

基礎生物学研究所が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発足して、2年が経過しました。

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。

法人化後も、人件費を始め研究遂行に必要な資金は、国庫から運営費交付金として、すべて支出されます。法人になり、非公務員になったとはいえ、国費で賄われる我々職員には、依然として高い倫理性が要請されています。

一方、その使い方に自由度が増したとされています。人件費と物件費との枠組みがなくなり、必要に応じて有能な人材を抜擢しても定員という概念に縛られなくなりましたし、逆に必要に応じて備品を調達できるようになりました。また組織の改編が自由になり、研究部門や研究室の規模も機関に任されることになりました。

他方、自由度に責任を持たせるために、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、2年を経過して様々な問題が出て来ました。それは、法人化の目的がそうであったように、国家予算の削減という政治課題が直接研究機関にも影響を与える状況を迎えたためです。人件費の5年間で5%削減や、運営費交付金のやはり5%削減は、大学共同利用機関法人にも適用されますし、人事院勧告による給与削減なども公務員と同様に実施勧告がなされています。これらは評価とは無関係な我が国の経済状況によるものですから受け入れざるを得ませんが、法人化のメリットであった人件費と物件費との融合が事実上なくなりました。それでは評価による資源配分はどうでしょうか。

大学共同利用機関法人評価委員会の評価が重要な理由は、運営費交付金などの資源配分に反映される可能性があるからです。大学共同利用機関の存在理由に沿って、健全で知性ある評価を期待するところですが、いまでも大学共同利用機関を大型施設や装置を利用することが出来る機関と間違えて理解されている方が多いので、ここで少し歴史的な説明をしておきます。

1953年京都大学の一施設であった基礎物理学研究所（湯川記念館）が、全国の理論物理学者の要望にこたえて、全国の研究者に共同利用施設として開放し、運営されることとなりました。その形式は、京都大学に属しながら、研究所の基本方針は所員および国内から選出された所外研究者の代表により実践、決定されることになったのです。学術研究にとって最も重要な研究者同士の自由な人間的な接触による議論の場を、研究者自身の手による運営としたところが極めて独創的なものと評価され、その後、この運営形式をもつ個別の大

学に属さない大学共同利用機関が創設され、それぞれの研究者コミュニティの中核研究拠点として活動し、現在に至っているのが大学共同利用機関です。

そのユニークな役割の一つは、それぞれの研究者コミュニティにおける重要な問題の研究を進めるのみならず、激しく進

歩し、新たな発想による問題が提起される最前線の研究者達が、客員教授として一定期間滞在したり、国内外の集会を開いたり、未開拓の分野について議論し、未来の学問分野を切り拓くなどの個別の大学では困難な理念の創出をも視野に入れた議論の場を提供することにあります。

また、この形式は当然のことながら具体的な実験計画から生み出される大型設備や施設の共同利用に発展し、研究に不可欠な設備を中心とした共同利用形態を含むようになったのです。

さらに、知識の蓄積はデータベースなどの知的基盤の整備によって、さらなる活用が可能になる。その点でも個別の大学で担うには困難な使命として大学共同利用機関の果たす役割は大きくなってきました。

以上のような発展過程のうえで、現在の大学共同利用機関をみると、それぞれの分野で重要な問題の解決に挑む研究者の中核機関であるとともに、次に掲げる項目の一つまたはいくつかに該当するといえるでしょう。

1. 個別の大学では実現が困難な広範な研究者コミュニティの常設の高等研究組織（COE）である。
2. 研究者コミュニティがもつ重要な問題の解決のために大型の設備を共同利用し、その運営に当たる組織である。
3. さまざまな知識をデータベース化し、知的基盤の充実に貢献する。

大学共同利用機関は、機関長の選考をはじめ、教授や研究スタッフの選考を、すべて外部から選出された代表者に委ねてきました。これからも、この方式を続けることによって、わが国における真の中核研究機関として大きく発展しようとする我が国独自の世界に誇れる学術研究組織なのです。

基礎生物学研究所は、今後の基礎生物学を見通し、創造的な学術分野を創出すべく努力していくつもりです。

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、基礎生物学研究所は他の 4 研究所とともに自然科学研究機構の一員となった。

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

22 研究部門、11 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、そのために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、主に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。

22 研究部門と 11 研究室とをさらに 7 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。国際的に重要かつ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。

共同利用

全国の大学の教員その他の者で、研究所が目的とする研究に従事する者には施設の利用を供するとともに研究所の教員との共同利用研究を行う。

●重点共同利用研究

生物学の基盤研究をさらに強化発展させ、独創的で世界を先導する研究を創成し、発展させるため、他の研究機関の研究者と所内の教授、助教授が共同して行う複数のグループが

らなる総合研究。

● 個別共同利用研究

他の研究機関の研究者が所内の教授、助教授と協力して行う個別プロジェクト研究。

● 共同利用実験

大型スペクトログラフを使用して、本研究所が設定した実験課題について行う実験・研究。昭和 56 年度から開始している。

● 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、研究推進する比較的少人数の研究討論集会。

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所を組織し、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大学である。平成元年度から後期 3 年の博士課程のみで発足した。平成 16 年度からは後期 3 年の博士課程に加えて 5 年一貫制の博士課程を併設し、大学院教育の充実を図っている。

国際交流

基礎生物学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

自然科学研究機構の共同研究協定に基づき、基礎生物学研究所と EMBL との合同シンポジウムによる質の高い情報交換や、大学院生を含めた研究者交流を行っている。また、共同研究の中核をなすバイオイメーjingにおいては、EMBL で新しく開発された顕微鏡システム (SPIM) を基礎生物学研究所に導入するなどの技術交流も盛んに行っている。

● 国際研究拠点

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、基礎生物学分野の国際研究拠点としての事業を積極的に行っている。

● 基礎生物学研究所コンファレンス (NIBB Conference)

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」を継続している。すでにこの線に沿って 12 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。

● 施設利用

研究所の施設は個別に利用するもので、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 (重点共同利用研究、個別共同利用研究) 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している。

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それらの大学に所属する大学院学生を「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行っている。

● 生物学国際高等コンファレンス (Okazaki Biology Conferences)

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。しかしながら、さらなる生物学の発展には、新しい研究課題としての問題発掘が必須である。

我が国の基礎生物学を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学会連合に意見を聞きながら、今後生物学が進むべき新たな研究分野の国際的コミュニティを形成するため、先導的な国際研究集会を開催することを提唱してきた。

生物科学学会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きわめて大きい。平成 16 年 9 月には、第 2 回「地球圏微生物学 (Terra Microbiology)」が開催され、さらに平成 18 年 3 月には第 3 回 OBC として「絶滅の生物学 2 (The Biology of Extinction 2)」が開催された。

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（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）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（仮称）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（感覚情報処理研究部門）
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）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 11 年 4 月 生命環境科学研究センター設置。

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，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設置。

平成 13 年 4 月 情報生物学研究センター設置。

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。
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。

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 17 年 4 月 連携・広報企画運営戦略室設置。



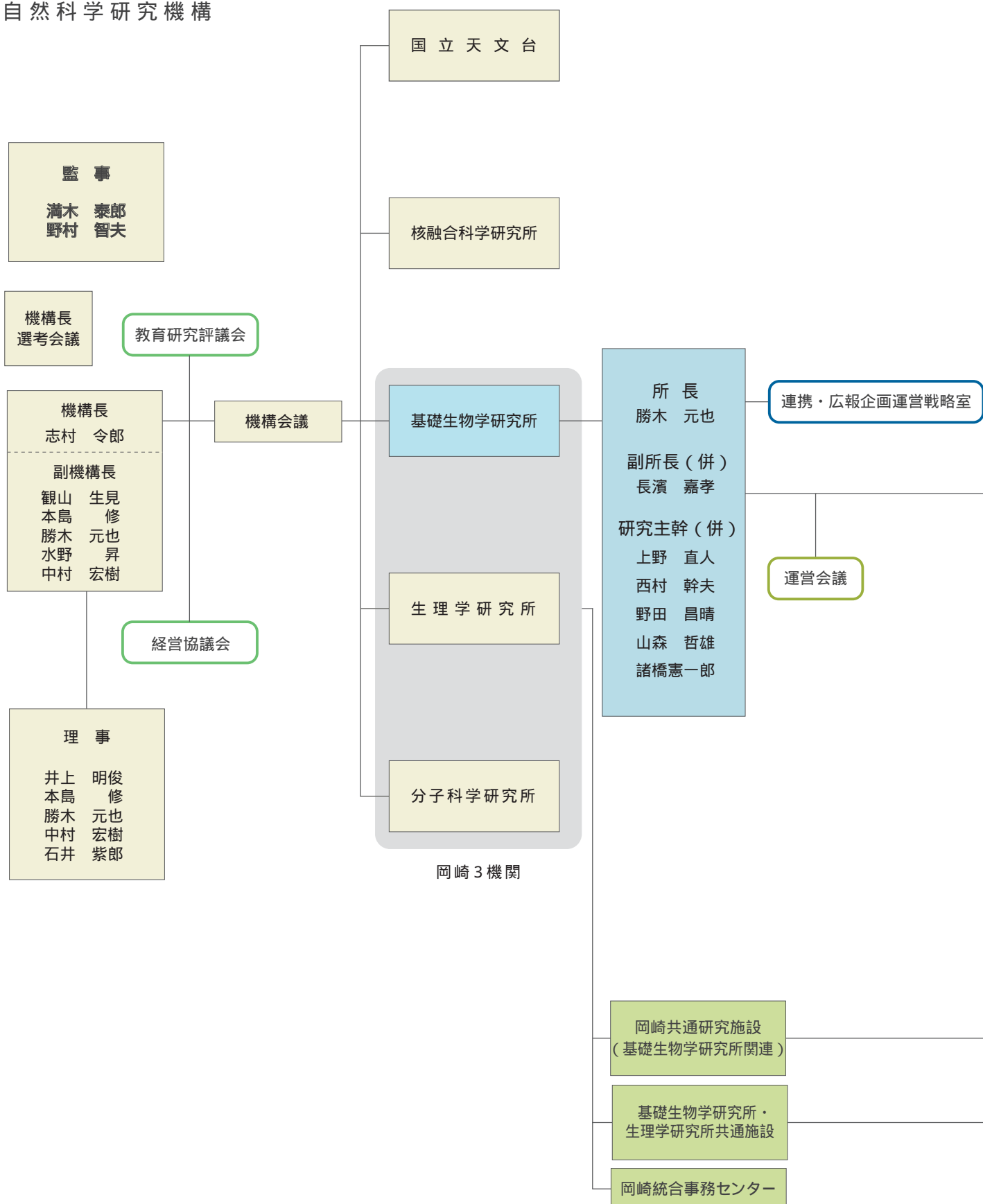
運営会議

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
- 形態形成研究部門
- 発生遺伝学研究部門
- 生殖遺伝学研究室

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
- 所長研究室

進化多様性生物学領域

- 分子遺伝学研究部門
- ゲノム動態研究部門
- 生物進化研究部門
- 種形成機構研究部門*
- 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門
- 植物発生遺伝学研究部門*
- 光情報研究部門*
- 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

- 理論生物学研究部門
- ゲノム情報研究室

イメージングサイエンス研究領域

- 発生ダイナミクス研究部門*
- 時空間制御研究室

* 客員研究部門

研究施設

培養育成研究施設

形質転換生物研究施設

情報生物学研究センター

技術課

- 細胞器官培養室
- 人工気象室
- 実験圃場
- 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

岡崎統合バイオサイエンスセンター

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

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

- 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
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



発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幅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、糖新生に児与するグリオキシソームが光合成に児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ることを見だし、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、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 5）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し、

www.nibb.ac.jp/celmech/

高次細胞機構研究部門

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児与す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。

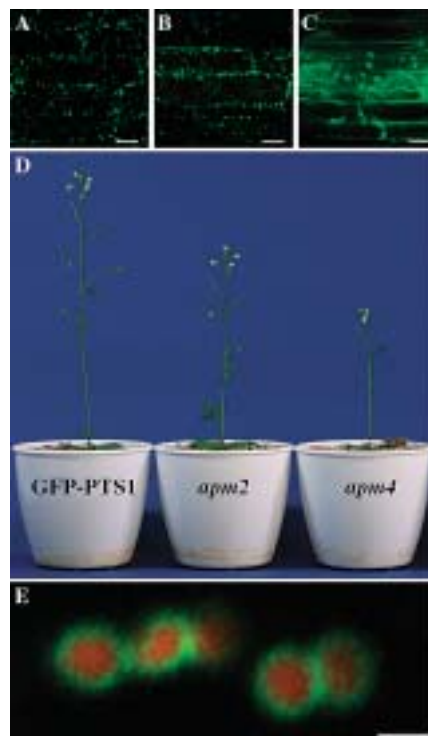


図 1. ペルオキシソームタンパク質の輸送に児与する 2 つの PEX タンパク質

GFP によりペルオキシソームを可視化したシロイヌナズナ植物体 GFP-PTS1 (A) を親株として変異処理を行い、GFP 蛍光のパターンが異なるペルオキシソーム形態不全変異株 *apm* (*aberrant peroxisome morphology*) を選抜した (B, C)。*apm2* (B)、*apm4* (C) 変異体は共に GFP の蛍光がペルオキシソームだけでなくサイトソルでも観察されることからペルオキシソームへのタンパク質輸送が低下している。これらの植物体は矮性を示し (D)、*APM2*、*APM4* 遺伝子は、それぞれ PEX13、PEX12 をコードしていた。PEX12 遺伝子と GFP との融合遺伝子を RFP-PTS1 と共に一過的にシロイヌナズナの根で発現させると、PEX12 を示す緑のシグナルが、ペルオキシソームマトリクスを示す赤のシグナルを囲むように観察され (E、GFP-PEX13 の場合も同じ蛍光パターンを示す)、*APM2*/PEX13、*APM4*/PEX12 がペルオキシソーム膜上でタンパク質輸送に児与していることが明らかとなった。バーは (A)、(B)、(C) が 20 μm 。(E) が 1 μm 。

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。シロイヌナズナのゲノムデータベースの検索から、全部で 21 個の PEX 遺伝子候補を同定した。RNAi 法によって、これらの遺伝子のノックダウン株を作製し、各 PEX 遺伝子産物の機能解析を行っている（文献 4）。また、ペルオキシソームが GFP で可視化された植物

体を親株として変異処理し、ペルオキシソーム形態が異常になった変異体を選抜し解析を進めている（図1）。これらの変異体およびノックダウン株の解析から、ペルオキシソーム機能および形成に関与する新たな分子が同定され、それらの機能解析からペルオキシソームを介した植物の高次機能発現機構が明らかになりつつある。

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 GFP 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 ボディは幼植物体の表皮細胞に多く見られる（図2）。成長した植物では ER ボディが見られないが、傷害で誘導される。このことから、ER ボディは食害や病害に対する防御の働きがあると考えられる。bHLH 型の転写制御因子、NAI1 が ER ボディ形成に関わることが知られており、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。最近、私たちは VPE の新しい機能を見いだした。動物のプログラム細胞死に関わるカスパーゼは植物には存在しないが、植物のプログラム細胞死 (PCD) においてカスパーゼ活性が検出される。VPE はカスパーゼ活性をもつことがわかった。VPE の発現が低下したタバコでは PCD の一つである過敏感細胞死が抑えられた。また、VPE が欠損したシロイヌナズナではカビ毒素 (FB1) による細胞死が押さえられた。一方、シロイヌナズナの新しい VPE ホモログ、 δ VPE は珠皮特異的に発現し、 δ VPE 欠損株では珠皮の PCD が遅れることがわかった。

た。これらの細胞死が起こる前に液胞が崩壊することから、VPE による液胞崩壊が PCD を引き起こすことが示唆された。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3）。

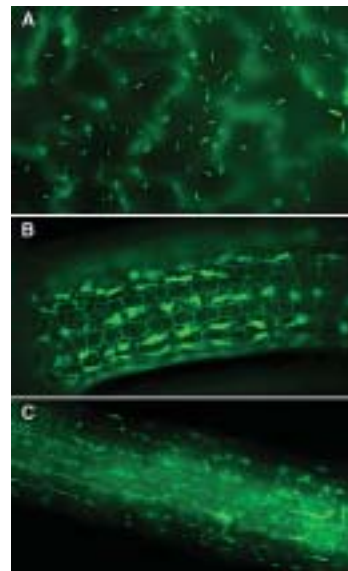


図2. ER ボディは幼植物体の表皮細胞に局在する
GFP により小胞体を可視化した形質転換シロイヌナズナの幼植物体の表皮を観察した。ほぼ全身に ER ボディが見られる。(A) 子葉。(B) 胚軸。(C) 根。

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. 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.
4. 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.
5. Mano, S., Nakamori, C., Nito, K., Kondo, M. and Nishimura, M. (2006). The Arabidopsis *pex12* and *pex13* mutants are defective in both PTS1- and PTS2-dependent protein transport to peroxisomes. *Plant. J.* in press.

