

自然科学研究機構

基礎生物學研究所 共同利用研究報告書

2018年度

目 次

重点共同利用研究	1
モデル生物・技術開発共同利用研究	5
個別共同利用研究	1 1
統合ゲノミクス共同利用研究	1 4 0
統合イメージング共同利用研究	2 8 5
研究会	3 3 4
大型スペクトログラフ共同利用実験	3 4 4
生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究	3 6 7

重点共同利用研究

- 18-101 視覚・色覚による個体識別と求愛行動の分子メカニズム解明を目指して
深町昌司 日本女子大学理学部 准教授

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 30 年 4 月 15 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：日本女子大学
氏名：深町昌司

下記のとおり実施しましたので報告します。

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	視覚・色覚のよる個体識別と求愛行動の分子メカニズム解明を目指して		
課題番号	18-101		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	光学解析室 亀井保博 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所	准教授	渡辺英治
	基礎生物学研究所	特任教授	成瀬清
	岡山大学	准教授	竹内秀明
	東京大学	准教授	尾田正二
	新分野創成センター	特任助教	木森義隆
	名古屋大学	助教	橋本寿史
	宇都宮大学	准教授	山本裕紹
	理化学研究所	特別研究員	芝井厚
	京都大学医学研究科	助教	上野智弘
	宇都宮大学	産学官連携研	八杉公基

		究員	
	基礎生物学研究所	特任准教授	亀井保博

記

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	1. 赤錐体オプシン KO 系統（赤色盲メダカ）の配偶者選択 赤色盲メダカでは、配偶相手に対する体色のこだわりが低下することを見出し、学術論文として公表した（Kamijo et al. 2018）。 2. 視運動反応を定量する実験系の確立 色盲メダカの波長感受性は、岡崎大型スペクトログラフ（OLS）の単色光と縦縞回転装置を用いた視運動反応試験で調べるが（Homma et al. 2017 BMC Genet）、これまでの目視による判定では「反応の有意な低下」を検出するのが困難であったため、パラメータを設定し、反応を数値で評価できるようにした（Matsuo et al. 2018）。 3. 紫錐体オプシン KO 系統（紫色盲メダカ）の作出と表現型解析 ゲノム編集により作出した紫色盲メダカ（未発表）について、視運動反応試験を行ったところ、野生型と明確な差が検出されなかった。これは青色盲メダカと同様であるため、実験装置からの蛍光や OLS の特性（迷光）による影響を完全に排除するべく試行錯誤を繰り返した。また、紫錐体オプシン（SWS1）に対するモノクローナル抗体が完成したので、免疫組織化学染色を行ってみたところ、紫色盲メダカからはシグナルが検出されないことを確認した（未発表）。 4. 青錐体オプシン KO 系統（青色盲メダカ） 前年度までに作出した青色盲メダカを用いて、1 同様に配偶者選択を調べたところ、赤色盲メダカ同様にこだわりが低下することを確認した（未発表）。
研究成果発表等の予定	上記 1 と 2 に関しては公表済みである。2 に関してはメダカ以外の魚種を用いたデータがあり、現在論文を執筆中である。3 に関しては、紫色盲メダカの作出と合わせて論文にまとめる予定であり、4 に関しては、青色盲メダカ作出の論文は近日中に再投稿する予定である。 3 年目であったので成果発表シンポジウムをバイオイメーjing フォーラムとの合同開催した（2019 年 2 月 12-13 日）。本課題共同研究者 5 名が成果報告を行った。また、生物の科学「遺伝」誌の 11 月号の特集として本重点メンバーの多数が成果報告解説を行った。
備考	来年度の自然科学研究機構の分野融合型共同利用研究に採択いただいております、引き続き基生研にて研究を継続させていただき予定である。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

モデル生物・技術開発共同利用研究

- 18-203 ホタルの全ゲノム解析による発光形質の分子機能・発生・生態・進化の理解と、
国際的なホタルゲノムコミュニティの形成
大場 裕一（中部大学応用生物学部 准教授）
- 18-204 有尾両生類の新規モデル確立に向けた、イベリアトゲイモリの研究基盤の開発
林 利憲（鳥取大学医学部 准教授）

