	三上由利子	39	山森 哲雄	てつお	5,6,31
みき かずひこ	三木 和彦	31	吉兼 久美	なみ	21,68
みすずに たけし	水谷 健	45,61	吉兼 紫美	さむい	17
みすずいり しんじ	溝入 真治	42	吉国 通庸	うつこ	58
みすずくち まさきえ	溝口 正枝	29	吉田 悅子	ゆみ	9
みやかわ あつし	宮川 敦士	54	義則 有美	こうみ	11
みやかわ ゆうこ	宮川 裕子	54	吉本 光希	ひかり	29
みやけ さとこ	三宅 智子	21	米原 圭祐	けいすけ	
みやこし あきら	宮越 陽	21			
みやさき さおり	宮崎さおり	41			
みやばやか なこ	宮林香奈子	19,68			
みわ ともき	三輪 朋樹	57,61			
むかい まさのり	向 正則	23			
むこう だい	向田 茂世	55			
むらたた たかし	村田 隆	41			
むらたた あづし	望月 敦史	52,59,69,70			
むらたた あやべ	望月(綾部)慈子	52			
もしは まんど	MOHAMAD, Zubair	19			
もり ともこ	森 友子	61,64			
もり ゆうじ	森 裕司	32			
もりた まさまさ	森田 裕将	37			
もりとう さちる	森藤 晓	37			
もりなが しんいち	森長 真一	41,68			
もりへ はづみ	森部 初美	61,64			
もりおか なおまき	諸岡 直樹	39,61			