STAFF



西村 幹夫
教授



林 誠
助教授



真野 昌二
助手



山田 健志
助手



新井 祐子
研究員

技術課技術職員
近藤 真紀

博士研究員
神垣あかね
及川 和聡
CHRISTELLER, John

総合研究大学院大学院生
小笠原希実
後藤 志野

技術支援員

中森ちひろ
義則 有美
鈴木 育
深澤美津江
加藤 恭子
仁科 桃子
佐藤 世理

事務支援員

上田 千弦
久保木悠子


www.nibb.ac.jp/enehen/

分子細胞生物学研究部門

オートファジーに關与する 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) と呼ばれる液泡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 キナーゼについても詳細な解析を進めている。

自自然界において、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感知すると、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となっている。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应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 / リソソームと特異的に融合するのか、オートリソ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。

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關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 の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) に關与している (図 1)。構造解析の結果、Atg12p が実際にユビキチン様タンパク質であることが明らかとなった。構造情報をもとに、さらに詳細な機能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* 再構築系を用いて解析を進めている。

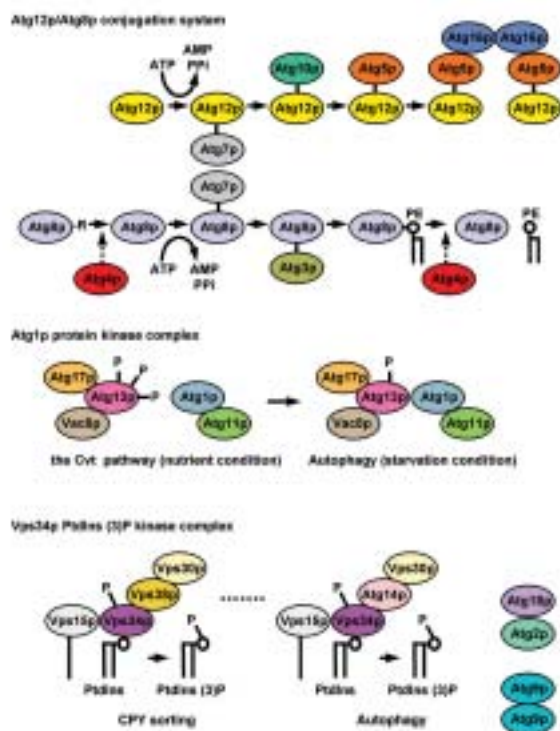


図 1 . Atg タンパク質の機能

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。

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)。

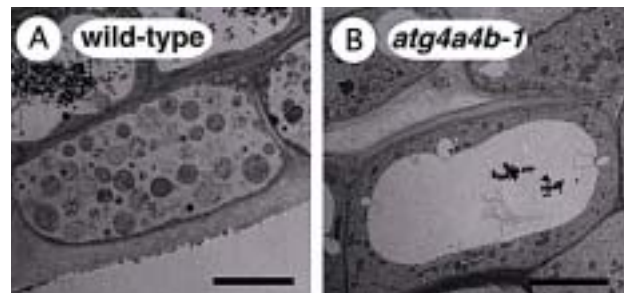


図 2 . *atg4a4b-1* 変異株はオートファジー能を欠損している

野生株 (A) と *atg4a4b-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、*atg4a4b-1* 変異株では観察されない。バーは 10 μm。

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

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., Tokuhi, 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



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

技術課技術職員
壁谷 幸子

原 島 俊明
川俣 朋子

技術支援員
市川 理恵
近藤 千香

博士研究員
奥 公秀
山本 林
関藤 孝之
吉本 光希
花田 孝雄
藤木 友紀
大根田 守

特別協力研究員
馬場 美鈴
総合研究大学院大学大学院生
陰山 卓哉
大岡 杏子

事務支援員
附 柴 久美
原 洋子

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
客員教授
(大阪大学大学院 生命機能研究科)



酒巻 和弘
客員助教授
(京都大学大学院 生命科学研究科)

細胞構造研究室

細胞内には細胞骨格と呼ばれる繊維状構造物がはりめぐらされている。アクチン繊維や微小管といったものがそうだ。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。ダイニンの上り列車だ。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。

繊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本のダブルレット微小管と中心にある一対の中心小管からできている。またダブル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。

ダイニンは繊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。前者を軸系ダイニン、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。軸系ダイニンは積荷（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。ただ軸系ダイニンの場合この動きは無制限で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150万に及び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（Tctex2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られている。図2はTctex1とTctex2から形成されるSmoac

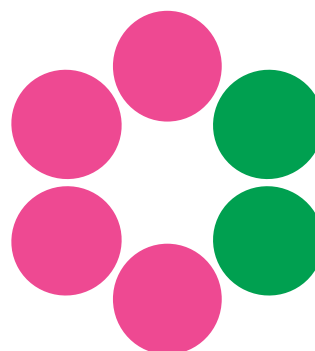


図1. フラグメントAの構造
4つのWalkerモジュール（ピンク）と2つのAAAモジュール（グリーン）からなるダイニンのモーター領域（フラグメントA）

（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。

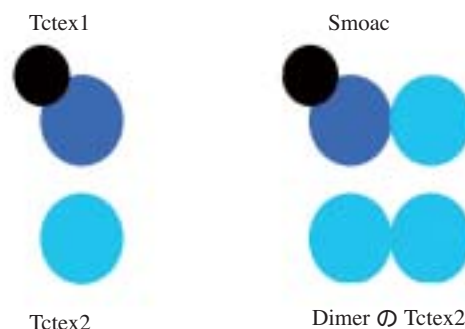


図2. Smoac形成のモデル

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割を果たしている。

参考文献

1. Ogawa, K. (1991). Four ATP-binding sites in the midregion of the β -heavy chain of dynein. *Nature* 352, 643-645.
2. 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.
3. 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.
4. 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いる。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。その中の管構造は繊維芽細胞が上皮細胞に変換して出来上がる。繊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ことが判明している (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。

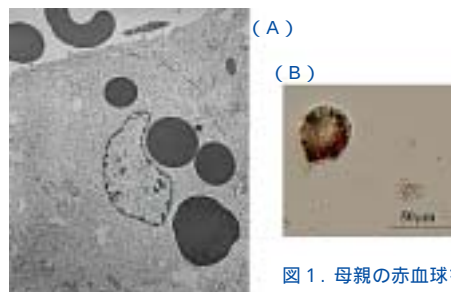


図1. 母親の赤血球を食べる栄養芽細胞の電顕像 (A) と光顕像 (B)

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。

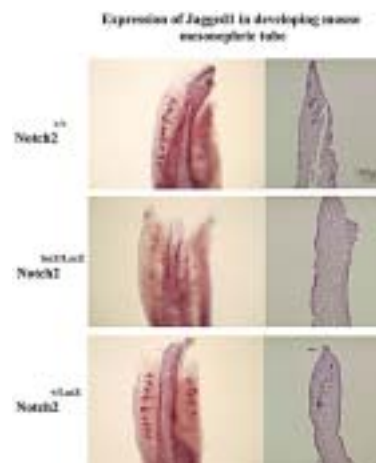


図2. Notch2 の変異体の中腎

この変異体では中腎細管の構造が全く作られていない。繊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



濱田 義雄
助手




www.nibb.ac.jp/repbio/

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 (新潟大学酒泉満教授との共同研究)。この遺伝子は、哺乳類の性決定遺伝子 *SRY/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生殖腺のセルトリ細胞に発現する。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* が生殖腺体細胞に発現して雄となり (図 1)、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。*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。

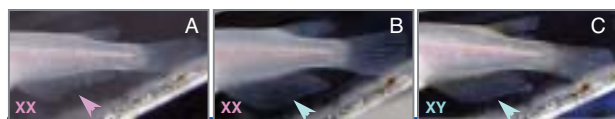


図 1. 遺伝的雌 (XX) に *DMY* を導入したトランスジェニックメダカの表現型は雄 (B、尻鰭大、矢印)。正常の雌 (A、尻鰭小、矢印) と雄 (C、尻鰭大、矢印) のメダカ。

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) を孵化直後から内因性エストロゲンの生成やエストロゲン受容体の働きを抑制すると、遺伝的雌は機能的雄に不可逆的に性転換する。また、XX生殖腺では卵巣分化に先立ち *Foxl2* と芳香化酵素の

遺伝子発現が高まる。この *Foxl2* のドミナント・ネガティブミュータントを導入したトランスジェニックティラピアの一部は完全に性転換を起こし雄となった。従って魚類では、*Foxl2* と芳香化酵素の働きにより XX 生殖腺で特異的につくられるエストロゲンが卵巣の分化に中心的な役割を果たすと考えられる。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だ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、これにより、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。同トランスジェニックメダカを用いて、ヒトの生殖不全疾患であるカールマン症候群の原因遺伝子 *KAL1* のメダカホモログのノックダウンを行ったところ、初期発生過程における GnRH ニューロンの移動が阻害されることが明らかとなった (図 2)。この結果は、*KAL1* が初期発生過程における GnRH ニューロンの移動を制御していることを証明するとともに、GnRH トランスジェニックメダカが、これまで存在しなかったカールマン症候群の *in vivo* モデルとして有用であることを示している (文献 7)。

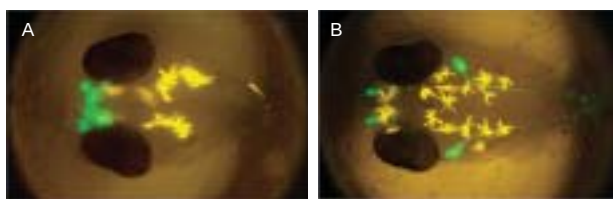


図 2. メダカ *KAL1* ホモログのノックダウンにより、初期発生過程における GnRH1 ニューロン (パネル A, 矢印) と GnRH3 ニューロン (パネル B, 矢印) の移動が阻害される。

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-プレゲネン-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、活性型多機能性プ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カスケードをつきとめた (文献 1)。

ヒトデの生殖腺刺激ホルモン：我々は三田雅敏教授 (東京学芸大学) 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腺刺激物質 (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., Kajiura, 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 20β -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.
7. Okubo, K., Sakai, F., Lau, E.L., Yoshizaki, G., Takeuchi, Y., Naruse, K., Aida, K., and Nagahama, Y. (2006). Forebrain gonadotropin-releasing hormone neuronal development: insights from transgenic medaka and the relevance to X-linked Kallmann syndrome. *Endocrinology* 147, 1076-1084.

STAFF



長濱 嘉孝
教授



吉国 通庸
助教授



大久保 範聡
助手



BASU, Dipanjan
研究員

博士研究員

松田 勝保
井尻 成章
酒井 桂
馬田 安君
柴田 司
太田 耕平
鈴木 亜矢
佐々 剛志
美 裕代
金 志
王 恩
劉 良
PAUL, Bindhu

BHANDARI, Ramji Kumar
CHAUBE, Radha
BASU, Shakuntala
趙 浩斌

総合研究大学院大学大学院生
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。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 β -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。これらの転写関連因子以外に SUMO 化修飾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 Ad4BP/SF-1 を特異的に認識する因子の単離に成功した。この因子解析から SUMO 化修飾の生物学的意義が明らかになると期待している。

www.nibb.ac.jp/celdif/

性差生物学研究部門

生殖腺の形成に必要な遺伝子の相互関係

生殖腺の形成過程には種々の遺伝子の関与が知られているが、それらの遺伝子の相互関係は不明の部分が多い。この点を明らかにするためにはこれらの遺伝子の破壊マウスの表現型や遺伝子破壊マウスを用いた遺伝的相互作用などの解析が必要である。このような解析から Ad4BP/SF-1 遺伝子と M33 遺伝子の間に遺伝的相互作用の存在を認めた。解析の結果、これらの遺伝子間には M33 遺伝子が Ad4BP/SF-1 遺伝子を正に制御することが示された。一方これまでに、Ad4BP/SF-1 遺伝子の構造を種々の観点から調べてきたところ、Ad4BP/SF-1 遺伝子のその上流に存在する GCNF 遺伝子の間には DNaseI に対し高感受性を示す領域、核マトリックスの結合領域、インシュレータータンパク質の結合領域、ヒストンタンパク質のアセチル化の境界領域などが存在し、二つの遺伝子の物理的境界を構成しているのではないかと考えられた（図1）。そこで、M33 の制御機構を明らかに

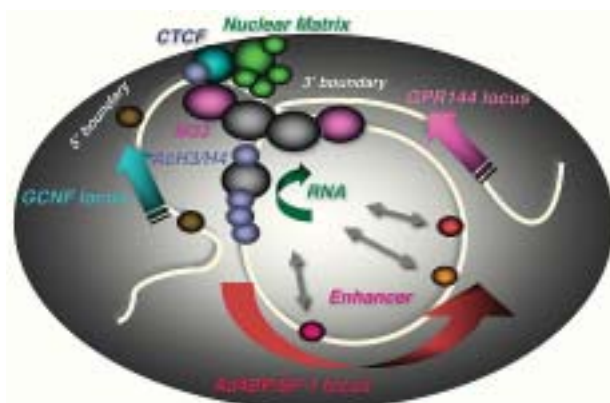


図1. Ad4BP/SF-1 遺伝子領域の構造

上流に存在する GCNF 遺伝子の間には種々の因子が結合し、Ad4BP/SF-1 遺伝子との間に物理的境界領域を構成していると考えられる。

するために、この境界領域に対する M33 の結合を調べたところ、やはりこの領域に結合していることが明らかになり、

M33 が Ad4BP/SF-1 遺伝子を直接制御することが示された。Ad4BP/SF-1 遺伝子近傍の構造とそこに結合する因子群の解析が今後の課題である。

卵巣における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。近年、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と指摘されたが、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、脳下垂体ホルモンと同時に女性ホルモン（エストロゲン）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ゲン産生能の低下を示唆したが、確かにこの遺伝子破壊雌マウスではエストロゲ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ゲン産生の上昇を引き起こすことで、本来エストロゲンがない時期に高濃度のエストロゲ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ゲン受容体と結合することでエストロゲ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。

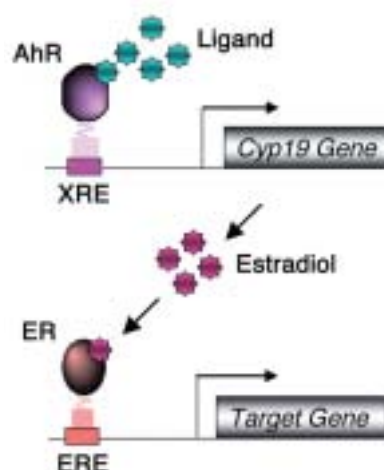


図2. ダイオキシンの生殖毒性

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、エストロゲン (Estradiol) 量を上昇させる。エストロゲンは受容体 (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. 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.
2. 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.
3. Baba, T., Mimura, J., Nakamura, N., Harada, N., Yamamoto, M., Morohashi, K.,* and Fujii-Kuriyama, Y.* (*, equally contributed to this work) (2005). Ah (dioxin) receptor as a key factor in the regulation of female reproduction. *Mol. Cell. Biol.* 25, 10040-10051.
4. Kato-Fukui, Y., Owaki, A., Sotoyama, Y., Kusaka, M., Shinohara, Y., Maekawa, M., Toshimori, K., and Morohashi, K. (2005). Mouse Polycomb M33 is required for splenic vascular and adrenal gland formation through regulating Ad4BP/SF-1 expression. *Blood* 106, 1612-1620.

STAFF



諸橋 憲一郎
教授



福井 由宇子
助手



小川 英知
助手



馬場 崇
研究員

技術課技術職員
岡 早苗

博士研究員
MOHAMAD, Zubair
小松 朋子
嶋 雄一
石丸 善康

特別協力研究員
土屋 恵
日下 雅友

総合研究大学院生
桂 有加子

特別共同利用研究員
宮林 香奈子
横山 智哉子

技術支援員
大脇 亜希子
石川 あずさ
小池 ゆかり
郷野 弘江

富田 早苗

事務支援員
杉浦 未央



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ってきた。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 β カテニン依存経路と非依存経路に分類できる。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*

www.nibb.ac.jp/morphgen/

形態形成研究部門

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 β カテニン非依存 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）。

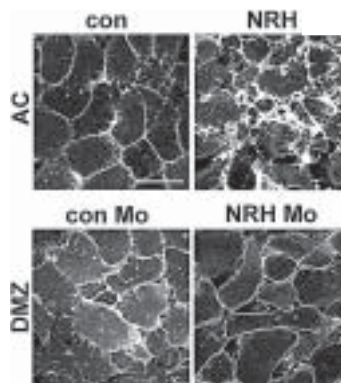


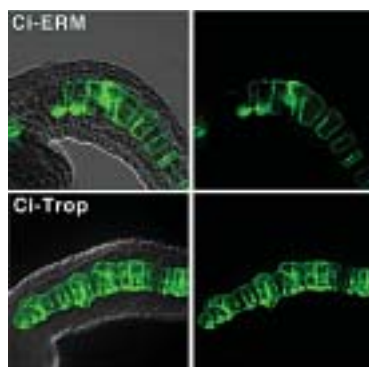
図 1. NRH はフィロポディア形成を介して原腸形成運動を制御する

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び、これまでに、我々はカタユ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の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。

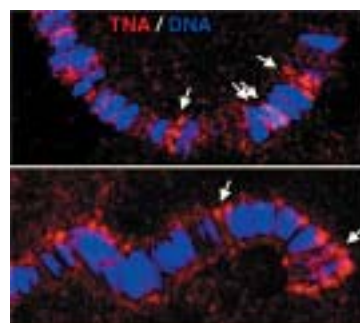
図2. ホヤ幼生の脊索特異的に発現する遺伝子産物の細胞内局在

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

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、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。



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)

参考文献

1. Takahashi, H., Hotta, K., Erives, A., Di Gregorio, A., Zeller, R. W., Levine, M., and Satoh, N. (1999). Brachyury 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 prickly-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.* 282, 95-110.