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 15 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：中部大学応用生物学部
氏名：大場裕一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☒ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ホタルの全ゲノム解析による発光形質の分子機能・発生・生態・進化の理解と、国際的なホタルゲノムコミュニティの形成		
課題番号	18-203		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	Massachusetts Institute of Technology	大学院生	FALLON, Timothy
	自然科学研究機構	教授	新美輝幸
	モントレイ湾水族館研究所	博士研究員	別所 学
	Massachusetts Institute of Technology	助教	WENG, Jingke
	Centre for Ecology & Hydrology	研究員	DAY, John
	国立遺伝学研究所生命情報研究センター	特任准教授	櫻井 望
	国立遺伝学研究所生命情報研究センター	助教	川島 武士
	桐蔭学園高等学校	教諭	池谷 治義

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	基礎生物学研究所と中部大学の共同研究で開始したホタルゲノムプロジェクトは、アメリカ MIT との共同研究に発展し、最終的には22人の著者による18の大学と研究所による国際的な共同プロジェクトとして、2018年10月に国際学術誌 <i>eLife</i> (2007年 IF 7.6) に掲載された。これに先行して、2018年5月にはフランスで開催された国際生物発光科学発光シンポジウムにおいて、本報告書の報告者である大場と論文の主著者である Timothy Fallon 博士がチェア役となり、ホタルゲノムと進化に関するセッションを開催している。 さらに、成果は基礎生物学研究所と中部大学からプレスリリースされ、全国の新聞各紙に記事が掲載された。 2019年1月10日には、基礎生物学研究所においてホタルゲノムの成果報告会が開かれた。 分担者・別所を主著者としてホタルゲノムの日本語解説が『実験医学』誌3月号に掲載された。 日本チームの持っていたヘイケボタル <i>Aquatica lateralis</i> の近交系統が Ikeya-Y90 と名付けられ、さらに生成期な手続きを経て MIT にも分与された。飼育法の詳細も伝え、現在も MIT の実験室で順調に飼育が進められている。 今後は、まず Ikeya-Y90 オス個体のゲノムリシーケンス、野外個体のリシーケンス、黒化変異個体のリシーケンスを行い、さらに、発光器のメタボローム解析なども予定している。
研究成果発表等の予定	ゲノムリシーケンスの結果（性染色体情報、個体群変動、黒化原因遺伝子の特定）などを原著論文として発表してゆく。 報告者（大場）によるホタルゲノムの解説記事が『化学と生物』7月号に掲載される予定。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30年度）

2019年4月25日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：広島大学 両生類研究センター
氏名：林 利憲

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☒ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	有尾両生類の新規モデル確立に向けた、イベリアトゲイモリの研究基盤の開発		
課題番号	No18-204		
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※別紙あり）	所属	職名	氏名
	鳥取大学・医学部（現：広島大学両生類研究センター）	准教授 （現：教授）	林 利憲
	学習院大学・理学部・生命科学科	助教	井上 武
	琉球大学大学院・医学研究科	助教	松波 雅俊
	広島大学大学院・理学研究科	特任准教授	鈴木 賢一
	基礎生物学研究所	特任准教授	亀井 保博
	基礎生物学研究所	助教	内山 郁夫
	学習院大学大学院・自然科学研究科	教授	阿形 清和
	中央大学・理工学部	教授	福井 彰雅

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究は、器官再生の機構を始めさまざまな生物学的に有意な現象を研究する上で優れた材料となるイベリアトゲイモリを、マウスやショウジョウバエ等との比較研究が可能なレベルの新規モデル生物として整備することを目的としている。このために、飼育・繁殖法の改良に加えて、遺伝情報の整備、ゲノム編集技術の確立、イメージングなど実験技術の確立に向けた研究を行ない、主に以下の成果を得た。 1、CRISPR/Cas9 によるイベリアトゲイモリの遺伝子ノックアウト法を確立、<i>Developmental Biology</i> 誌に発表した。 (doi: 10.1016/j.ydbio.2018.09.008.) 2、イベリアトゲイモリの様々な器官や各発生段階の胚のトランスクリプトームを解析して、遺伝子モデルを構築して、<i>DNA Research</i> 誌に発表した。(doi: 10.1093/dnares/dsz003.) 3、イベリアトゲイモリユーザーの研究ポータルサイト iNewt (http://www.nibb.ac.jp/imori/main/)を基礎生物学研究所のサーバーに開設して、プロトコルやデータセットの提供を開始した。 4、共同利用研究「トレーニングコース」の支援を受け、イベリアトゲイモリのトレーニングコースを開催した。 共同利用研究施設を中核にモデルとしての整備を行うことで、国内外の研究者に広く情報を発信することに成功している。これまでの成果により、イベリアトゲイモリユーザーは増加している。さらにモデル生物としての環境整備が進むことに加えて、今後は優れた研究成果の発表が期待される。
研究成果発表等の予定	
備考	

※ 公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

別紙

分担者（研究会 は参加者） （※人数が多い場合 は別紙として作成の 上、添付してくださ い。）	所属	職名	氏名
	鳥取大学・医学部	教授	竹内 隆,
	産業技術総合研究所・創薬基盤 研究部門	主任研究員	原本 悦和
	広島大学大学院	大学院生	鈴木 美有紀
	鳥取大学大学院・医学系研究科	大学院生	客野 瑞月

個別共同利用研究

- 18-301 植物脂質制御因子の機能解析
島田 貴士（千葉大学大学院園芸学研究科 助教）
- 18-302 植物 RAB5 のエフェクターを介した機能実行機構の研究
伊藤 瑛海（国際基督教大学教養学部 特任助教）
- 18-303 植物特異的ステロールが担う未知機能の解明
太田 大策（大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 教授）
- 18-304 水生動物を用いた発生中の細胞ダイナミクスの解析
根岸剛文（東北大学大学院生命科学研究科附属浅虫海洋生物学教育研究センター 特任助教）
- 18-305 セイタカイソギンチャク精子凍結保存をもとにした人工授精法と遺伝子導入法の確立
山口 剛史（国際医療福祉大学基礎医学研究センター 助手）
- 18-306 光遺伝学とゲノム編集を用いたゼブラフィッシュ心臓の制御と機能解析
中條 浩一（自治医科大学医学部 教授）
- 18-307 脊髄性運動における感覚－運動神経回路の形成と発達
荒田 晶子（兵庫医科大学 准教授）
- 18-308 窒素栄養に応答した根粒共生の制御機構の解明
寿崎 拓哉（筑波大学生命環境系 准教授）
- 18-309 ツツジ科スノキ属ナガボナツハゼの絶滅回避に向けた菌根菌共生メカニズムの解明
富永 晃好（静岡大学農学部 助教）
- 18-310 マメ科植物根粒共生系の脂質代謝に関する研究
今井 博之（甲南大学理工学部 教授）
- 18-311 共生窒素固定の強化に関与するマメ科宿主植物遺伝子の解析
鈴木 章弘（佐賀大学農学部 教授）
- 18-312 植物ヘモグロビンの一酸化窒素調節機能と根粒の老化に関する研究
内海 俊樹（鹿児島大学大学院理工学研究科 教授）

- 18-313 武器甲虫オオツノコクヌストモドキのゲノム編集・ゲノム解析技術の解析
岡田 泰和（東京大学大学院総合文化研究科 助教）
- 18-314 メダカを用いた長鎖ノンコーディング RNA の生理機能解析
横井 佐織（北海道大学大学院薬学研究院 助教）
- 18-315 メダカ属に見出された新規孵化酵素様遺伝子の機能解析
川口 眞理（上智大学理工学部 准教授）
- 18-316 体色変異メダカを用いた NF1 (Neurofibromin type1) 発症シグナル経路の解明
大槻 雄士（慶應義塾大学先端医科学研究所 特任助教）
- 18-317 メダカにおける血球の分化と機能および造血制御に関する解析
加藤 尚志（早稲田大学教育・総合科学学術院 教授）
- 18-318 メダカにおける浸透圧調節に必須な遺伝子の探索
日下部 誠（静岡大学理学部 准教授）
- 18-319 Generation of osmotic stress transcription factor 1b knockout medaka
for fish osmoregulation studies
謝 家暉（九州大学大学院農学研究院 准教授）
- 18-320 メダカ属内における心臓再生能の比較評価
STAINIER, Didier (Max Planck Institute 教授)
- 18-321 細胞内共生に関わる単細胞藻類の微小環境応答特性の解析
丸山 真一郎（東北大学大学院生命科学研究科 助教）
- 18-322 マウスノド繊毛のカルシウム動態の観察
濱田 博司（理化学研究所多細胞システム形成研究センター チームリーダー）
- 18-323 発生期のホルモン環境に依存する生殖器の発達
宮川 信一（東京理科大学基礎工学部 准教授）
- 18-324 アンドロゲン受容体の魚類二次性徴発現および繁殖行動に果たす役割の解明
荻野 由紀子（九州大学大学院農学研究院附属国際農業教育・研究推進センター 准教授）
- 18-325 タンパク質架橋化酵素および関連する遺伝子産物の生理的意義の解明
人見 清隆（名古屋大学大学院創薬科学研究科 教授）