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

前田 昌人

LEE, Rebecca

進藤 麻子

特別共同利用研究員

鄭 恵英

吉兼 奈美

技術支援員

山本 隆正

高松 香

山田 成宏

谷山 和美

寺坂 知恵

事務支援員

三宅 智子

柘植 豊子



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ツを作り上げ、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、取り込まなかった細胞が体細胞になることが知られている。その中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。

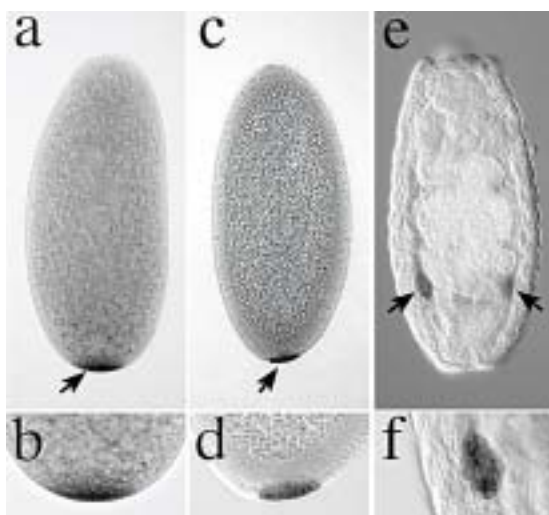


図1. ショウジョウバエ胚における生殖細胞形成過程

卵割期胚の後極の極細胞質（a中の矢印）は、胞胚期に極細胞中に取り込まれる（c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。

www.nibb.ac.jp/cib1/

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 (mtlrRNA) が同定されている。ミトコンドリア内で転写される mtlrRNA は、極細胞質中でミトコンドリアから極細胞質中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、mtlrRNA が、ミトコンドリア small ribosomal RNA (mtsrRNA) 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。

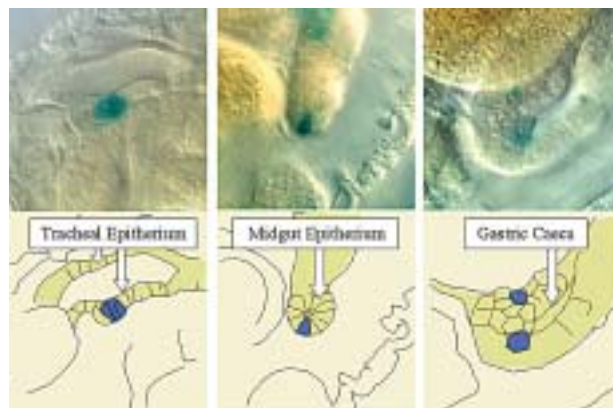


図2. Nanos タンパク質を欠く極細胞の発生運命

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与する因子の解析

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 α 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 α 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。

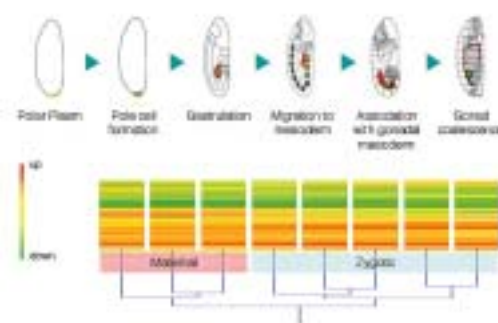


図3. マイクロアレイ解析の結果

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 mitochondria 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

博士研究員
佐藤 仁泰

総合研究大学院大学院生
北 祐
林 誠
谷 潤
前 孝信

橋山 一哉

技術支援員
土谷 直美
佐藤 香織

事務支援員
本多 聡子


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

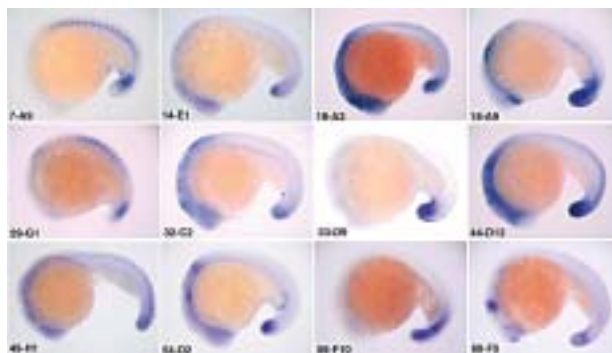


図2. In situ hybridization によるスクリーニングによって得られた末分節中胚葉で発現する遺伝子

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。その一つの結果として 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。

多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。こ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、真皮のもとに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対以上もの体節が、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。

本部门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。その一つは末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

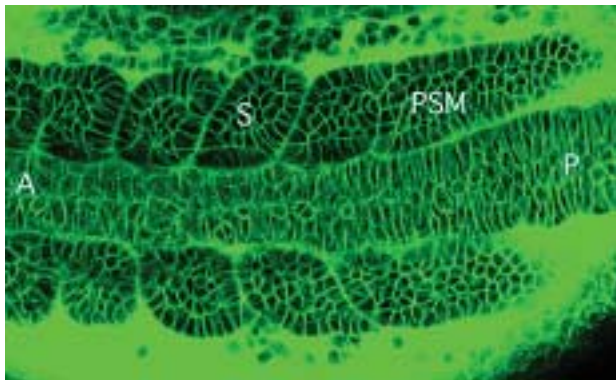


図1. ゼブラフィッシュの体節

体節(S)は尾部側(図の右側)にある末分節中胚葉(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。

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の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

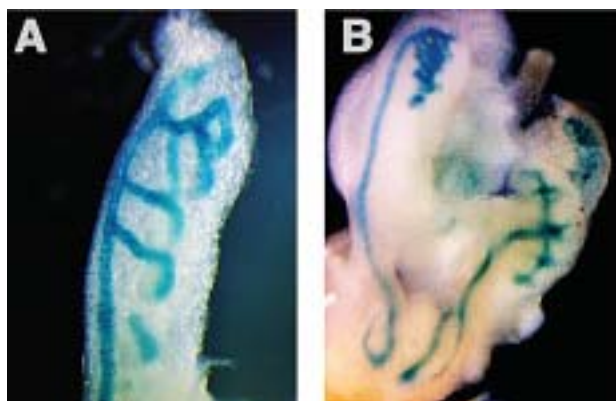


図 3. マウスの腎発生過程における Wnt 標的遺伝子 CL43 の発現
A: CL43 は 10.5 日胚から腎管や中腎細管で発現を開始する。
B: その後、13.5 日胚ではウォルフ管、集合管、尿細管にも発現が見られる。
この遺伝子は腎臓以外にも唾液腺や涙腺、乳腺など様々な外分泌腺の導管部に発現し、これらの導管に共通して発現する一連の遺伝子の発現を制御する。

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、そのうちのひと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. 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.
4. Koshida, S., Kishimoto, Y., Utsumi, H., Shimizu, T., Furutani-Seiki, M., Kondoh, H., and Takada, S. (2005). Integrin α 5-dependent fibronectin accumulation for maintenance of somite boundaries in zebrafish embryos. *Dev. Cell* 8, 587-598.
5. 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.

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

博士研究員

川村 哲規

赤沼 啓志

山口 良文

高田 律子

総合研究大学院大学院生

石谷 閑

高橋 潤

技術支援員

小田 律子

高代加代子

佐々木美智子

柴田千登世

事務支援員

鶴飼 咲枝



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。

生殖腺は次世代を担う配偶子形成を行なう重要な器官である。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が精巣へと（雌雄）分化する。この生殖腺性分化が個体レベル（外見）にも影響を与え、個体全体の性の違いを生み出すものとなる。生殖腺形成と性分化過程解明とを目的として、モデル動物メダカの透明性を生かして生殖腺を構成する細胞系列や遺伝子産物の可視化を行なっている。光らせた細胞を追跡することで新たな細胞系譜を同定するとともに、それら細胞系譜の分化とその相互作用を、可視化した細胞・分子の三次元動態を主軸として解析することにより、性の個体レベルの包括的機構解明を目指している（図1）。

さらに生殖腺形成突然変異体単離を行いその変異体原因遺伝子探索を進める一方で、可視化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での新たな器官形成解析方法を目指している。

可視化による細胞系譜・相互作用解析

将来の卵や精子となる生殖細胞は *in vivo* の単一細胞レベルで受精卵から追跡可能となり、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、この中に配置された細胞が生殖腺前駆体細胞として決定されることが明らかとなった



図1. 生殖細胞系列が解析可能な形質転換メダカ

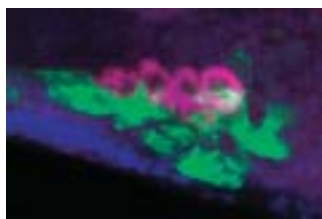


図2. 体細胞(緑)が生殖細胞(赤)を包み込む瞬間

www.nibb.ac.jp/reprogenetics/

生殖遺伝学研究室

た（図2）。この後生殖腺を構成する複数の細胞系譜が確立しつつ性分化を行なうが、各細胞系列を可視化することで、この後の性分化過程での実態解明を進めている。

生殖腺性分化過程の可視化

性分化過程における可視化により、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ムービーにより解析している。

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、生殖腺形成不全と性転換きたす変異体を数系統単離した（図3）。その結果、細胞増殖や細胞系譜異常と性分化との関係など、性分化の新しい局面が明らかになりつつある。



図3. 増殖異常・性転換突然変異体メダカ *totoro*

参考文献

1. Nakamura, S., Kobayashi, D., Aoki, Y., Yokoi, H., Ebe, Y., Wittbrodt, J. and Tanaka, M. (2006). Identification and lineage tracing of two population of somatic gonadal precursors in medaka embryos. *Dev. Biol.* in press
2. Morinaga, C., Tomonaga, T., Sasado T., Suwa H., Niwa K., Yasuoka, Y., Henrich, T., Watanabe, T., Deguchi, T., Yoda, H., Hirose, Y., Iwanami, N., Kunimatsu, S., Okamoto, Y., Yamanaka, T., Shinomiya, A., Tanaka, M. (corresponding author), Kondoh, H., and Furutani-Seiki, M. (2004). Mutations affecting gonadal development in Medaka, *Oryzias latipes*. *Mech. Dev.* 121, 829-839.
3. Wakamatsu, Y., Pristayzhnyuk, 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.
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. 田中実 木下政人 青木裕美子 中村修平 (2003). RNA 翻訳制御による生殖細胞形成：メダカを中心に。細胞工学 22, 1073-1076.

STAFF



田中 実
助教授



青藤 大助
研究員

博士研究員

三浦 純子

特別共同利用研究員

青木 裕美子

中村 修平

黒川 紘美

事務支援員

鷗飼 咲枝





当研究部門では、個体発生の過程で脊椎動物の中樞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領域区分が存在し、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。RLCS 法によってニワトリ胚の網膜内において領域特異的に発現する分子群を網羅的に単離・同定し、その内の新規分子を中心に、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（図 1A）。この中には数多くの転写調節



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。

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。前後軸と背腹軸は独立に決定されると長い間考えられてきたが、発生の過程で前後軸から背腹軸への働きかけがあり、視神経が投射する発生ステージでは、背腹軸は後側へ傾斜して、前後軸とは直交していないことが最近になって判ってきた。

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、互いの二次元的相対位置関係を保持した様式で正確に対応した結合を形

niwww3.nibb.ac.jp

統合神経生物学研究部門

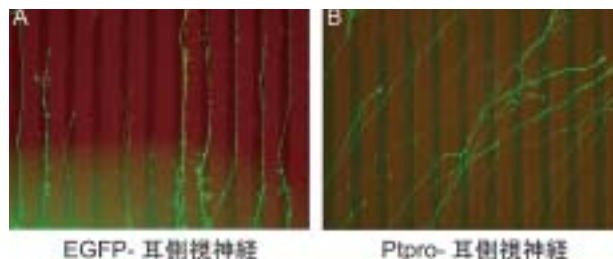


図 1B. 受容体型プロテインチロシンホスファターゼ Ptpo の過剰発現による視神経軸索の ephrin に対する反応性の低下

A: コントロールとして EGFP を発現させた耳側視神経（Eph 受容体が多い）は ephrin（赤色部分）を避けて ephrin の無い領域（黒色）上を伸長する。

B: 耳側視神経に Ptpo を過剰発現させると、Eph 受容体が不活化され、ephrin がある領域上でも伸長できるようになる。

成する、いわゆるトポグラフィック投射路が見られる。その代表である網膜視蓋投射系では、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、正しい投射先の識別に働く分子、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 1B; 図 2A）。

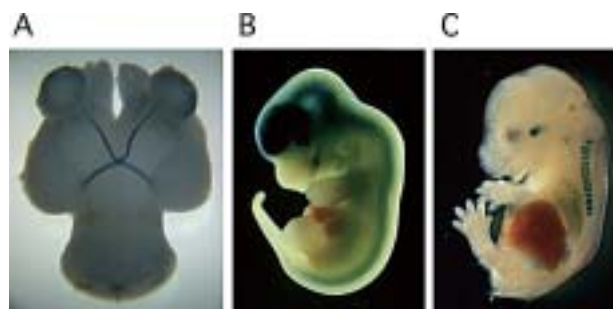


図 2. 遺伝子変換マウスによる遺伝子機能の研究

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球と脳。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 (Ptpz) の関わる生命現象とそのシグナル伝達経路

Ptpz 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 Ptpz 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、さらに、会合分子として PSD-95 ファミリー等を同定してきた。また、Ptpz 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・脳内報酬系として知られる中脳 辺縁系のドーパミン神経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

Na_x チャンネルは電位依存性 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 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 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のグリア細胞に発現しており、 Na_x 遺伝子欠損マウス (図 2C) は、脱水条件下でも塩分 (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 Na_x は脳室周囲器官において、体液中の Na^+ 濃度の上昇を検知するセンサーとして働いている。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 Na_x 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 食塩水選択率のナトリウム濃度依存性

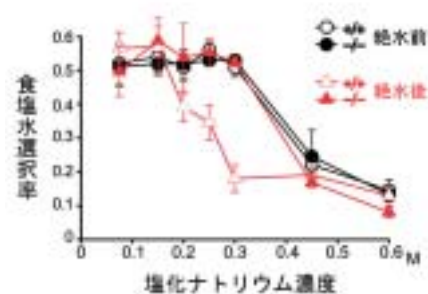


図 3 二瓶法における食塩水選択率の Na 濃度依存性

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、 Na_x 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., Ihara, M., Sakuta, H., Takahashi, H., Watakabe, I., and Noda, M. (2006). Eph receptors are negatively controlled by protein tyrosine phosphatase receptor type O. *Nature Neurosci.*, in press. Published online May 7, 2006.
4. Kawachi, H., Fujikawa, A., Maeda, N., and Noda, M. (2001). Identification of GIT1/Cat-1 as a substrate molecule of protein tyrosine phosphatase ζ / β 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). Na_x2/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). Na_x 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 Na_x 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



檀山 武史
助手



高橋 弘雄
研究員

技術課技術職員

竹内 靖
博士研究員
藤川 顕寛
鈴木 亮子
深田 斉秀
中村 隆弘
山本 泰憲

総合研究大学院大学院生

井原 賢
米原 圭祐
榎谷 和真
清水 秀忠
中村 佳世
CHOW, Pak Hong Jeremy
張 藍帆
長倉 彩乃
青島 晃宏

技術支援員

溝口 正枝
後藤 恵
綾部 夕子
片山 知美
服部 宣子
事務支援員
小玉 明子



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来た。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/

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、マイ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保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、2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。

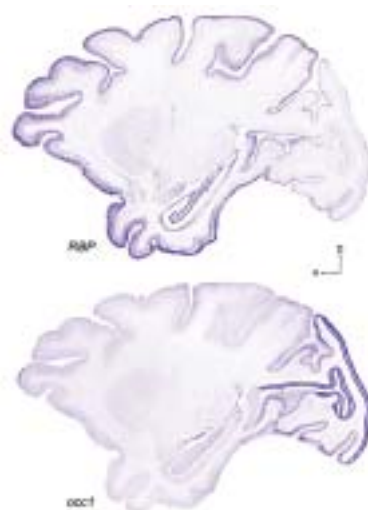


図1. *occ1* と *Rbp* の発現パターン（文献4）

今ひとつは、霊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 が霊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、霊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。

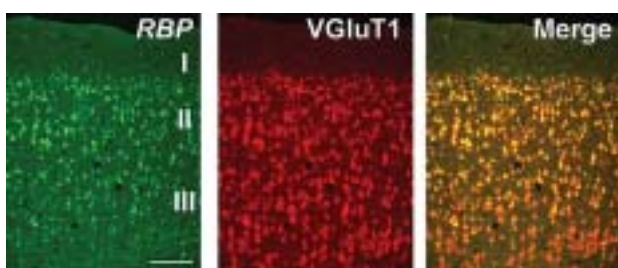


図 2. Rbp の大脳皮質興奮性細胞での発現 (文献 4)

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 個よりかなり少ない (0.1% 以下) 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よう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. 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.
5. Takahata, T., Komatsu, Y., Watakabe, A., Hashikawa, T., Tochitani, S., and Yamamori, T. (In press). Activity-dependent expression of occ1 in excitatory neurons is a characteristic feature of the primate visual cortex. *Cerebral Cortex*, 2005 Sep 8; [Epub ahead of print]

STAFF



山森 哲雄
教授



渡我部 昭哉
助手



小峰 由里子
助手



高畑 亨
研究員

技術課技術職員

大澤 園子

博士研究員

小松 勇介

総合研究大学院大学院生

中村 徹

佐々木 哲也

廣川 純也

高司 雅史

仲神 友貴

戸板 成子

技術支援員

森田 淳子

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., Miyauchi-Senda, N., Tanaka, S., and Shiota, K. (2004). Identification of genetic and epigenetic similarities of *SPHK1/Sphk1* in mammals. *J. Vet. Med. Sci.* **66**, 1387-1393.
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., Neildes, T., Thenevin, C., and Paldi, A. (2004). Essential role for poly (ADP-ribose) 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 endymocytes 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., and 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

客員教授

(東京大学大学院 農学生命科学研究科) (名古屋大学大学院 生命農学研究科)



束村 博子

客員助教授



今村 拓也

助手



富川 順子

研究員

特別共同利用研究員

佐藤 弘明

山田 健二

www.nibb.ac.jp/neurophys/

神経生理学研究室

ネットワークを複雑に張り巡らせ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

Nax チャンネルは電位依存性ナトリウムチャン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ンネル分子であった。当研究室では Nax 遺伝子欠損マウスを開発し、解析を進めたところ、Nax 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）、Nax 遺伝子欠損マウスは過剰に塩分を摂取すること（図 2）、Nax 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、Nax 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ン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ンネルの発見は、これが世界で初めての例となった。



図 1. 脳における Nax の発現部位

Nax 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

Nax 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。

Nax 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 Nax 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 - グリア連携機



図 2. Nax 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、Nax ナトリウムチャンネルは、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。我々はモノクロー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., Fujikawa, A., Matsunaga, H., Yasoshima, Y., Sako, N., Yamamoto, T., Saegusa, C., and Noda, M. (2000). Nav2/NaG channel is involved in control of salt-intake behavior in the CNS. *J. Neurosci.* 12, 7743-7751.
2. Hiyama, T.Y., Watanabe, E., Ono, K., Inenaga, K., Tamkun, M.M., Yoshida, S., and Noda, M. (2002). Nax channel involved in CNS sodium-level sensing. *Nature Neurosci.* 5, 511-512.

STAFF



渡辺 英治
助教授



山田 美鈴
研究員

神經生化学研究室

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。

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。

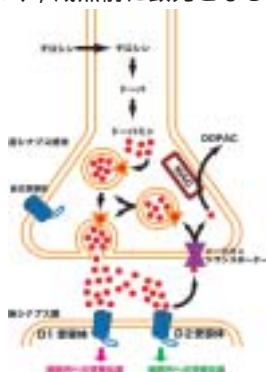


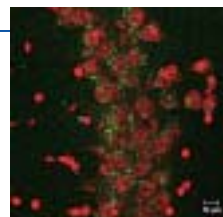
図 1. ドーパミン作働性シ
ナプスの模式図

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

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薬で染色されている。



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。

膜タンパク質複合体の機能解析

肢帯型筋ジストロフィーの一群であるサルコグリカノパチー (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が一つが欠損しても、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

1. 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 Mol. Genet.* *8*, 1589-1598.
2. 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. *J. Neurosci.* *20*, 8305-8314.
3. 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 Mol. Genet.* *9*, 3047-3054.
4. 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.