- 18-326 モデル小型魚類利用によるシアル酸代謝とその機能解明研究
北島 健（名古屋大学生物機能開発利用研究センター 教授）
- 18-327 歯周病のメダカ感染モデル作製についての検討
神谷 重樹（大阪府立大学大学院総合リハビリテーション学研究科 教授）
- 18-328 II型糖尿病モデルメダカのためのモノクローナル抗体の作製
松山 誠（重井医学研究所分子遺伝部門 室長）
- 18-329 リュウキュウカジカガエルの高温耐性獲得に関わる HSF1 の分子進化及び機能解析
井川 武（広島大学両生類研究センター 助教）
- 18-330 シロアリにおける社会免疫機構の解明
林 良信（慶應義塾大学法学部 助教）
- 18-331 社会性アブラムシの兵隊カーストに関する生態進化発生学的研究
服部 充（長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科 助教）
- 18-332 キノコ栽培を行うシロアリの栽培共生システムを司る分子機構の解明
北條 優（琉球大学研究推進機構 特命講師）
- 18-333 半索動物ギボシムシの遺伝情報と形態情報の整備及びそのゲノム編集系の確立
川島 武士（情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 助教）
- 18-334 出芽酵母前孢子膜形成における PP1（Gip1-Glc7）のターゲットの探索
舘川 宏之（東京大学大学院農学生命科学研究科 准教授）
- 18-335 内在性トランスポゾン DART の転移を利用したイネ生殖関連遺伝子の同定
野々村 賢一（情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 准教授）
- 18-336 DNA トランスポゾンによる優性わい化変異体 Bdt2 の解析と挿入領域の網羅的解析法の開発
前川 雅彦（岡山大学資源植物科学研究所 教授）
- 18-337 植物の代謝調節と効率的な物質生産機構の解明
中山 亨（東北大学大学院工学研究科 教授）

- 18-338 CRISPR/dCas9 を用いたエピゲノム編集による育種法の開発
池田 陽子（岡山大学資源植物科学研究所 助教）
- 18-339 超短命メダカ *Nothobranchius furzeri* の遺伝子組換え技術の確立
石谷 太（群馬大学生体調整研究所 教授）
- 18-340 光操作による細胞死誘導システムの開発と遺伝子組換えメダカの創出
酒巻 和弘（京都大学大学院生命科学研究科 准教授）
- 18-341 アーバスキュラー菌根菌の共生や分化を制御するシグナル分子の解析
秋山 康紀（大阪府立大学生命環境科学研究科 教授）
- 18-342 The Evolution of Lateral Line Patterns Tinkering with development
LAZARO, Centanin (Heidelberg University Centre for Organismal Studies
Independent Group Leader)
- 18-343 トゲウオにおける季節性繁殖の多様性を生む原因変異とその機能の解析
石川 麻乃（情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 助教）
- 18-344 小型魚類を用いた化学療法における味覚受容体変動の可視化および作用機序
の解明
堤 理恵（徳島大学大学院医歯薬学研究部 講師）
- 18-345 Mechanism of DNA damage inducing stem cell formation in the moss
Physcomitrella patens
CHUNLI, Chen (Huazhong Agricultural University College of Life Science
and Technology Associate professor)
- 18-346 精子幹細胞分化における M112 分子の機能解析
大保 和之（横浜市立大学医学部 教授）
- 18-347 ヒト疾患モデルメダカの作成
井ノ上 逸朗（情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 教授）
- 18-348 開花関連遺伝子 *LjE1* がミヤコグサ（マメ科）の開花所要日数に及ぼす影響の評
価
瀬戸口 浩彰（京都大学大学院地球環境学堂 教授）
- 18-349 染色体分配に関わる CENP-C の変異マウスの作成
深川 竜郎（大阪大学大学院生命機能研究科 教授）

- 18-350 絨毛形成過程における PIH1D3 の機能とそれに起因する絨毛病の病態の解明
加藤 洋一（名古屋市立大学大学院医学研究科 教授）
- 18-351 受容体を介した食品成分の機能性の発現に関する研究
藍原 祥子（神戸大学大学院農学研究科 助教）
- 18-352 ウニの生殖巣の成長、成熟因子の探索～ウニにおけるインシュリン属ペプチド
3種とそれらの受容体候補の作用の検証を中心として～
浦 和寛（北海道大学大学院水産科学研究院 准教授）
- 18-353 タウタンパク質過剰発現メダカの行動解析
上野 智弘（京都大学大学院医学研究科 助教）
- 18-354 植物二次代謝の多様性を支えるメチルトランスフェラーゼの分子進化
加藤 美砂子（お茶の水女子大学基幹研究院 教授）
- 18-355 上皮細胞のシグナル伝播と集団運動を結ぶ非平衡力学の理論モデル構築と実
験検証
前多 裕介（九州大学大学院理学府 准教授）
- 18-356 チャハマキにおけるオス殺しウイルスの感染動態と致死要因の解明
井上 真紀（東京農工大学農学府 講師）
- 18-357 Functional investigation of Apolipoprotein D (ApoD) gene family
specific to fishes
WANG, Deshou (Southwest University College of Life Sciences 教授)

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 4 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：千葉大学大学院園芸学研究科
氏名：島田 貴士

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植物脂質制御因子の機能解析		
課題番号	18-301		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	上田 貴志（細胞動態研究部門）		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	千葉大学 園芸学部	学部生	足立 充紀
	千葉大学 園芸学部	学部生	山口 萌

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	脂質は植物にとって重要な生体物質のひとつである。脂質合成経路の酵素に関する知見は非常に多いが、脂質合成の制御機構については未解明の部分が多い。本研究では、ステロール合成を負に制御する因子 HiSE1 (HIGH STEROL ESTER1) について、その結合因子の同定と局在解析を行った。局在観察を行った 3 つの因子のうち、2 つは小胞体に、もう 1 つはドット上の構造体に局在することが明らかになった。今後は、これらの因子が HiSE1 と相互作用するかを検討していく。現在、BiFC による観察を行うためのベクターを作製している。 申請者はシロイヌナズナの脂質異常変異体を 4 ライン単離している。このうちの 2 つについて、原因遺伝子の同定に成功した。今後は原因遺伝子がコードするタンパク質の局在や機能を解析する予定である。 また、病原糸状菌である炭疽病菌を感染させた際の脂質動態についても、研究を行った。これまでシロイヌナズナにおいて、炭疽病菌感染時に、ホスファチジルイノシトール 4,5-ビスリン酸が、侵入菌糸嚢膜に集積することが明らかになっている。今年度、ウリ類炭疽病菌とベンサミアータタバコを用いた観察を行った結果、シロイヌナズナと同様に、ベンサミアータタバコに形成された侵入菌糸嚢膜にも、ホスファチジルイノシトール 4,5-ビスリン酸が集積していた。この結果から、侵入菌糸嚢膜におけるホスファチジルイノシトール 4,5-ビスリン酸の集積は、植物に広く見られる現象であることが示唆された。
研究成果発表等の予定	HiSE1 に関する研究成果は、現在、研究論文を投稿中である (under revision)。また、2018 年度に、第 7 回エンドメンブレンミーティング (JANPER2018)、第 31 回植物脂質シンポジウム、第 60 回日本植物生理学会にて、研究発表を行った。 炭疽病菌を用いた脂質動態研究については、研究成果を <i>Plant & cell physiology</i> 誌に投稿し、2019 年 4 月に受理されている。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30年度）

2019年4月26日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 国際基督教大学
氏名： 伊藤 瑛海

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植物 RAB5 エフェクターを介した機能実行機構の研究		
課題番号	18-302		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	上田 貴志 教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	国際基督教大学	プロジェクト推進研究員	崔勝媛