STAFF



笹岡 俊邦
助教授

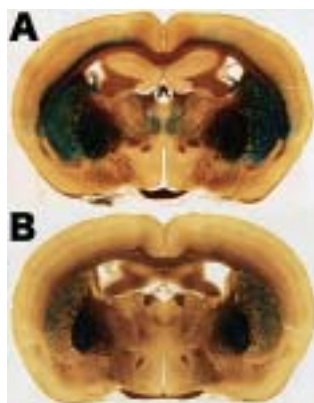
所 長 研 究 室

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系における神経伝達物質で、受容体を介して、運動の制御、情動、報酬系や、「こころ」の働きにも関与する重要な役割をしている。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、ドキシサイクリン(Dox)投与による条件的遺伝子発現システムを使

図1. テトラサイクリン発現抑制システムを用いて作成したD1R条件的発現マウス

(A)ドキシサイクリン(Dox)投与前は、線条体での導入遺伝子の発現がマーカー分子の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。

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、Dox投与後、約2 - 4週間後に急速に運動機能の低下により、餓死に至ることを見出した。また、運動機能低下後、Doxを水に代えて投与すると、再び運動機能を回復した。これは、D1およびD2受容体が構造的変化や記憶学習に直接関与していないことを示すものである。

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。現在、行動測定の新しい装置を試運転中であるが、正常マウスについて行動のリズム測定が可能である。

参考文献

1. 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* 1, 253-268.
2. Kadotani, H., Hirano, T., Masugi, M., Nakamura, K., Nakao, K., Katsuki, M., and Nakanishi, S. (1996). Motor discoordination 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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. USA* 102, 2117-2122.
7. 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 chorea-acanthocytosis. *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



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”の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

我々は平賀源内の「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っ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

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。

遺伝子の網羅的解析も行っている。

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* が色素生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わ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た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の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、色素生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、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、通常の栽培条件下で交配と自殖により転移を制御できるイネの唯一トランスポゾンであることを明らかにした。さらに *nDart* を新たなイネの遺伝子タギング系として利用し、*thumbelina* (親指姫) と名付けた易変性の矮生変異を同定した。

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

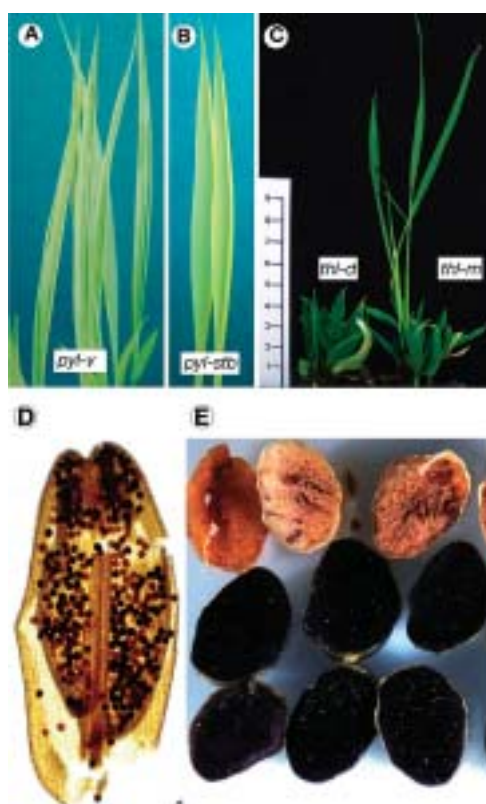


図 2. イネの易変性 *virescent* 変異 (A) 安定な *virescent* 変異 (B) , 易変性 (右) と安定な (左) 矮性変異 (C) と相同組換えにより *Waxy* 遺伝子が改変されたトランスジェニックイネの葯 (D) と胚乳 (E) 1 対の *Waxy* 遺伝子の片方がターゲットされたイネの葯中に 1:1 で含まれるウルチ性とモチ性の花粉と *Waxy* 遺伝形質の次世代の胚乳での分離。ヨード染色によりウルチ性は濃く、モチ性は薄く染まる。

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体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-D,E)。今後、さらにこの手法を用いてエビジェネティ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. 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.
2. Fukada-Tanaka, S., Inagaki, Y., Yamaguchi, T., Saito, N., and Iida, S. (2000). Colour-enhancing protein in blue petals. *Nature* 407, 581.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Tsugane, K., Maekawa, M., Takagi, K., Takahara, H., Quin, Q., Eun, C.H., and Iida, S. (2006). An active DNA transposon *nDart* causing leaf variegation and mutable dwarfism and its related elements in rice. *Plant J.* 45, 46-57.

STAFF



飯田 滋
教授



寺田 理枝
助手



星野 敦
助手



梅根 一夫
助手



森田 裕将
研究員

技術課技術職員

田中 幸子
山口 勝司

博士研究員

定塚 恵世
朴 慶一
殷 彰顯
森藤 暁
姜 恭好

特別協力研究員

香村 敏郎

総合研究大学院大学院生

島谷 善平

特別共同利用研究員

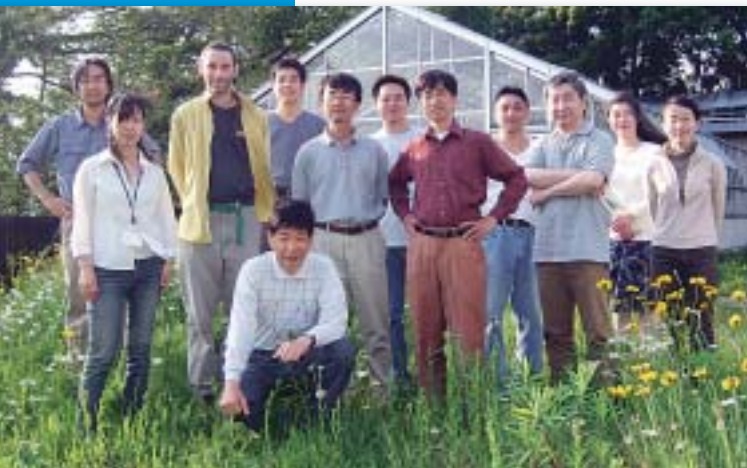
高木 恭子
山内 卓樹

技術支援員

小野 明美
浅尾 久世
松本美和子
島本 三樹
松田 知里

事務支援員

三城 和子



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、「ゲノム安定性・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の高い組み換え領域を「組み換えのホットスポット」と呼ぶ。つまり複製阻害点はホットスポットであるが、阻害不能になった変異株では、コールドスポットになり、他の領域との区別がなくなる。この現象は、複製が正常に進行しなくなった時、その回避あるいは再構築のために起こる生物反応の一部ではないかと考えた。それならば、この反応が普遍的である可能性があり、同様なことが真核生物でも起こるかどうかを調べた。

複製阻害による遺伝子増幅

複製の阻害部位は、バクテリアのみならず真核生物（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、自律的に回復し元に戻る。我々は複製阻害部位（RFBと呼ぶ）における阻害が不能になった変異株を分離し、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領域の組み換えが起こらなく

www.nibb.ac.jp/gene2/

ゲノム動態研究部門

なるが、驚いたことにrDNA コピー数の増減が停止しフリーズしたのである。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と非常によく似ていた。この発見が、rDNAを含めそれまで未解決であった遺伝子増幅の機構解明の突破口になった。その後の解析から、染色体の構造維持やダイナミクスに重要な役割を担うことで知られるSMCタンパクファミリーのメンバーである、コヒーシやコンデンシンが、それぞれrDNA領域の特異的部位に結合し、コピー数増減のコントロールやリピート構造維持に特異的で必須な役割を果たすことを明らかにしつつある。例えば、これまでM期（分裂期）の染色体凝縮と分配に働くと考えられてきたコンデンシンが、S期（DNA合成期）のrDNAの複製阻害部位（RFB）に、阻害タンパク（Fob1）依存的に結合することを見出しており、その結合機構と意味を解析中である（図1参照）。

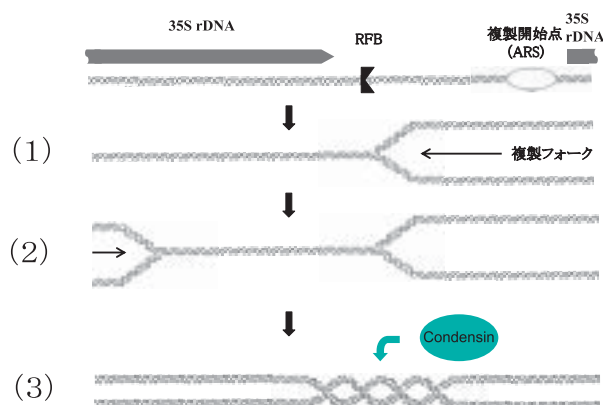


図1 染色体凝縮タンパク「コンデンシン」のrDNA複製阻害部位（RFB）への特異的結合モデル

（1）複製開始点（ARS）から開始した左向きの複製は、RFBで阻害される。（2）他のARSからの右向きの複製が近づいてくる。（3）複製の会合に伴い、一部の捻れが解けず、2本の姉妹染色体同士に絡まった部分として残る。この構造をカタネーションと呼ぶ。この構造をコンデンシンが認識し結合する。

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」が起こる必要がある。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、その速度は 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の開発に成功した（図 2 参照）。この解析から、ゲノム構造上の簡単な条件さえ整えば、生物は爆発的な遺伝子増幅能力を有していることを知るに至った。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」の具体的過程を明らかにするため、実験的なチャレンジを始めつつある。

化へ」の具体的過程を明らかにするため、実験的なチャレンジを始めつつある。

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**, 1575-1588.
2. Kobayashi, T., Horiuchi, T., Tongaonlar, 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.
3. Kobayashi, T., and Ganley, A.R.D. (2005). Recombination regulation by transcription-induced cohesin dissociation in rDNA repeats. *Science* **309**, 1581-1584.
4. Watanabe, T., and Horiuchi, T. (2005). A novel gene amplification system in yeast based on double rolling-circle replication. *EMBO J.* **24**, 190-198.
5. Hayashi, K., Morooka, N., Yamamoto, Y., Fujita, K., Isono, K., Choi, S., Ohtsubo, E., Baba, T., Wanner, B.L., Mori, H., and Horiuchi, T. (2006). Highly accurate genome sequences of *Escherichia coli* K-12 strains MG1655 and W3110. *Mol. Systems Biol.* doi:10.1038/msb100049:E1-E5.
6. Johzuka, K., Terasawa, M., Ogawa, H., Ogawa, T., and Horiuchi, H. (2006). Condensin loaded onto the replication fork barrier site in ribosomal DNA (rDNA) repeats during S-phase in a FOB1-dependent fashion to prevent contraction of a long repeats in *S.cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* **26**, 2226-2236.

新しい遺伝子増幅法

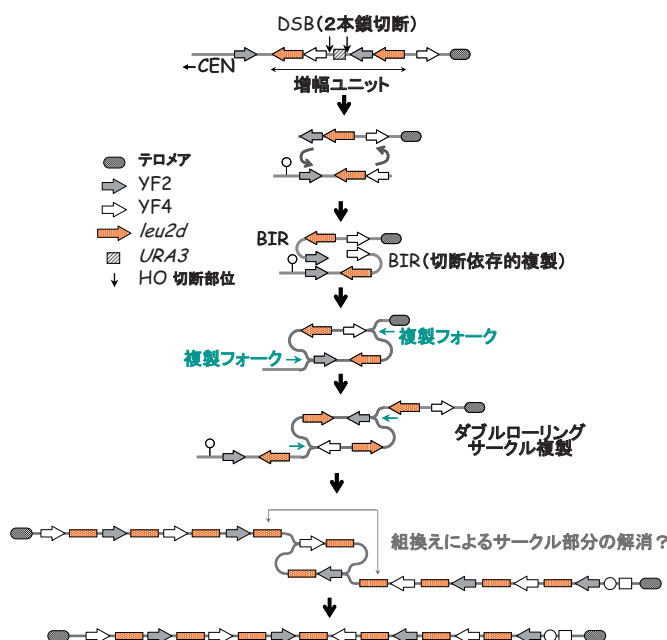


図 2 . 新しい高速遺伝子増幅システム

ダブルローリングサークル複製 (DRCR) による、高速遺伝子増幅システム。増幅ユニット内の 2 本鎖切断 (DSB: double strand break: 矢印) により DNA が陥った危機から、逃れるための反応 (BIR: break induced replication) により DRCR が誘導され、サークル部分 (白, 灰色, 赤矢印) のみが果てしなく複製を繰り返す、リビートとして両側に伸長していく。最終的にサークル部分が組換えで除かれ、高度に増幅された染色体ができる。

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 顕一
崔 泰林
AUSTEN, Ganley
大住 克史
芹澤 尚美

総合研究大学院大学院生
板津 昌子

事務支援員
三上由利子



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った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。

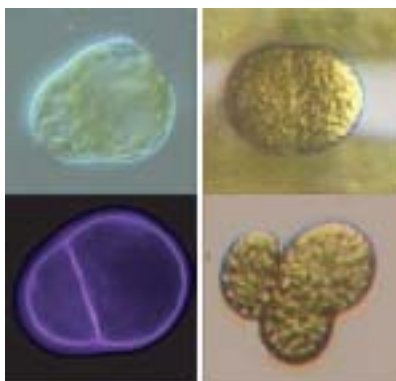


図 1. ヒメツリガネゴケプロトプラストの正常な不等分裂（左上。左下は細胞壁を染色してある）と異常を示すもの（右上、右下）

www.nibb.ac.jp/evodevo/

生物進化研究部門

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っていなかった。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製した微小管の分枝（上）と、微小管の分枝における γ -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っていない。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。

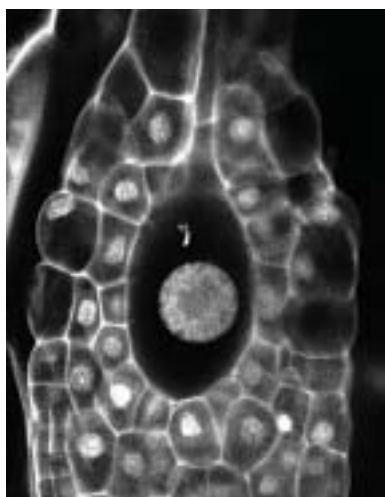


図3. ヒメツリガネゴケ *PpLEAFY* 遺伝子破壊体では、受精は起こるが受精卵の第一分裂が進行しない
元来細胞分裂全般を制御していた *PpLEAFY* 遺伝子が進化の過程で花器官形成に特殊化したらしい。図は造卵器内の卵と精子。

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った。

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、この誘導機構の改変が生殖的隔離へとつながる。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. Murata, T., Sonobe, S., Baskin, T.I., Hyodo, S., Hasezawa, S., Nagata, T., Horio, T., and Hasebe, M. (2005). Microtubules are nucleated on extant microtubules via gamma-tubulin in plant cortical arrays. *Nature Cell Biology*. 7, 961-968 (issue cover).
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.

STAFF



長谷部 光泰
教授



村田 隆
助教授



棚橋 貴子
助手



日渡 祐二
助手



青野 直樹
研究員

技術課技術職員
住川 直美

博士研究員
宮崎 さおり

総合研究大学院大学院生
橋本 薫
青山 剛士

特別共同利用研究員
森長 真一

技術支援員
市川 幸奈
長谷川 訓子
枅岡 朋子

事務支援員
小島 洋子



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ボ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連してきたのか考察を進めている。

参考文献

1. Sugawara, Y., Yeraï, Y., Imai, H., Turner, G. F., Koblmueller, S., Sturmbauer, C., Shichida, 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., 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

客員教授

（東京工業大学大学院 生命理工学研究科）



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

鈴木登貴子

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)の隙間にあ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と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。

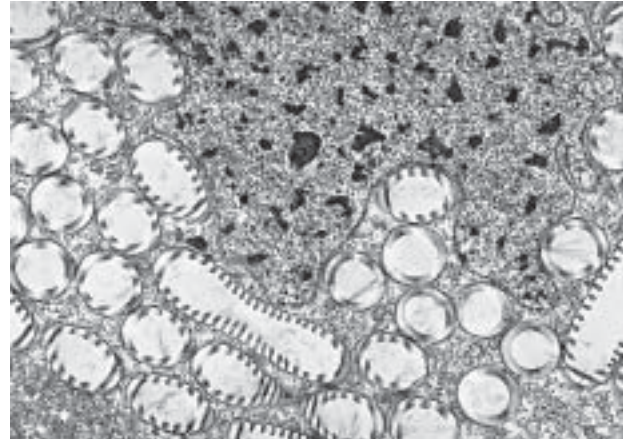


図1. トラキオール(毛細気管)細胞の透過型電子顕微鏡観察像
細胞内に既に形成されているトラキオールの断面が多数見える。細胞が移動するにつれて、その後ろにトラキオールが伸びていく。

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., Shimizu, H., Kodama, R., Hayashi, N., Miyata, S., Yanagawa, Y., Obata, K., and Noda, M. (2006). Sodium-level-sensitive sodium channel Nax is expressed in glial laminate processes in the sensory circumventricular organs. *Am. J. Physiol.* 290, R568-576

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。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すものや、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系系の発達はヒトの妊娠 3-4 ヶ月の胎児の生殖系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、不可逆的な膣上皮の角質化・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膣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膣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/

分子環境生物学研究部門

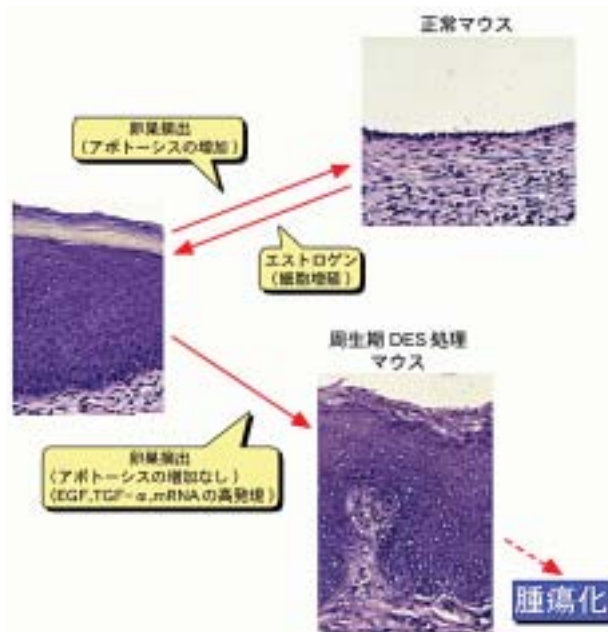


図 1. 周生期の DES 投与によって誘起される膣の不可逆的な変化
通常、卵巣を摘出すると、アポトーシスが増加するが、周生期に DES を投与されたマウスでは細胞増殖因子の mRNA 増加や、細胞壊死因子の発現の低下が誘導されるため、アポトーシスが起これなくなる。さらに ER 発現も低下している。これらの現象と腫瘍化の関連が注目されている。

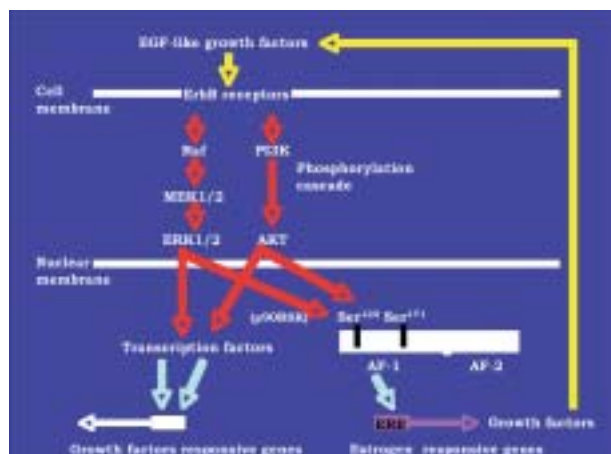


図 2. マウス膣におけるエストロゲン非依存的なエストロゲン受容体の活性化モデル

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。

は虫類の性分化、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ヨ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だしている。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類似物質の作用機構を解析するためには、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 5,6）。さらに、アメリカワニの胚を用