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	植物 RAB5 エフェクターを介した機能実行機構を解明するため、平成 30 年度は、基礎生物学研究所 細胞動態研究部門が保有する全反射照明蛍光顕微鏡(TIRF)を用いて、RAB5 エフェクター候補として単離した REAP2 と REAP3 の細胞内局在解析を行った。これにより、REAP2 と REAP3 が細胞膜近傍のドット状構造に局在することを明らかにした。当該研究や他機関で行われた研究から、細胞膜近傍において RAB5 がエンドサイトーシス制御に関わることが推測されるものの、その実態は明らかになっていない。そこで、細胞動態研究部門において TIRF を用いて RAB5 の細胞内動態を観察したところ、細胞内近傍において、RAB5 が部分的に局在性を示すことを明らかにした。また、REAP2、REAP3 がクラスリンマーカールと高い頻度で共局在性を示すことを明らかにしたことから、RAB5 が細胞膜近傍で REAP2、REAP3 と相互作用することで、エンドサイトーシス制御を行う可能性が考えられた。 今後は、RAB5 と REAP2、REAP3 の遺伝学的相互作用を解析することで、この仕組みの生理的意義を明らかにする。
研究成果発表等の予定	当該研究により得られた研究成果は、2019 年度に、国内外の学会において発表し、学術論文として発表することを予定している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 3 月 20 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科
氏名： 太田大策

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植物特異的ステロールが担う未知機能の解明		
課題番号	18-303		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	細胞動態研究部門 上田貴志 教授, 海老根一生 助教		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科	博士前期課程 2 年	山六祐果
	大阪府立大学生命環境科学域	応用生命科学 類 4 年	不破綾香

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	【背景と目的】植物ステロール生合成には、2種のステロールメチル基転移酵素（SMT1 と SMT2）が関与する。SMT1 は菌類から植物に至るまで広く保存された1回目の側鎖メチル化反応を触媒し、C24 メチルステロール（カンペステロール）を与える。C24 メチルステロールは、多細胞植物に特異的な SMT2 による2回目のメチル基転移反応で C24 エチルステロール産生（シトステロール）に必須である。シロイヌナズナには、SMT2 反応を担う <i>SMT2</i> と <i>SMT3</i> の2遺伝子が存在する。その二重変異 (<i>smt2 smt3</i>) 株は、総ステロール含量は維持したままで C24 エチルステロール生合成だけを欠損し、カンペステロールを前駆体とするブラシノステロイド生合成にも影響は無い。しかし、<i>smt2 smt3</i> は重篤な発達異常（細胞分裂異常、根端始原細胞の分裂方向異常による細胞系譜の破綻など）を呈し、不稔に至る。本研究計画では、細胞分裂の進行に伴う C24 エチルステロール生合成の場の動態変化を明らかにすることで、C24 エチルステロールの存在を必須とする細胞生物学的な未知機能の解明を目的とした。 【結果】シロイヌナズナを供試し、SMT1 と SMT2、およびステロール生合成最終反応を担う CYP710A の局在を可視化する系統を作出した。SMT2 および SMT3 の GFP（あるいは mCherry）融合タンパク質の発現は、<i>smt2 smt3</i> の異常表現型を相補したが、SMT1-GFP（あるいは mCherry）融合タンパク質発現では表現型回復ができなかった。小胞体可視化系統（GFP-HDEL:green）と、これらのステロール生合成酵素可視化系統の交配によって、定常状態におけるステロール生合成部位が ER であることが明らかとなった。さらに、細胞分裂期にはこれらのステロール生合成酵素が小胞輸送によって細胞分裂面に輸送されること、特に発達中の細胞板の両端に局在することを明らかにした。さらに、SMT2 酵素反応に関わるドメイン（S-アデノシルメチオニン結合部位）のアミノ酸置換によって酵素活性を失った SMT2 タンパク質は細胞板に局在したが、<i>smt2 smt3</i> の異常表現型は相補出来なかった。 【考察】以上の結果から、細胞内のステロール生合成の場が細胞分裂に伴って動的に変動することを初めて明らかになった。また、多細胞植物特異的な C24 エチルステロールが細胞分裂面で新規に生合成されることによって、多細胞植物の正常な細胞分裂が進行し完了することが明らかとなった。今後、ステロール生合成酵素が、どのような経路で細胞分裂面に輸送されるか、また C24 エチルステロール欠損によって、どのような細胞機能が損なわれるかを明らかにする予定である。
研究成果発表等の予定	成果は第 60 回日本植物生理学会（2019 年 3 月 13 日）に口頭発表するとともに、学術論文として発表準備中。 「細胞分裂進行に伴うステロール生合成マシナリーの動態解析」¹山六祐果,¹不破綾香,^{2,3}海老根一生,^{2,3}上田貴志,¹太田大策（¹阪府大、²基生研、³総研大）
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 27 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東北大学生命科学研究科
氏名：根岸剛文

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ ☐ ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	水生動物を用いた発生中の細胞ダイナミクスの解析		
課題番号	18-304		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	上野直人		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	カタユウレイボヤ胚の表皮細胞の最終分裂では、中心体へと伸長し、細胞分裂方向を制御する膜構造が見られる。私のこれまでの研究によりこの膜構造の伸長先の中心体は分裂期に入る前に繊毛の基底小体へと変換することが分かっている。また、他のグループの研究によりこの繊毛がホヤの左右軸決定に関わる神経胚回転に必要であるという結果が報告されている。この繊毛における膜構造の役割を調べるため、本年度はこの繊毛のダイナミクスについて解析した。まず、正常胚においてこの繊毛の動きを形態形成研究部門のディスク回転式共焦点顕微鏡により観察したところ、繊毛が動く様子が観察できた。胚自体も神経胚回転中であり動いているため、繊毛そのものの動きを正確に捉えることができなかったが、①全ての繊毛が同じように動いていない、②個々の繊毛も常に動いていない可能性を示す観察結果を得た。また、この繊毛の位置は Dishevelled(Dsh)により膜構造の極性を介して制御されており、Dsh の機能阻害胚では繊毛の位置が細胞後方から中央へと変化する。本年度は Dsh 機能阻害胚においても繊毛の動きを観察したところ、現在までに、これらの胚でも正常胚と同じような動きを示す結果を得ている。今後は、正常胚において繊毛の動きの定量化を行い、さらに細胞ごとでの違いも多数の胚の比較により明らかにしたい。その上で、正常胚と Dsh 機能阻害胚間での繊毛のダイナミクスの有無を明らかにしたいと考えている。
研究成果発表等の予定	現在、論文を準備中である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国際医療福祉大学
氏名： 山口剛史

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	セイタカイソギンチャク精子凍結保存をもとにした人工授精法と遺伝子導入法の確立		
課題番号	18－305		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	上野直人教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	セイタカイソギンチャクは褐虫藻と相利共生関係にあり、宿主と褐虫藻の共生関係の分子機構を解き明かす新規モデル生物として期待されている。育成条件(成熟度、光周期)を調整することなどにより放卵放精を人為的に誘導することが可能であるが、放出する時間帯が不定期である為に受精卵へ遺伝子導入などを行うことは困難である。この問題を解決するために、精子の凍結保存法と凍結精子を用いた人工受精法の確立することを試みた。 [成果] ・自作フリーザーの作成 いくつかの動物において精子懸濁液を直接液体窒素に投入し凍結させると、急激な温度低下に耐えられず死滅することが報告されている。イソギンチャクの精子も同様に死滅した。そこで、エタノールとドライアイスでの冷却を利用した自作装置の作成を試みた。内外 2 重の容器に入れるエタノールの量と外部容器に加えるドライアイス量を検討することで、1 分間にサンプルを-10°Cずつ安定して低下させる冷却装置が完成した。 ・凍結保護剤の選択 液体窒素での凍結による精子の死滅を防ぐことに適した凍結保護剤の検討を行った。これまで様々な水生動物の精子の保存に利用されているショ糖溶液では、その濃度が 0.9M 以下のとき、再度融解したイソギンチャク精子は尾を喪失していた。また、0.9M ショ糖に別の凍結保護剤(メタノール、DMA,DMF,DMSO)を添加し、その効果を検証した。その結果、ショ糖とメタノール、あるいは DMSO の組み合わせにおいて融解後にも運動する精子をわずかながら確認することができた。 [今後の展望] 添加する保護剤の濃度と冷却速度の検証を行い、精子の生存率の向上を目指すと同時に、融解精子液を卵に掛け合わせ受精率の確認を行い、任意のタイミングでの人工授精を検証する予定である。
研究成果発表等の予定	
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