いて温度依存性の性分化機構の解析も進めている。

オオミジンコの性分化機構および化学物質の影響

水質汚染や化学物質の悪影響はオオミジンコの産仔数を用いて判定されている。経済協力開発機構 (OECD) などでも一般的に用いられている環境指標動物であるが、遺伝子情報は得られていない。化学物質の悪影響の作用機構を解析するためにオオミジンコの遺伝子情報を整理し、マイクロアレイを作成している（文献 7）。オオミジンコは単為生殖で雌が雌を産んで増殖するが、幼若ホルモン類似物質を暴露すると雄を産仔することを見出した（文献 8）。オオミジンコの性決定は卵形成の特定の時期に起こる。幼若ホルモンを用いて、オオミジンコの性分化機構の解明も進めている。

参考文献

1. Miyagawa, S., Katsu, Y., Watanabe, H., and Iguchi, T. (2004). Estrogen-independent activation of erbBs signaling and estrogen receptor α 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., Takahashi, E., Kobayashi, M., Goto, M., Krust, A., Chambon, P., and Iguchi, T. (2006). The estrogen-responsive adrenomedullin and receptor-modifying protein 3 gene identified by DNA microarray analysis are directly regulated by estrogen receptor. *J. Mol. Endocrinol.* 36, 81-89.
5. Katsu, Y., Bermudez, D.S., Braun, E., Helbing, C., Miyagawa, S., Gunderson, M., Kohno, S., Bryan, T., Guillelte, L., and Iguchi, T. (2004). Molecular cloning of the estrogen and progesterone receptors of the American alligator. *Gen. Comp. Endocrinol.* 136, 122-133.
6. Katsu, Y., Myburgh, J., Kohno, S., Swan, G.E., Guillelte, L.J. Jr., and Iguchi, T. (2006). Molecular cloning of estrogen receptor α of the Nile crocodile. *Comp. Biochem. Physiol., Part A*, 143, 340-346.
7. Watanabe, H., Tatarazako, N., Oda, S., Nishide, H., Uchiyama, I., Morita, M., and Iguchi, T. (2005). Analysis of expressed sequence tags of the water flea *Daphnia magna*. *Genome* 48, 606-609.
8. Tatarazako, N., Oda, S., Watanabe, H., Morita, M., and Iguchi, T. (2003). Juvenile hormone agonists affect the occurrence of male *Daphnia*. *Chemosphere* 53, 827-833.

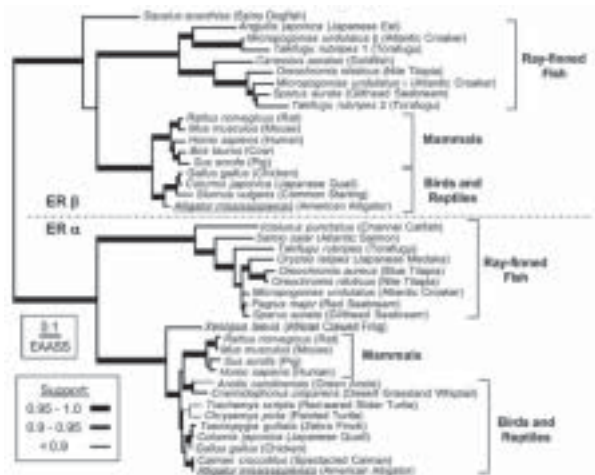


図 3. エストロゲン受容体遺伝子の進化系統樹

STAFF



井口 泰平
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

総合研究大学院大学院生

小林 未佳
永田恵美子
中村 武志

技術支援員

日名子 恵
高橋 絵里
小林 おおる

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。葉は植物の基本器官であり、花弁も葉の変形器官である。したがって、葉形態形成の仕組みを明らかにできれば、植物のかたち作りの仕組みは、多くが理解できることになる。また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、環境への可塑性を顕著に発揮する器官である。したがって葉形制御機構の解明は、植物の環境適応戦略の理解や多様性形成機構の解明にも必須である。

葉の形を制御する遺伝子

そこで私たちはシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heyn.) をモデルに選び、この問題の解明をめざしている。これまで発生遺伝学的解析の結果、葉形態を制御する遺伝子群を多数同定してきた (図1, 文献1)。また光や重力等の外部環境に対する可塑性に関する解析も併せて進めてきた。これらの知見は、葉形の基本制御系の理解のみならず、植物のボディプラン進化のメカニズムを知る上で、重要な手がかりである。

葉という器官の発生は、どのように制御されているのか

興味深いことに、葉の細胞数を減少させると、それを補償するかのように個々の細胞体積が増加する。私たちはこれを補償作用と命名し (文献2, 3)、その分子基盤の解明に取り組んでいる。本解析により、多細胞生物における器官レベルでの細胞統御システムが明らかになると期待される。

www.nibb.ac.jp/bioenv2/indexj.html

植物発生遺伝学研究部門

(客員部門)

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

上記の諸成果を踏まえ、自然界における葉形進化の遺伝子的な背景を明らかにすべく、エボデボ的な試みも始めている。また植物形態の多様性の理解のため、アジア各地域のフィールド調査を軸とした解析も行なっている。

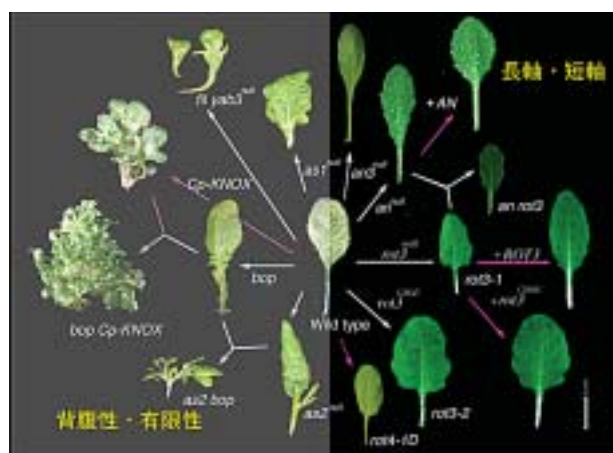


図1. シロイヌナズナの葉形を制御する遺伝子群とその形態的な作用
右半分に示される遺伝子群は、葉の縦あるいは横への極性伸長を制御する。左半分に示される遺伝子群は、葉の背腹性や形状の複雑さを司ると共に、葉原基における分裂組織を制御する。白矢印は、遺伝子の機能喪失を、紫の矢印は、遺伝子の人為的な構成発現を示す。

参考文献

1. Tsukaya, H. (2006). Mechanism of leaf shape determination. *Ann. Rev. Plant Biol.* 57, 477-496.
2. Tsukaya, H. (2002). Interpretation of mutants in leaf morphology: genetic evidence for a compensatory system in leaf morphogenesis that provides a new link between Cell and Organismal theory. *Int. Rev. Cytol.* 217, 1-39.
3. Tsukaya, H. (2003). Organ shape and size: a lesson from studies of leaf morphogenesis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 57-62.

STAFF



塚谷 裕一

客員教授

(東京大学大学院 理学系研究科)



堀口 吾朗

助手



石川 直子

研究員



FERJANI, Ali

研究員

博士研究員

矢野 寛士
山口 貴大
宇佐見 健

総合研究大学院大学院生

藤倉 潮

技術支援員

高部 恵理子
山口 千波
名倉 真子

事務支援員

小島 洋子

光情報研究部門 (客員部門)

植物の発生や生理現象を制御する光の作用(光形態形成)を研究している。最近では特にシダやシロイヌナズナを使って、葉緑体が光条件によって葉の細胞内を移動する現象(光定位運動)の意義とメカニズムの解明をめざしている。また遺伝子機能の解明に有効な技術としてDNAによるサイレンシングも研究している。

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て効率よく光を吸収し、強光下では、葉緑体は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、植物細胞には普遍的な現象であることから、植物にとっては重要な生理反応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、また光の強弱を感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。

光形態形成

植物は根を張って地に固定されているため環境が悪くなっても逃げ出すことはできない。そのため自分を取り巻く環境を光情報として感知し対応している。植物がその発生や生理現象の制御に光を情報として利用している現象を光形態形成と呼んでいる。我々は、光に敏感で発生過程が光によって制御されているシダの配偶体やコケ、遺伝子レベルの研究が容易なシロイヌナズナを使用して光形態形成の機構を解析している。現在はハウライシダ仮根の負の光屈性を解析している。

DNA 干渉 (DNAi)

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、シダではDNA断片によって遺伝子サイレンシングが起こることを発見し、今後利用しうる遺伝子機能解明の手法として技術の確立を行っている。

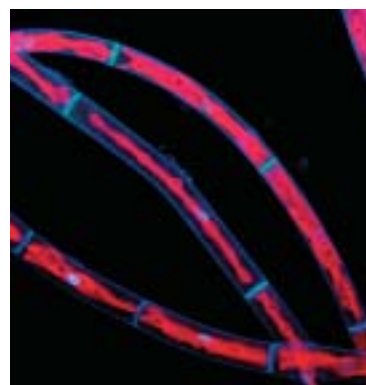


図 1. ヒザオリ
(*Mougeotia scalaris*)
多くのシダ植物には主に赤色光 / 遠赤色光を吸収するフィトクロムと青色光を吸収するフォトトリピンという2種類の光受容体が融合したキメラ光

受容体フィトクロム3 (phytochrome3) が存在し、シダが林床で生活するために重要な働きをしていると考えられる (Kawai et al, Nature 2003)。phytochrome3 と同じ構造をしているが全く別起源だと考えられるキメラ受容体 (neochrome) が最近緑藻のヒザオリで発見された (Suetsugu et al. PNAS 2005)。

参考文献

1. Kagawa, T., Sakai, T., Suetsugu, N., Oikawa, K., Ishiguro, S., Kato, T., Tabata, S., Okada, K., and Wada, M. (2001). Arabidopsis NPL1: A phototropin homologue controlling the chloroplast high-light avoidance response. *Science* 291, 2138-2141.
2. Kasahara, M., Kagawa, T., Oikawa, K., Suetsugu, N., Miyao, M., and Wada, M. (2002). Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. *Nature* 420, 829-832.
3. Kawai, H., Kanegae, T., Christensen, S., Kiyosue, T., Sato, S., Imaizumi, T., Kadota, A., and Wada, M. (2003). Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. *Nature* 421, 287-290.
4. Wada, M., Kagawa, T., and Sato, Y. (2003). Chloroplast movement. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54, 455-468.
5. Suetsugu, N., Mittmann, F., Wagner, G., Hughes, J., and Wada, M. (2005). A chimeric photoreceptor gene, NEOCHROME, has arisen twice during plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 13705-13709.

STAFF



和田 正三
特任教授



山内 大輔
客員助教授

(兵庫県立大学大学院 生命科学研究科)

特別訪問研究員
末次 憲之

博士研究員
山里 明弘
孔 三根

特別共同利用研究員
坪井 秀憲

技術支援員
高松 香
岩田 あゆみ
清水 峰子



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ったり、強い光を避けたりするのであるのか?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来たが、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リン酸(cAMP)を産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従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

光環境学研究室

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

1. 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.
2. 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.
3. 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, 727-731.

STAFF



渡辺 正勝

客員教授

(総合研究大学院大学 先端科学研究所)

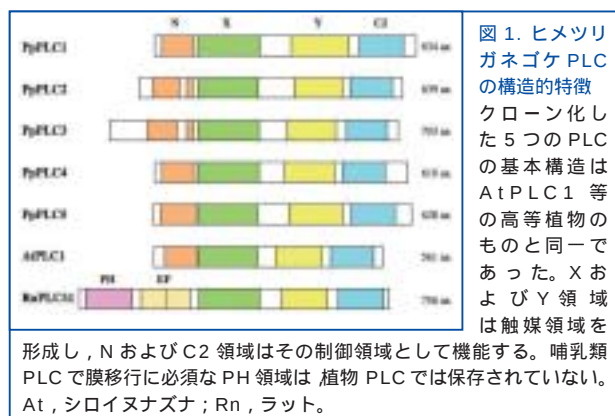
特別協力研究員
伊関 峰生
伊藤 慎治

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パーゼ 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。



植物 PLC の機能獲得プロセスの遺伝子進化的な解析

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要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。

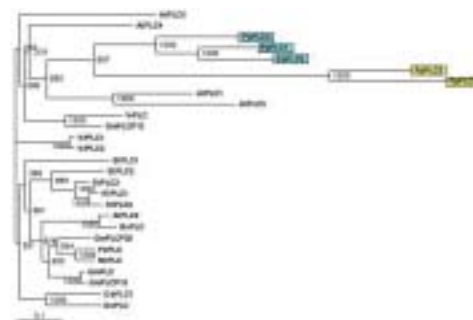


図 2. 植物 PLC の系統樹解析

ヒメツリガネゴケ PLC は PpPLC1, PpPLC4, PpPLC5 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

技術支援員
木下 知恵



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う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。

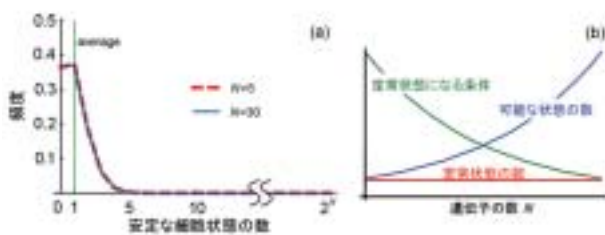


図1. 細胞状態の多様性は遺伝子数に依存しない

(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

www.nibb.ac.jp/math/

理論生物学研究部門

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。振動が起きる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., Yahara, K., Kobayashi, I., and Iwasa, Y. (2006). Genetic addition: selfish gene's strategy for symbiosis in the genome. *Genetics* 172, 1309-1323.
2. Mochizuki, A. (2005). An analytical study of the number of steady states in gene regulatory networks. *J. theor. Biol.* 236, 291-310.
3. Feugier, F. G., Mochizuki, A., and Iwasa, Y. (2005). Self-organization of the vascular system in plant leaves: Inter-dependent dynamics of auxin flux and carrier proteins. *J. theor. Biol.* 236, 366-375.
4. Fujita, H., and Mochizuki, A. (In Press). Pattern formation by the positive feedback regulation between flow of diffusible signal molecule and localization of its carrier. *J. theor. Biol.*
5. Takigawa-Imamura, H., and Mochizuki, A. (In Press). Transcriptional autoregulation by phosphorylated and non-phosphorylated KaiC in cyanobacterial circadian rhythms. *J. theor. Biol.*

STAFF



望月 敦史
助教授



藤田 浩徳
研究員

博士研究員
石原 秀至

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. 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 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 357, 1225-1240.
2. 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.
3. Uchiyama, I. (2003). MBGD: Microbial genome database for comparative analysis. *Nucleic Acids Res.* 31, 58-62.
4. 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.
5. Uchiyama, I. (2006). Hierarchical clustering algorithm for comprehensive orthologous-domain classification in multiple genomes. *Nucleic Acids Res.* 34, 647-658.

STAFF



内山 郁夫

助手

計算科学研究センター
基研電子計算機室担当

発生ダイナミクス研究部門 (客員部門)

細胞の中を動き回る生体分子の挙動を追跡しながら、ふと大洋を泳ぐクジラの群を思い起こす。クジラの回遊を人工衛星で追うアルゴシステムのことである。背びれに電波発信器を装着したクジラを海に戻す時、なんとかクジラが自分の種の群に戻ってくれることをスタッフは願う。今でこそ小型化された発信器だが昔はこれが大きかった。やっかいなものをぶら下げた奴と、仲間から警戒され村八分にされてしまう危険があった。クジラの回遊が潮の流れや餌となる小魚の群とどう関わっているのか、種の異なるクジラの群の間にどのような interaction があるのか。捕鯨の時代を超えて、人間は海の同胞の真の姿を理解しようと試みてきた。

ライブイメージング技術において、電波発信器の代わりに活躍するのが蛍光プローブである。生体分子の特定部位に蛍光プローブをラベルし細胞内に帰してやれば、外界の刺激に伴って生体分子が踊ったり走ったりする様子が実時間で可視化できる。蛍光は物理現象であるから、その特性を活かせば様々な情報を抽出できる。例えば、ある蛍光分子ドナー（エネルギー供与体）の励起エネルギーがアクセプター（エネルギー受容体）へ移動する現象（蛍光のエネルギー移動）は、ドナーとアクセプター間の距離および向きに依存するので、これを利用して生体分子間の相互作用や生体分子の構造変化を観ることができる。蛍光のエネルギー移動に限らず、蛍光の偏光、消光、退色、光異性化反応など、あらゆる特性が活用できる。

今生物学はポストゲノム時代に突入したと言われる。ポストゲノムプロジェクトを云々するに、より実際的な意味において、細胞内シグナル伝達系を記述するための同時観測可能なパラメータをどんどん増やす試みが重要である。細胞の心をつかむためのスパイ分子を我々は開発している。材料となるのは主に蛍光タンパク質である。自ら発色団を形成して蛍光活性を獲得するタンパク質である。遺伝子導入技術の進歩のおかげで、蛍光タンパク質を利用したスパイ分子がますます活躍している。我々はまた、新しい蛍光タンパク質を求めて、様々な生き物（主に刺胞動物）からのクローニングを行っている。狙いのひとつは、蛍光の様々な物理特性を、蛍光タンパク質から引き出して、新しいスタイルのイメージング技術を開発することだ。

超ミクロ決死隊を結成し、微小管の上をジェットコースターのように滑走したり、核移行シグナルの旗を掲げてクロマチンのジャングルに潜り込んだりして細胞の中をクルージングする、そんな adventurous な遊び心をもちたいと思う。大切なのは科学の力を総動員することと、想像力をたくまし

くすること。そして whale watching を楽しむような心のゆとりが serendipitous な発見を引き寄せるのだと信じている。

参考文献

1. Miyawaki, A. (2005). Innovations in the imaging of brain functions using fluorescent proteins. *Neuron* 48, 189-199, Review.
2. Miyawaki, A. (2003). Fluorescence imaging of physiological activity in complex systems using GFP-based probes. *Curr. Opin. Neurobiol.* 13, 591-596. Review.
3. Miyawaki, A., Nagai, T., and Mizuno, H. (2003). Mechanisms of protein fluorophore formation and engineering. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 7, 557-562, Review.
4. Miyawaki, A., Sawano, A., and Kogure, T. (2003). Lighting up cells: labelling proteins with fluorophores. *Nat. Cell Biol. Suppl.* S1-S7. Review.
5. Miyawaki, A. (2003). Visualization of the Spatial and Temporal Dynamics of Intracellular Signaling. *Developmental Cell* 4, 295-305, Review.

STAFF



宮脇 敦史

客員教授

(理化学研究所 脳科学総合研究センター)

時空間制御研究室

心 臓はなぜ体の左側にあるのか？という素朴な疑問に答えるのは意外と難しい。本研究室は今年1月に発足したばかりだが、発生において体の左右の区別が決まる瞬間に何が起きているか調べようとしている。またそのための顕微鏡技術開発を通して、発生学上のより幅広い問題にも取り組んでいきたいと考えている。

発生における左右初期決定

我々の体は外見上ほぼ左右対称だが、内臓配置を考えれば左右は明らかに非対称である。ではこの左右の区別はどうやって生じるのか。実は、繊毛が動かない先天性の病気の人には約半分の確率で左右反転した内臓配置（左右逆位）を持つことが古くから知られていて、繊毛と左右性にはなんらかの関係があると疑われていたが、その実体は長らく不明だった。

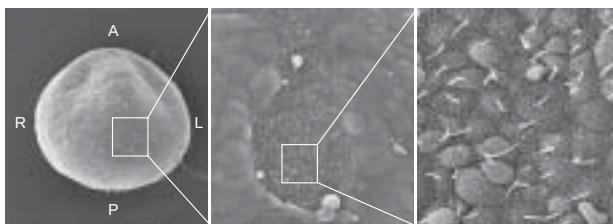


図1. マウス 7.5 日胚の走査電顕写真

(左) 胚の腹側表面。(中) ノード全体。数百個の細胞からなる窪んだ構造をとる。(右) ノード繊毛。各細胞から1本ずつの繊毛が生えている。

近年の研究から、哺乳類では胚腹側表面にあるノードという部位の繊毛が時計回りに回転して胚表面に左向き水流（ノード流）を作ることがわかった（参考文献1）。そして人工的にノード流の向きを変えると実際にその後の発生の左右も変わることから、たしかにノード流が左右を決めていることがわかった（参考文献2, 4）。さらに左向き水流ができる原因は繊毛運動の回転軸がノードの細胞表面に対して尾側に傾いているせいだとわかってきた（参考文献3）。つまりノードの細胞は自身の左右は知らないが、繊毛は回転の

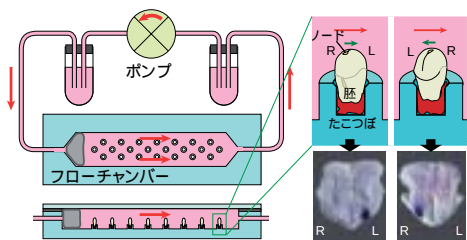


図2. 人工的に胚の左右を逆転させる実験

チャンパー内の「たこつば」に胚を固定し、一定方向の水流に曝す。ノード内の水流が右向きになるような条件下では、左側特異的な遺伝子 *nodal* が右側に発現し、心臓などの形態も左右逆転する。

キラリティと傾きという位置情報を使って左右の区別を生み出しているのである。

現在我々はノード流の作用機



構、すなわち物理的につくられた非対称が個体レベル、遺伝子レベルの左右非対称に変換される機構を調べようとしている。

マウス胚発生を見るための顕微鏡システム

本来は子宮内で進む哺乳類の発生を調べることは、他のモデル生物にくらべて独特の困難を伴う。我々はこの困難を克服するために、マウス初期胚を培養しながら長期間にわたってライブイメージングできる系を構築しようとしている。上に述べた左右性の研究に活用するほか、細胞系譜の追跡などさまざまな目的に応用していきたいと考えている。

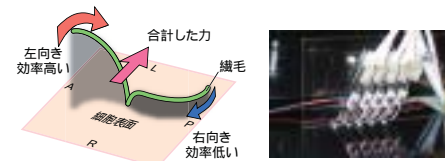


図3: ノード流の生成機構

(左) ノード繊毛の回転運動が左向きの力を発生するモデル。繊毛が細胞表面に近い軌道をとるときには水を掻く効率が低いために左右の差が発生する。(右) モデルを証明するための模型実験。

参考文献

1. Nonaka, S., Tanaka, Y., Okada, Y., Takeda, S., Harada, A., Kanai, Y., Kido, M., and Hirokawa, N. (1998). Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein. *Cell* 95, 829-837.
2. Nonaka, S., Shiratori, H., Saijoh, Y., and Hamada, H. (2002). Determination of left-right patterning of the mouse embryo by artificial nodal flow. *Nature* 418, 96-99.
3. Nonaka, S., Yoshida, S., Watanabe, D., Ikeuchi, S., Goto, T., Marshall, W. F., and Hamada, H. (2005). De novo formation of left-right asymmetry by posterior tilt of nodal cilia. *PLoS Biol* 3, e268.
4. 野中茂紀 (2002). 胚表面の水流が体の左右を決める 実験医学 20, 2347-2350.

STAFF



野中 茂紀
助教授



市川 壮彦
研究員

技術課技術職員
小林 弘子
事務支援員
神谷 朱美



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、2005年度に発足した。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



戦略室の様子

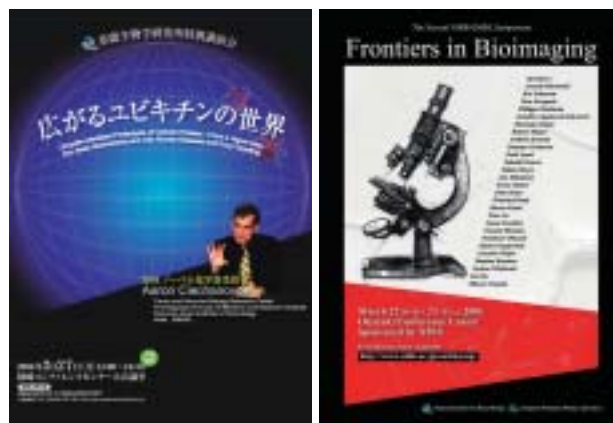


連携・広報企画運営戦略室

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。

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



2006年作製ポスター

STAFF



長濱 嘉孝
室長
(兼任)



上野 直人
室員
(兼任)



西村 幹夫
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
向田 恭世
太田 美咲
田中 愛
EMDE, Jason

受付・事務室

受付・事務室は、所外および所内からの問い合わせに対応し、受付窓口として来客対応、郵便物・宅配便の受取・発送を主な業務としている。さらに、人事情報管理の一環として、基生研アーカイブス作成のための資料収集とともに、電話番号簿・名札の作成、備品管理等を行っている。受付・事務室の業務は、西村幹夫担当主幹が統括している。

主な業務

1. 受付業務

来客対応、宅配便・郵便物の受取・発送、事務センターとの連絡便の授受

2. 人事管理

電話番号簿・玄関の名札・ネームプレート（機構採用以外）の作成、休暇簿の保管

3. 備品管理

物品使用簿（現「個別資産台帳」）・備品リストの保管

4. 情報収集

基生研アーカイブス作成のための資料収集、機構外への情報提供他

5. その他

各種事務手続きの書類・印刷物の管理、掲示物の管理、所内で行われる各種セミナーの対応



STAFF

事務支援員

片岡 ゆかり

都築 志保子

宇野 智子

近藤 優季絵

坂神 真理（所長秘書）



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並びにコンピュータ及び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：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、情報交換を行う。
3. 技術報告会：研究支援における幅広い高度な専門技術

techdiv.nibb.ac.jp

技 術 課

の習得を目的に、一年間の日常業務に関する技術課題について、成果をまとめ発表し、討論することにより、情報交換及び技術・知識の向上に努めている。

4. 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。
5. 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17年度は、平成18年2月16日～17日に、当研究所技術課主催の「第17回生物学技術研究会」と、生理学研究所技術課主催の「第28回生理学技術研究会」を合同開催した。全国35機関140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17号」と「生理学技術研究会報告第28号」の合併号として出版している。



第17回 生物学技術研究会（第28回生理学技術研究会と合同開催）

■ 技術課長



古川 和彦

■ 研究施設技術班



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



難波千営子
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



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
黒柳明日香

事務支援員

片岡ゆかり
都築志保子
宇野 智子
近藤優季絵
坂神 真理
市川 真理子

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機器・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、研究の能率化を計るための施設である。以下の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/Ispectro/



生命現象の光による調節の仕組みを解析するための世界最大・最高性能の分光照射装置であり、世界の研究者に対して開かれた共同利用設備である。毎年、(1) 光情報による細胞機能の制御、(2) 光エネルギー変換、(3) 生物における空間認識・明暗認識、(4) 紫外線による生体機能損傷と光回復、の4テーマに関し共同利用実験を公募している（平成17年度は19件が採択され、そのうち3件は外国人研究者による研究である）。平成14年度の「高度化」により、導入したレーザー照射システムや2光子顕微鏡等は稼働を開始している。

STAFF

客員教授
(総合研究大学院大学 先端科学研究科)
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



大型スペクトログラフ照射室

細胞器官培養室



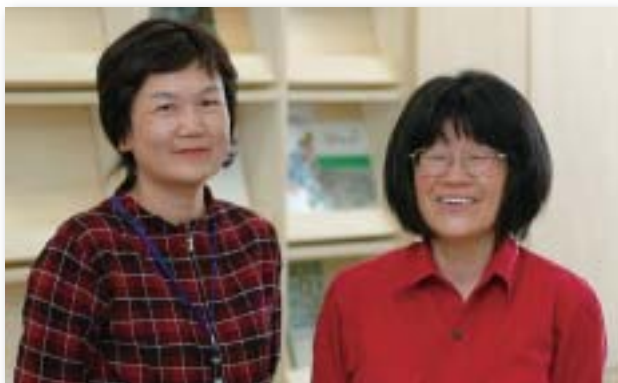
単細胞生物から多細胞生物までの細胞・組織・器官等を種々の物理的（光・温度）、化学的（ガスの組成）環境条件のもとで培養する。さらに、遺伝子解析システムを用いての遺伝子のクローニングや構造解析、またP3レベルの遺伝子組換え実験室では大腸菌を宿主とする組換え実験をはじめ、ウィルスの分離及び動物細胞への外来遺伝子導入などの実験が行われている。

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、順調に稼働している。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室のファイトトロン、4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 恵子

技術支援員
鈴木 恵子

電子計算機室

www.nibb.ac.jp/cproom/



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



図 1 哺育中の母親マウス

飼育施設が稼働し、遺伝子操作マウスの開発・解析・系統保存が進められてきている。平成 15 年度には専任の助教授 2 名が新たに

着任し、技術職員・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/

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。

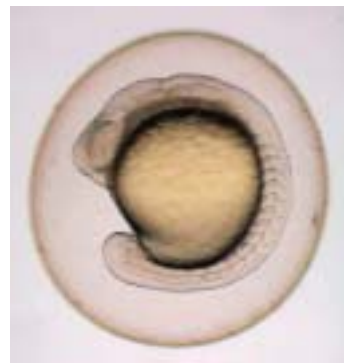


図 2 ゼブラフィッシュの胚

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のように、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出ない構造になっている。また効率的な飼育が可能のように、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小型魚類・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形態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

技術支援員

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

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 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、病虫害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、活動を広げてきた。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ま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。

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。特に近年では、生体分子の制御ネットワークの構造とそこに由来するダイナミクスの特徴に焦点を置いた研究交流を行っている。2004年度に、第50回 NIBB Conference として「Structure and Dynamics of Complex Biological Networks」をテーマとした国際研究集会を行い、その1年後に「ネットワークの構造とダイナミクス」と題した研究集会を行うことで、議論の継続的発展を進めている。



クラスターマシン

STAFF

助教授

望月 敦史

事務支援員

梅林 弘美

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現在3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

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、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。

www.nibb.ac.jp/ricenter/

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：

^3H , ^{14}C , ^{28}Mg , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{36}Cl ,
 ^{42}K , ^{45}Ca , ^{89}Sr , ^{125}I

形質統御棟 RI 室：

^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{45}Ca , ^{125}I

山手地区実験施設

^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{125}I

平成 17 年度の放射線業務従事者数は明大寺地区実験施設 72 名、山手地区実験施設 49 名、延べ施設利用者数は明大寺地区実験施設 3044 名、山手地区実験施設 1806 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/

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の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、定量および分離・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

質量分析装置 (MS) および電子スピン共鳴装置 (ESR) 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 はプロテオーム解析などに活用されている。



MALDI/TOF-MS

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、マイクロプレートリーダー、マイクロプレートルミノメータ等、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

1. Pfister, T.D., Ohki, T., Ueno, T., Hara, I., Adachi, S., Makino, Y., Ueyama, N., Yi Lu, and Watanabe, Y. (2005). Monooxygenation of an aromatic ring by F43W/H64D/V68I myoglobin mutant and hydrogen peroxide. *J.Biol.Chem.* 280, 12858-12866.
2. Fujita, S., Iseki, M., Yoshikawa, S., Makino, Y., Watanabe, M., Motomura, T., Kawai, H., and Murakami, A. (2005). Identification and characterization of a fluorescent flagellar protein from the brown alga *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyceae): A flavoprotein homologous to Old Yellow Enzyme. *Eur.J.Phycol.* 40, 159-167.

STAFF

技術課技術職員
森 友子
牧野由美子
高見 重美

技術支援員
森部 初美
黒柳明日香

事務支援員
市川真理子

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

www.nibb.ac.jp/haikibutsu/

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 17 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 4,200L の濃厚廃液及び 20 箱（20Kg/箱）の感染性廃棄物及び有害固形物を回収し，処理を廃棄物処理業者に委託した。



実験洗浄廃水処理施設

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



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。

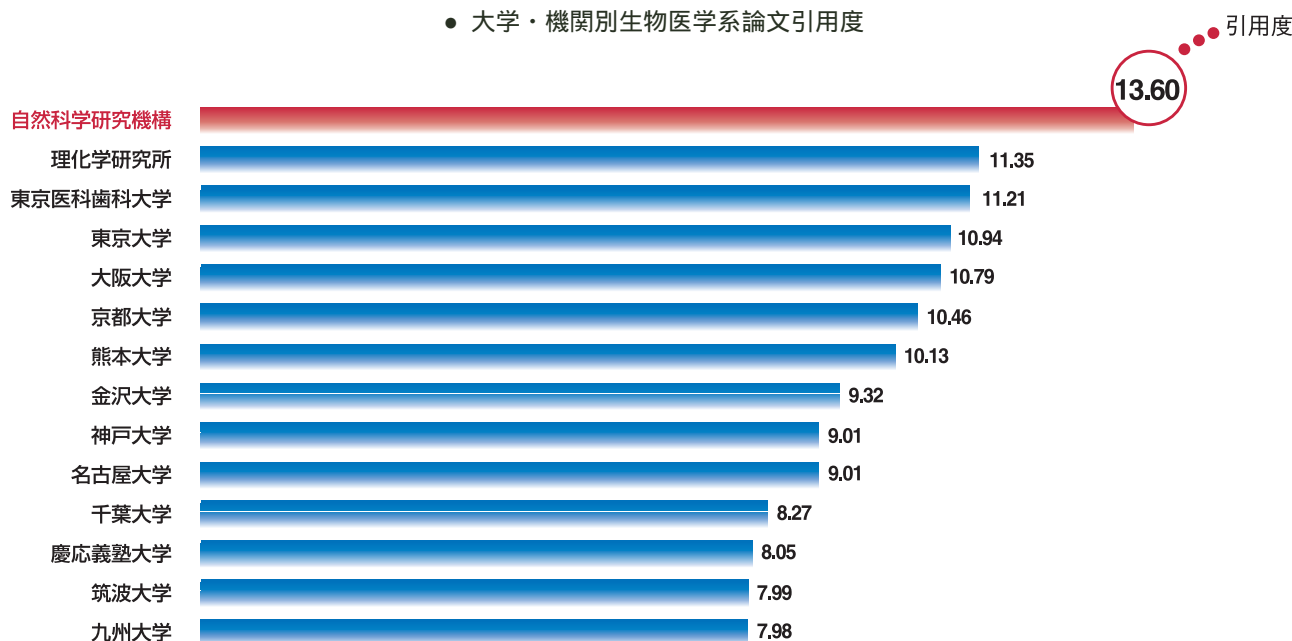
基礎生物学研究所の素晴らしい研究環境

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

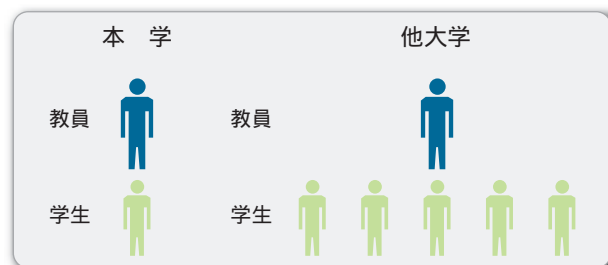


ISI NCR for Japan(1981-2002)に対する根岸の調査

基礎生物学専攻での大学院生活

少数精鋭の大学院教育

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2.0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42名に対して教員数が57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6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17年度学位授与者(修了者)の進路

研究所等の博士研究員	2名
大学の博士研究員	1名
外国の大学の講師	1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/> および基礎生物学研究所ホームページ <http://www.nibb.ac.jp/univ/> 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行っている。

■ 平成18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
横山 智哉子	大阪市立大学大学院・工学研究科・化学生物系	モノクローナル抗体を用いた生殖腺形成機構の解析
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
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
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 Arx の機能解明
坪井 秀憲	首都大学東京大学院・理学研究科・生物科学	植物の光反応における信号伝達の解析
山田 健二	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関連遺伝子のエピジェネティック制御とその改変
黒川 紘美	北海道大学大学院・理学研究科・生物科学	性分化分子機構に関わる因子の探索
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
中村 修平	北海道大学大学院・理学研究科・生物科学	生殖腺形成過程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
森長 真一	東北大学大学院・生命科学研究所・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
山内 卓樹	千葉大学大学院・自然科学研究科・多様性科学	イネ DNA メチル化関連遺伝子ノックイン変異体の機能解析

第 3 回 生物学国際高等コンファレンス (OBC)

The Biology of Extinction 2 「絶滅の生物学 2」

開 催 期 間
オーガナイザー

2006 年 3 月 12 日 ~ 17 日

九州大学

矢原 徹一

York 大学

Callum Roberts

絶滅は 種の多様化とともに 地球上の生物多様性のパターンを形成してきたプロセスである。一方で 人類の活動によって、地球上から急速に種が失われているので、絶滅の研究は、基礎的にも応用的にも重要な課題である。この問題意識から、「絶滅の生物学」に関する最初の会議が、2 年前に行なわれた。今回は、2 年前の参加者から主要なメンバー（外国人 9 名、日本人 5 名）を講演者として再招待し、さらに 10 名の招待講演者を加えて実施した。8 つのセッションの下で、どのような性質を持つ種が絶滅しやすいか、絶滅と種分化の関連によって多様性のパターンがどのように決まるか、温暖化は絶滅をどのように促進するか、人間の心理的特性は絶滅にどのように影響するか、などのテーマに関して、Nature や

Science などに印刷中の成果を含む、きわめて刺激に富む報告があり、活発な討論が行われた。最後に「絶滅の生物学」の体系化に関する



総合討論を行なった。参加者が、新しい分野の誕生に立ち会っているという興奮を共有して、会議を終えることができた。

招待講演者

ARAUJO, Miguel	(National Museum of Natural Sciences, Spain)	石濱 史子	(国立環境研究所)
BIELBY, Jon	(Imperial College London, UK)	巖佐 庸	(九州大学)
BRADSHAW, Corey	(Charles Darwin University, Australia)	太田 英利	(琉球大学)
BROOK, Barry	(Charles Darwin University, Australia)	工藤 岳	(北海道大学)
CALEY, Julian	(AIMS, Australia)	高川 晋一	(東京大学)
COURCHAMP, Franck	(CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique), France)	竹中 明夫	(国立環境研究所)
DUFFY, David	(University of Hawaii Manoa, USA)	田中 嘉成	(中央大学)
FRANKHAM, Richard	(Macquarie University, Australia)	時田 恵一郎	(大阪大学)
GOLDBERG, Emma	(University of California, San Diego, USA)	富松 裕	(東京都立大学)
HALLEY, John	(Aristotle University of Thessaloniki, Greece)	中澤 幸	(九州大学)
HAMER, Keith	(University of Leeds, UK)	夏原 由博	(大阪府立大学)
HANSKI, Ilkka	(University of Helsinki, Finland)	箱山 洋	(水産総合研究センター)
HARRISON, Ian	(American Museum of Natural History, USA)	藤田 卓	(九州大学)
HASTINGS, Alan	(University of California, Davis, USA)	牧 (増田) 理子	(名古屋工業大学)
HUME, Julian	(Natural History Museum, Tring/University of Portsmouth, UK)	松田 裕之	(横浜国立大学)
JACKSON, Jeremy	(University of California, San Diego, USA)	矢原 徹一	(九州大学)
JETZ, Walter	(University of California, San Diego, USA)	横溝 裕行	(九州大学)
JOHANSSON, Jacob	(Lund University, Sweden)	鷺谷 いづみ	(東京大学)
KOH, Lian Pin	(Princeton University, USA)		
LANDE, Russell	(University of California, San Diego, USA)		
MARTINEZ-MEYER, Enrique	(Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexico)		
NILSSON, Jennie	(Lund University, Sweden)		
OLSON, Storrs	(Smithsonian Institution, National Museum of Natural History, USA)		
ORME, David	(Imperial College London, UK)		
PURVIS, Andy	(Imperial College London, UK)		
RIPA, Jorgen	(Lund University, Sweden)		
SALA, Enric	(Center for Marine Biodiversity and Conservation, USA)		
SEKERCIOGLU, Cagan	(Stanford University, Center for Conservation Biology, USA)		
SHAFFER, H. Bradley	(University of California, Davis, USA)		
SODHI, Navjot	(National University of Singapore, Singapore)		
STIASSNY, Melanie	(American Museum of Natural History, USA)		
VIE, Jean-Christophe	(IUCN - The World Conservation Union, Switzerland)		
WILMERS, Christopher	(University of California, Davis, USA)		

第 51 回基礎生物学研究所コンファレンス

「遺伝子増幅研究の新展開」

New Aspect of Gene Amplification

開催期間	2005 年 11 月 5 日 ~ 8 日
オーガナイザー	基礎生物学研究所 小林 武彦

遺伝子増幅とは、遺伝子の数が増えてその産物であるタンパク質の生産量を増やす現象で、生物の環境適応の主要な手段となっている。また進化的には増幅遺伝子が様々に変化して、種の多様性を産み出す原動力となってきたと考えられている。我々自身に目を向けると、癌遺伝子の増幅は癌の悪性化を加速し、その治療に用いられる薬剤（制癌剤）は、時に薬剤耐性遺伝子の増幅によりその効果が妨げられる。このように遺伝子増幅は生物の持つ基本的な作用の一つであり、また利用価値のある重要な研究テーマである。しかし残念なことに、これまでそのメカニズムを包括的に議論する機会はまだ多くはなかった。これは増幅研究の技術的な難しさに加え、人的な交流が少なかったことも原因と考えられる。本コンファレンスでは進化学から医学まで、各分野に分散していた増幅研究者を一堂に集め（海外からも 11 名の研究者をお呼びした）、増幅研究の新展開を目指し開催された。会議では主に遺伝子増幅の共通の機構と考えられる DNA 複製と、その増えた遺伝子をゲノム上に保持するための DNA 組換え機構を中心に各人最新のデータを持ち寄り、情報、意見の交換、今後の戦略について話し合った。

招待講演者

ARCANGIOLI, Benoit	(Institut Pasteur, France)
BENSIMON, Aaron	(Institut Pasteur, France)
DEBATISSE, Michelle	(Institut Curie, France)
HERNANDEZ, Pablo	(CSIC, Spain)
LOVACHEV, Kirill S.	(Georgia Institute of Tech, USA)
ROTH, John	(UC Davis, USA)
SCHBVARTZMAN, Jorge B.	(CSIC, Spain)
SHORE, David	(Univ. of Geneva, Switzerland)
SOGO, Jose M.	(Institute of Cell Biology, Switzerland)
STRUNNIKOV, Alexander V.	(NIH, NICHD, USA)
TOWER, John	(USC, USA)
岩崎 博史	(横浜市立大学)
GANLEY, Austen	(基礎生物学研究所)
菊池 韶彦	(名古屋大学)
小林 武彦	(基礎生物学研究所)
佐々木 博己	(国立がんセンター研究所)
柴田 武彦	(理化学研究所)
清水 典明	(広島大学)
菱田 卓	(大阪大学)
堀内 嵩	(基礎生物学研究所)
真木 寿治	(奈良先端科学技術大学院大学)

第 52 回基礎生物学研究所コンファレンス

「生殖の戦略」

Reproductive Strategies

開催期間	2006 年 1 月 20 日 ~ 23 日
オーガナイザー	慶応義塾大学 星 元紀

生殖すなわち子孫を作ること、いかにも生きているという感じを与える生物現象ですが、「種」の存続に欠くことのできないものであり、生命がその誕生以来今日に至るまでの 38 億年間、連綿と絶えることなく続きえたのも、生殖という能力があつてのことです。ヒトをはじめとする哺乳類は、生殖と性（種内で遺伝子を混ぜ合わせる仕組み）とが不可分に結びついた有性生殖のみを行い、雌雄も個体ごとに固定されています。しかし、生物の世界は実に多彩で、性と全く関係ない生殖（無性生殖）だけをするもの、状況に応じて無性生殖と有性生殖を使い分けるもの、性の転換を行うものなど、実にさまざまな生殖戦略がみられます。この会議では、分子生物学の歴史に名を残す大長老から大学院生までが一堂に会して、性は何故あるのかから始まって、どのような生殖戦略があり、それらはどのようにして進化したのか、その生物学的意味はなにかなど、性と生殖に関わる多くの問題をめぐって激しい議論を交わしました。研究者としての切磋琢磨の機会であるとともに、年齢や国籍を超えた友好の輪が広がった 4 日間でした。

招待講演者

BIRKHEAD, Tim R.	(The University of Sheffield, UK)
WAKE, Marvilee H.	(University of California Berkeley, USA)
MESELSON, Matthew	(Harvard University, USA)
DARSZON, Alberto	(Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexico)
DORRESTEIJN, Adriaan	(Justus-Liebig-Universität Giessen, Germany)
EPEL, David	(Stanford University, USA)
EXTAVOUR, Cassandra	(University of Cambridge, UK)
HEINZE, Juergen	(University of Regensburg, Germany)
HEYLAND, Andreas	(The Whitney Laboratory for Marine Sciences, USA)
JOLY, Dominique	(CNRS, France)
MICHIELS, Nico	(University Tuebingen, Germany)
NIELSEN, Claus	(University of Copenhagen, Denmark)
NORMARK, Benjamin	(University of Massachusetts, USA)
OLSSON, Mats	(University of Wollongong, Australia)
PRUITT, Robert E.	(Purdue University, USA)
SCHARER, Lukas	(University of Innsbruck, Austria)
STEWART, James R.	(East Tennessee State University, USA)
VACQUIER, Victor D.	(University of California San Diego, USA)
相垣 敏郎	(東京立大学)
安部 真一	(熊本大学)
石川 冬木	(京都大学)
石野 史敏	(東京医科歯科大学)
稲葉 一男	(つくば大学)
巖佐 庸	(九州大学)
岡部 勝	(大阪大学)
角谷 徹仁	(国立遺伝学研究所)
岸本 健雄	(東京工業大学)
黒岩 麻里	(北海道大学)
小林 一三	(東京大学)
小林 一也	(慶應義塾大学)
小林 悟	(基礎生物学研究所)
澤田 均	(名古屋大学)
砂長 毅	(高知大学)
高橋 淑子	(奈良先端科学技術大学院大学)
立花 和則	(東京工業大学)
長濱 嘉孝	(基礎生物学研究所)
野瀬 俊明	(三菱化学生命科学研究所)
長谷部 光泰	(基礎生物学研究所)
星 元紀	(慶應義塾大学)
松居 靖久	(東北大学)
毛利 秀雄	(基礎生物学研究所名誉教授)
諸橋 憲一郎	(基礎生物学研究所)
山本 正幸	(東京大学)

自然科学研究機構は 2005 年 7 月に EMBL (=European Molecular Biology Laboratory, 欧州分子生物学研究所) との間に, 5 年間の学術交流協定を締結しました。基礎生物学研究所と EMBL の共同研究は, その中核を成すもので, パイオイメージング, 構造生物学, エピジェネティクスを中心とする生物学の重要な, 先端的課題の研究を推進するため, 共同研究, 合同シンポジウム開催, 研究者交流を行うものです。この 5 年間の共同研究を通して, EMBL のもつ分子生物学における最先端技術と基礎生物学研究所のもつ独創的な生物学の融合によって, 生物学に新しい展望が開かれることが期待されます。現在までに実施した主な活動は以下の通りです。

EMBL-NIBB 合同シンポジウム

- 発生生物学シンポジウム (Heidelberg, Germany)
2005 年 7 月 1 - 2 日
- Frontiers in Bioimaging シンポジウム (岡崎)
2006 年 3 月 22-23 日 (右欄参照)
- マウスの生物学ミーティング (Monterotondo, Italy)
2006 年 4 月 19 - 20 日

EMBL ゲストセミナー

- Dr. Thorsten Henrich (2005 年 10 月 26 日)
- Dr. Jochen Wittbrodt (2005 年 11 月 8 日)
- Dr. Anne Ephrussi (2006 年 4 月 12 日)

EMBL との共同研究

- 田中実、齋藤大助 (生殖遺伝学研究室)
SPIM 顕微鏡を用いたメダカ胚における特定細胞系列観察
2005 年 10 月 8 - 22 日



図 1 発生生物学
シンポジウム
(2005.7.1-2)



図 2 Frontiers in Bioimaging シンポジウム (2006.3.22-23)

EMBL-NIBB 合同シンポジウム

Frontiers in Bioimaging

開催期間	2006 年 3 月 22 日 ~ 23 日
オーガナイザー	基礎生物学研究所 上野 直人 EMBL Jan Ellenberg

EMBL との共同研究の柱の 1 つパイオイメージングをテーマとして, 2 日間の講演, ポスター発表が行われた。講演者は外国人 16 名 (うち EMBL からは 5 名), 日本人講演者 10 名 (うち基生研関係者 4 名) だった。全体的に見て非常にレベルの高い発表の連続で, 密度の濃い 2 日間だった。とくに, EMBL からの発表は目を見張るものばかりで, そのレベルの高さに圧倒された。SPIM 顕微鏡による観察やその画像解析技術も一段と進歩していると感じた。また, Jan Ellenberg 博士による, 細胞形態を指標にした細胞分裂制御遺伝子の系統的・網羅的スクリーニング (MitoCheck プロジェクト <http://www.mitocheck.org/>) に関する発表も圧巻であった。あるひとつの研究目的のために, 各国の研究者が集結し, 予算措置ができるヨーロッパ共同体の底力を感じた。また, もう一つ感じたことは, 「データプロセッシング」の重要性である。観察技術の向上も研究発展に不可欠であるが, そのイメージデータを処理し, 生物学的意味を抽出するためにはさまざまなデータ処理が必要である。EMBL がこのような高いレベルのイメージング研究を展開できるのも数テラバイトを扱うデータプロセッシングチームの支援があるからであり, そのような支援体制は基生研におけるイメージング研究にも不可欠であるということを再認識した。

招待講演者

BASTIAENS, Philippe I.	(European Molecular Biology Laboratory, Germany)
BRUNNER, Damian	(European Molecular Biology Laboratory, Germany)
DENK, Winfried	(Max-Planck Institute for Medical Research, Germany)
ELLENBERG, Jan	(European Molecular Biology Laboratory, Germany)
ISSAD, Tarik	(CNRS, Université René Descartes Paris 5, France)
JOHNSON, Kai	(Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Switzerland)
KERPPOLA, Tom K.	(University of Michigan and Howard Hughes Medical Institute, USA)
LIPPINCOTT-SCHWARTZ, Jennifer A.	(National Institutes of Health, USA)
MEYER, Tobias	(Stanford University School of Medicine, USA)
SEDAT, John W.	(University of California, San Francisco, USA)
SINGER, Robert H.	(Albert Einstein College of Medicine, USA)
SO, Peter T.C.	(Massachusetts Institute of Technology, USA)
STELZER, Ernst H.K.	(European Molecular Biology Laboratory, Germany)
SWEDLOW, Jason	(University of Dundee, UK)
WEIJER, Cornelis J.	(University of Dundee, UK)
WITTBRODT, Joachim	(European Molecular Biology Laboratory, Germany)
伊藤 啓	(東京大学)
大隅 良典	(基礎生物学研究所)
小澤 岳明	(分子科学研究所)
河西 春郎	(東京大学)
金城 政孝	(北海道大学)
梶見 明弘	(京都大学)
田中 実	(基礎生物学研究所)
寺川 進	(浜松医科大学)
平岡 泰	(関西先端研究センター)
宮脇 敦史	(理化学研究所)

研究会

研究課題	提案代表者名・所属
大脳皮質の発生と細胞構築	山本 亘彦 大阪大学大学院生命機能研究科
小型魚類のさらなる発展を求めて	田中 実 自然科学研究機構基礎生物学研究所
第42回ヒマラヤ植物研究会	塚谷 裕一 東京大学大学院理学系研究科
植物の分裂組織 = その研究の盲点と残された課題 =	塚谷 裕一 自然科学研究機構基礎生物学研究所
ヒマラヤ・日華植物区 - 植物相・植生の比較解析 -	塚谷 裕一 自然科学研究機構岡山統合バイオサイエンスセンター

個別共同利用研究

研究課題	提案代表者名・所属
高等植物オルガネラの分裂融合と環境応答	堤 伸浩 東京大学大学院農学生命科学研究科
アントシアニン蓄積細胞の液胞内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
多色蛍光レポーターによる植物の気孔形成に関与するタンパク質の局在解析	中川 強 島根大学総合科学研究支援センター
酵母ベキソファジーにおける新生膜合成機構と生理的意義	阪井 康能 京都大学大学院農学研究科
ヒト生殖腺刺激ホルモン (GSS) の分泌および作用機構	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
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
生殖腺組織構築過程における体細胞性分化の3次元解析	小林 亨 (独)水産総合研究センター養殖研究所
魚類排卵後濾胞に発現する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科
鳥類の生殖腺の性分化機構の解析	吉岡 秀文 兵庫教育大学学校教育学部
トランスジェニックカエルを用いた両生類における遺伝子ノックダウン法の確立	酒巻 和弘 京都大学大学院生命科学研究科
金魚再生分子を用いた哺乳類神経再生への応用	加藤 聖 金沢大学大学院医学系研究科
体液 Na 濃度調節における Nax channel 及び Ptpz の役割	宮田 清司 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科
シンタキシンノックアウトマウスの学習行動	赤川 公朗 杏林大学医学部
ラット、サル大脳皮質の錐体細胞に発現する voltage-gated ion channel の検索: 周嗅皮質に存在する late spiking neuron に注目して	一戸 紀孝 (独)理化学研究所脳科学総合研究センター
ヒメツリガネゴケの電位依存性カルシウムチャネルの単離と機能解析に関する研究	朽津 和幸 東京理科大学理工学部
陸上植物起源における転写制御遺伝子の分子進化	伊藤 元己 東京大学大学院総合文化研究科
ミカツキモの有性生殖機構の分子生物学的解析	関本 弘之 日本女子大学理学部
マウス雌性生殖腺附属器官の分化機構と性ホルモン投与による影響	佐藤 友美 横浜市立大学大学院総合理科学研究科
藻類の光運動反応に関わるフラビンタンパク質の構造と機能の解析	村上 明男 神戸大学内海環境教育研究センター
ホヤ精子鞭毛の分子構築と分子運動調節機構の解明	稲葉 一男 筑波大学大学院生命環境科学研究科
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
両生類エストロゲン受容体転写活性の種間における比較解析	高瀬 稔 広島大学大学院理学研究科
子宮内膜細胞における発情ホルモン応答性遺伝子の機能	高橋 純夫 岡山大学理学部
トランスジェニックカエルを用いた Fgf10 発現調節機構の解析	黒岩 厚 名古屋大学大学院理学研究科
生殖腺に関するメダカ突然変異体の解析	近藤 寿人 大阪大学大学院生命機能研究科
周生期に投与した内分泌かく乱物質のげっ歯類生殖管系への持続的影響	太田 康彦 鳥取大学農学部
ヒメツリガネゴケ KNOX クラス 2 遺伝子の解析	出口 博則 広島大学大学院理学研究科
女性生殖器の腫瘍形成における遺伝学発現の解析	山田 源 熊本大学生命資源研究・支援センター
新規液胞アミノ酸トランスポーター遺伝子の同定とその生理機能解析	柿沼 喜己 愛媛大学農学部
ヒメツリガネゴケの発現プロファイル解析と他種との比較による、世代交代進化の解明	西山 智明 金沢大学学際科学実験センター
Atg 蛋白質の結晶構造解析	稲垣 冬彦 北海道大学大学院薬学研究科
シベリンシグナル伝達因子, GAMYB 欠損変異体イネにおける薬タペタム細胞の形態変化とその機構について	松岡 信 名古屋大学生物機能開発利用研究センター

食虫植物の消化酵素遺伝子の起源と進化	鶴澤 武俊 大阪教育大学教育学部
ヒメツリガネゴケ不等分裂関連タンパク質の可視化形質転換体植物の作成とその動態解析	藤田 知道 北海道大学大学院理学研究科
エチレン受容体の細胞内局在に関する研究	江面 浩 筑波大学大学院生命環境科学研究科
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
シロイヌナズナに生存する異なる2つのタイプのプラスチド糖脂質合成酵素の機能解析	太田 啓之 東京工業大学大学院生命理工学研究科
分裂酵母のアンモニウムトランスポーターの解析	光澤 浩 日本大学生物資源科学部

重点共同利用研究

研究課題	提案代表者名・所属
霊長類の神経系における遺伝子発現制御メカニズムのレンチウイルスベクターによる解析に関する研究	北村 義浩 東京大学医学研究所
高等植物の個体制御の分子機構	寺島 一郎 大阪大学大学院理学研究科

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
単細胞緑藻クラミドモナスにおける新たな集光性クロロフィルタンパク質類縁遺伝子の発現の作用スペクトル	小野 高明 (独)理化学研究所フォトダイナミクス研究センター
好熱性ラン藻 <i>Thermosynechococcus elongatus</i> の走光性に関する研究	眞鍋 勝司 横浜市立大学大学院総合理学研究科
ポリマーフィルムの光劣化に対する紫外線波長の影響	大石不二夫 神奈川大学理学部
全天候型太陽 UV-B 計測器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
紫外線照射による CPD photolyase の活性阻害の波長依存性に関する研究	竹内 裕一 北海道東海大学工学部
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	池畑 広伸 東北大学大学院医学系研究科
ラン藻の光運動反応に及ぼす青色光、緑色光の影響	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
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・波長ごとの解析	森田 明理 名古屋市立大学大学院医学研究科
太陽光紫外線単独あるいは化学物質共存下での 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 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
可視光の大腸菌生存に対する影響	大津 浩 東北大学大学院工学研究科
ユーグレナの周期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
ネナシカズラの茎先端部へのレーザー光局所照射による細胞分裂と寄生根の誘導	山田 恭司 富山大学大学院理工学研究部
Determining the action spectrum of phototaxis in diatoms and identification of the photoreceptors involved	Chris Bowler Laboratory of Molecular Plant Biology, Stazione Zoologica
Establishing the reciprocity rule in polymer photodegradation	Anthony L. Andrady Research Triangle Institute
マウス脳組織内における GFP 発現細胞の観察	檜山 武史 自然科学研究機構 基礎生物学研究所
植物における B 領域紫外線による光回復酵素遺伝子の転写誘導に関する研究	中嶋 信美 (独)国立環境研究所
真性粘菌 <i>Physarum</i> 変形体における負の走光性と正 & 負の走化性の情報統合機構	高木 清二 北海道大学電子科学研究科
ストレプトカルプス属の異型子葉形成における光制御の作用スペクトルと光受容部位の研究	長田 敏行 東京大学
ショウジョウバエを用いた、低次視覚中枢と高次視覚中枢を結ぶ視覚情報経路の網羅的解析	伊藤 啓 東京大学分子細胞生物学研究所

基生研セミナー

1 加藤 和人 (京都大学人文科学研究所)	4 中島 睦子 (植物解剖画家)
2 長野 哲雄 (東京大学大学院薬学系研究科)	5 ヘンシュ 貴雄 ((独)理化学研究所)
3 永津 俊治 (藤田保健衛生大学医学部)	

所長招へい

1 野中 茂紀 (カリフォルニア大学サンフランシスコ校)

■ 岡山情報図書館 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 , scopus , NACSIS-IR , SciFinder Scholar 等)。



図書館内部

■ 岡山コンファレンスセンター www.occ.orion.ac.jp



岡山コンファレンスセンター

学術の国際的及び国内的交流を図り、岡山 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

■ 岡山共同利用研究者宿泊施設 www.orion.ac.jp/lodge/

共同利用研究者等の宿泊に供するため、岡山 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 18 年 4 月 1 日現在)

	所長	教授 (うち客員)	特任 教授	助教授 (うち客員)	助手	研究員	博士 研究員	総研大 大学院生	特別協力 研究員	特別共同利用 研究員	技術課 技術職員
人数	1	19 (6)	1	17 (3)	31	21	66	41	6	13	27

(岡崎共通研究施設を含む)

■ 財政規模 (単位：千円)

運営費交付金 (平成 17 年度決算額)

人件費	物件費	施設費	合計
807,534	819,038	1,657,171	3,283,744

(岡崎共通研究施設を除く)

外部資金 (平成 17 年受入額：間接経費を除く)

科学研究費補助金	その他の外部資金	合計
695,600	329,980	1,025,580

(岡崎共通研究施設を含む)

■ 配置図



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
	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		佐	々	部	真
	大学院係	長		小	柳	津	武
	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		田	之	上	裕
							治
財務部	部	長		春	畑	文	夫
財務課	課	長		林		正	憲
	課	長 補 佐		白	井	啓	夫
	総務係	長		稲	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	郎
施設課	課	長		渡	邊	壽	夫
	課	長 補 佐		渋	谷	省	一
	専門職員			園	田	秀	久
	専門職員			河	邊	英	雄
	資産管理係	長		山	田	一	郎
	施設係	長					
	電気係	長		井	川	正	幸
	機械係	長		浅	野	一	夫
	環境保全係	長		地	中		剛

平成 18 年 4 月 1 日現在

INDEX

あ

青木裕美子	26
青島晃宏	29
青野直樹	41
青山剛士	41
赤沼啓志	25
浅尾久世	37
綾部夕子	29
新井祐子	9
有田佳代	23
飯岡英和	21
飯田滋	37
飯沼秀子	57,63
井口泰泉	45
池中一裕	62
石川あずさ	19
石川隆子	31
石川直子	46
石谷閑	25
石原秀至	50
石丸善康	19
井尻成保	17
伊関峰生	48
板津昌子	39
市川壮彦	53
市川千秋	57,58
市川真理子	57,64
市川幸奈	41
市川洋子	57,60
市川理恵	11
伊藤慎治	48
伊藤崇予	57,63
井原賢	29
今井亜紀子	31
今泉妙依子	45
今村拓也	32
今村寿子	50
岩田あゆみ	47
上田千弦	9
上野直人	21,54
鵜飼咲枝	25,26
宇佐美剛志	17
宇佐見健	46
内山郁夫	51,59
内海秀子	25,57
宇野智子	55,57

梅林弘美	50,61
漆谷博志	45
殷彰顯	37
榎谷和真	29
EMDE, Jason	54
及川和聡	9
大岡杏子	11
AUSTEN, Ganley	39
大久保範聡	17
大澤園子	31,57
大住克史	39
大隅良典	11
太田耕平	17
太田美咲	54
大根田守	11
大野薫	17
大脇亜希子	19
岡早苗	19,57
小笠原希美	9
岡田典弘	42
小川和男	13,63
小川英知	19
奥公秀	11
小田律子	25
小野明美	37
小原圭介	11

か

かげやま たくや 陰山 卓哉	11
片岡ゆかり	55,57
片山知美	29
勝義直	45
勝木元也	1,35
桂有加子	19
加藤恭子	9
加藤泰彦	45
兼氏君恵	63
金子裕代	17
壁谷幸子	11,57
鎌田芳彰	11
神垣あかね	9
神谷朱美	53
神谷清美	63
川俣朋子	11
川村哲規	25
河村基史	60
北館祐	23
木下千恵	49
木下典行	21

くさ か まさとち	日下 雅友	19
く ぼ けい	久保木悠子	9
くら た ち の	倉田 (千野) 智子	25
くり すて らー	CHRISTELLER, John	9
くり た か へい	栗田加代子	17
くろかわ ひろみ	黒川 紘美	26
くろやなぎ あす か	黒柳明日香	57,64
こ いけ	小池ゆかり	19
ごうの ひろ え	郷野 弘江	19
こうむら としろう	香村 敏郎	37
こし だ	越田 澄人	25
こ じ ま	小島 洋子	41,46
こ だ ま	小玉 明子	29
こ だ ま	児玉 顕一	39
こ だ ま	児玉 隆治	43,54
ご とう	後藤 志野	9
ご とう	後藤 恵	29
こばやし	小林かおる	45
こばやし	小林 慶子	60
こばやし	小林 悟	23
こばやし	小林 武彦	39
こばやし	小林 弘子	53,57
こばやし	小林 未佳	45
こまつ	小松 朋子	19
こまつ	小松 勇介	31
こ みね	小峰 由里子	31
こん	孔 三根	47
こんどう	近藤 千香	11
こんどう	近藤 真紀	9,57
こんどう	近藤 優季絵	55,57

さ

さい	崔 泰林	39
さいとう	斉藤 大助	26
ざお	趙 浩斌	17
さか い	酒井 章衣	17
さか けみ	坂神 真理	55,57
さかまき	酒巻 和弘	12
さく た	作田 拓	29
さきあか	笹岡 俊邦	34,60
さ さ	佐々木 剛	42
さ さ	佐々木 哲也	31
さ さ	佐々木 美智子	25
さ とつ	佐藤 香織	23
さ とつ	佐藤 仁泰	23
さ とつ	佐藤 弘明	32
さ とつ	佐藤 世理	9
さわ だ	澤田 薫	57,63
さんじょう	三城 和子	37

しげのぶ しゅうじ	重信 秀治	23
し ば	司馬 桂君	17
しば た え	柴田恵美子	17
しば た ち と	柴田千登世	25
しば た	柴田 安司	17
しま	嶋 雄一	19
しま だ	嶋田 ゆう	17
しまに	島谷 善平	37
しまもと	島本 三樹	37
しみず	清水 秀忠	29
しみず	清水 峰子	47
じやん	姜 恭好	37
じょうづか	定塚 勝樹	39
じょうづか	定塚 恵世	37
しんたに	新谷 隆史	29
しんどう	進藤 麻子	21
すえつづ	末次 憲之	47
すぎ	杉浦 未央	19
すぎ き	鈴木 亜矢	17
すぎ き	鈴木 育	9
すぎ き	鈴木 邦律	11
すぎ き	鈴木 恵子	57,59
すぎ き と	鈴木登貴子	42
すぎ き	鈴木 亮子	29
すみかわ	住川 直美	41,57
せきとう	関藤 孝之	11
せりざわ	芹澤 尚美	39
ぞ	周 林燕	17

た

た お	田尾 嘉誉	21
たか ぎ	高木 恭子	37
たか き	高木 千賀子	17
たか	高木 知世	21,57
たか ぎ	高木由香利	57,60
たか じ	高司 雅史	31
たか しる	高代加代子	25
たか だ	高田 慎治	25,60,61,62
たか だ	高田 律子	25
たか だ	高橋 絵里	45
たか だ	高橋 一彦	42
たか だ	高橋 潤	25
たか だ	高橋 弘雄	29
たか だ	高橋 弘樹	21
たか は	高畑 亨	31
たか べ え	高部 恵理子	46
たか まつ	高松 香	21,47
たか み	高見 重美	57,64
たけうち	竹内 靖	29,57

たけした みやこ	竹下美也子	57,58
たなか さちこ	田中 幸子	37,57
たなか みのる	田中 実	26,60
たなか めぐみ	田中 愛	54
たかはし たかこ	棚橋 貴子	41
たにやま かずみ	谷山 和美	21
ちやうべい らだ	CHAUBE, Radha	17
ちやうばく ほん じえれみー	CHOW, Pak Hong Jeremy	29
ちやう らんぷあん	張 藍帆	29
ちやん へいん	鄭 惠英	21
つがね かずお	梅根 一夫	37
つかわら ひるこ	束村 博子	32
つかや ひろかず	塚谷 裕一	46
つげ とよこ	柘植 豊子	21
つけしほ くみ	附柴 久美	11
つちや なおみ	土谷 直美	23
つちや めぐみ	土屋 恵	19
つづき しほこ	都築志保子	55,57
つばい ひでのり	坪井 秀憲	47
てらさか ちえ	寺坂 知恵	21
てらだ りえ	寺田 理枝	37
といた しげこ	戸板 成子	31
とみかわ じゅんこ	富川 順子	32
とみだ きな	富田 早苗	19

な

なかがみ ゆき	仲神 友貴	31
ながくら あやの	長倉 彩乃	29
ながせ しげる	永瀬 茂	62
ながた えみこ	永田恵美子	45
ながた しげかず	長田 重一	12
なかと がわ ひとし	中戸川 仁	11
ながはま よしたか	長濱 嘉孝	17,54
なかむら かよ	中村 佳世	29
なかむら しゅうへい	中村 修平	26
なかむら たかのり	中村 貴宣	57,58
なかむら たかひろ	中村 隆弘	29
なかむら たけし	中村 武志	45
なかむら とおる	中村 徹	31
なかむら まこと	中村 真	21
なかもり	中森 ちひろ	9
なぐら まさこ	名倉 真子	46
なんば ちえこ	難波千栄子	57,59
にしで ひるよ	西出 浩世	57,59
にしな ももこ	仁科 桃子	9
にしむら のりこ	西村 紀子	57
にしむら みきお	西村 幹夫	9,54,58
のぐち ゆうじ	野口 裕司	60
のだ ちよ代	野田 千代	23,57

のだ まさはる	野田 昌晴	29,63
のなか しげのり	野中 茂紀	53

は

ばく きえいり	朴 慶一	37
はしもと かおる	橋本 薫	41
はしやま かずや	橋山 一哉	23
ばす しやくんたら	BASU, Shakuntala	17
ばす ていばんじゃん	BASU, Dipanjan	17
はせがわのりこ	長谷川訓子	41
はせ べみつやす	長谷部光泰	41
はっとり のぶこ	服部 宣子	29
はなだ たかお	花田 孝雄	11
はば たかし	馬場 崇	19
はば みすず	馬場 美鈴	11
ばはん だり らむじくまー	BHANDARI, Ramji Kumar	17
はまだ よしお	濱田 義雄	14,58
はやかわ えり	早川 利枝	17
はやし こうじ	林 晃司	57,60
はやし まこと	林 誠	9
はやし まこと	林 誠	23
はら いくよ	原 郁代	17
はら ようこ	原 洋子	11
はらしま ししあき	原島 俊明	11
ひがし しやういち	東 正一	57,58
ひなご めぐみ	日名子 恵	45
ひやま たけし	檜山 武史	29
ひらかわ えり	平川 恵里	17
ひろかわ じゅんや	廣川 純也	31
ひやたし ゆうじ	日渡 祐二	41
ふえる じゃに あり	FERJANI, Ali	46
ふかさわ みつえ	深澤美津江	9
ふかだ まさひで	深田 斉秀	29
ふくい ゆうこ	福井由宇子	19
ふじかわ あきひろ	藤川 顕寛	29
ふじき ゆうき	藤木 友紀	11
ふじくら うしお	藤倉 潮	46
ふじ た ひるのり	藤田 浩徳	50
ふるかわ かずひこ	古川 和彦	57
びん どん	PAUL, Bindhu	17
ほし の あつし	星野 敦	37
ほりうち たかし	堀内 嵩	39
ほりぐち ごろう	堀口 吾朗	46
ほん だ さとこ	本多 聡子	23

ま

まえざわ たかのぶ	前澤 孝信	23
まえだ まさと	前田 昌人	21

まきの	ゆみこ	牧野由美子	57,64
まさおか	ともこ	栢岡朋子	41
まつだ	ちさと	松田知里	37
まつだ	まさる	松田勝	17
まつだ	よしみ	松田淑美	57,63
まつもと	みわこ	松本美和子	37
ま	しょうじ	真野昌二	9
み	じゅんこ	三浦純子	21,26
み	こうじ	三上浩司	49
み	りこ	三上由利子	39
みずたに	たけし	水谷健	45,57
みぞいり	しんじ	溝入真治	42
みぞぐち	まさえ	溝口正枝	29
みやかわ	あつし	宮川敦士	35
みやかわ	じゅんこ	宮川裕子	35
みやけ	さとこ	三宅智子	21
みやざき	さおり	宮崎さおり	41
みやばやし	かなこ	宮林香奈子	19
みやわき	あつし	宮脇敦史	52
みわ	ともき	三輪朋樹	57,59
むかい	まさのり	向正則	23
むこう	やすよ	向田恭世	54
むらた	たかし	村田隆	41
もちづき	あつし	望月敦史	50,61
もは	ずばいる	MOHAMAD, Zubair	19
もり	ともこ	森友子	57,64
もり	ゆうじ	森裕司	32
もりた	じゅんこ	森田淳子	31
もりた	やすまさ	森田裕将	37
もりとう	さとる	森藤暁	37
もりなが	しんいち	森長真一	41
もりべ	はつみ	森部初美	57,64
もろおか	なおき	諸岡直樹	39,57
もろはし	けんいちろう	諸橋憲一郎	19

や

やすだ	みえ	安田聖愛	60
やつ	じゅん	谷津潤	23
やの	さとし	矢野覚士	46
やまうち	だいすけ	山内大輔	47
やまうち	たかあき	山内卓樹	37
やまぐち	かつし	山口勝司	37,57
やまぐち	たかひろ	山口貴大	46
やまぐち	ちなみ	山口千波	46
やまぐち	よしふみ	山口良文	25
やまさ	あきひろ	山里明弘	47
やまだ	けんじ	山田健志	9
やまだ	けんじ	山田健二	32
やまだ	しげひろ	山田成宏	21

やまだ	みすず	山田美鈴	33
やまもと	たかまさ	山本隆正	21
やまもと	くみ	山本久美	57,59
やまもと	はやし	山本林	11
やまもと	やすのり	山本泰憲	29
やまもり	てつお	山森哲雄	31
よこやま	ちかこ	横山智哉子	19
吉兼	なみ	吉兼奈美	21
吉国	みちやす	吉国通庸	17
よしだ	えつこ	吉田悦子	60
よしのり	ゆみ	義則有美	9
よしもと	こうき	吉本光希	11
よねはら	けいすけ	米原圭祐	29

ら

リー	ねべっか	LEE, Rebecca	21
りゅう	おんりょう	劉恩良	17

わ

わだ	まさみつ	和田正三	47,54
わたか	べあき	渡我部昭哉	31
わたなべ	えいじ	渡辺英治	33,60
わたなべ	たかあき	渡邊孝明	39
わたなべ	はじめ	渡邊肇	45
わたなべ	まさかつ	渡辺正勝	48,58
わん	だそう	王徳寿	17