平成 31 年 4 月 29 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 自治医科大学 医学部

氏名： 中條 浩一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	光遺伝学とゲノム編集を用いたゼブラフィッシュ心臓の制御と機能解析		
課題番号	18 - 306		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	東島 眞一		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	心臓のペースメーカー細胞（洞房結節）に発現すると考えられている HCN4 チャンネルが発現する細胞に、ChRWR を発現させたゼブラフィッシュを作成させた。ペースメーカー細胞は自律的に興奮することで心拍数を決定している細胞であり、この細胞を ChRWR で活性化することで心拍数を直接制御することができる。心臓に青色光を照射し、心拍数が実際に変わることを確認した。今後はこの魚を使い、短期的、中期的、長期的に心拍数を人為的に変えることにより、心臓の活動をどのように制御し、あるいはイオンチャンネルの発現などにより補正していくのかを調べていく予定である。 HCN4 チャンネルはゼブラフィッシュの腸管神経ネットワークの一部の細胞にも発現していることが分かった。上記と同じ ChRWR を発現させたゼブラフィッシュの幼魚（生後 1 週間程度）を用い、青色光でこれらの神経細胞を活性化したところ、逆行性の蠕動運動を引き起こすことが分かった。この HCN 陽性腸管神経細胞の逆行性蠕動運動について、大阪医科大学の共同研究者が中心となって解析中である。
研究成果発表等の予定	腸管神経細胞の成果については、平成 31 年 3 月に神戸で行われた FAOPS（アジアオセアニア生理学会）にて発表した。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：兵庫医科大学 生理学・生体機能部門
氏名： 荒田 晶子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	脊髄性運動における感覚－運動神経回路の形成と発達		
課題番号	18-307		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	基礎生物学研究所 神経行動学研究部門 東島 眞一 教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	兵庫医科大学 生理学・生体機能部門	学部学生	内田 千晶

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	我々は、胎動に見られるような自発性脊髄運動と神経回路発達に関連性について解明したいと考えている。胎児期の自発性運動が神経回路の発達について、どのような役割であるのか、未だ不明である。胎児は胎動をするが、遺伝的に身体は形作られるので、胎動のような動きは身体を作るためであれば必要ない。しかし、胎動性活動は起こる。我々は、それは胎児が身体を動かすことにより、羊水の中で自分の身体感覚を使って神経回路の発育を促している可能性があるのではないかと考えた。そのような観点から、ゼブラフィッシュの遺伝的背景と発育の速さを生かして、ゼブラフィッシュの初期活動に注目した。第一段階として、ラット胎動性活動に近いゼブラフィッシュの初期活動を調べた。東島先生との話し合いにより、ラットの胎動性活動に近いのは、ゼブラフィッシュの初期に起こる coiling と呼ばれる運動ではないかという事で、その coiling の性質をラットの胎動と比較した。ラット胎動性活動は、NMDA 受容体グリシン結合部位の選択的アンタゴニストで遮断されるので、ゼブラフィッシュの胎動性活動は同じような受容体を持つのか検討した。まず、ゼブラフィッシュの卵の中（またはヨークの中）に薬物をインジェクションするという方法を確認することから始めた。そのやり方には試行錯誤したが、沢山の卵に試して、そのアンタゴニストによる結果が出てきた。ゼブラフィッシュの coiling 活動は、NMDA 受容体グリシン結合部位の選択的アンタゴニストで部分的にブロックされた。この coiling という自発性活動にも、ラットの胎動性活動を生成しているのと同様なレセプターの関与が示唆された。今後は、このゼブラフィッシュの coiling とラットの胎動性活動の相同性と相違性について調べて行く。
研究成果発表等の予定	成果については、2019 年度の日本生理学会や日本発達神経科学学会などで、学会発表を予定している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 2 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 筑波大学 生命環境系生物科学専攻
氏名： 壽崎 拓哉

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	窒素栄養に応答した根粒共生の制御機構の解明		
課題番号	18-308		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	川口正代司		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	筑波大学生命環境系	研究員	西田帆那
	筑波大学大学院生命環境科学研究科	大学院生	三澤文香

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	マメ科植物は、窒素固定細菌である根粒菌を根粒と呼ばれる器官に細胞内共生させることで、安定的に窒素源を得ている。根粒器官形成や根粒菌による窒素固定反応には多くの光合成産物が消費されるため、土壤中に硝酸などの窒素栄養が十分量存在するときには、根粒共生を止めることで根粒共生にともなう炭素源の流出を防いでいる。本研究は、マメ科のモデル植物ミヤコグサを用いて、硝酸に応答した根粒共生の多面的な制御システムの解明することを目的とする。ミヤコグサ <i>NITRATE UNRESPONSIVE SYMBIOSIS 1 (NRSYM1)</i> は <i>NIN-LIKE PROTEIN (NLP)</i> 転写因子をコードし、硝酸に応答して根粒共生の成立に必須な過程を多面的に制御している。特に <i>CLE-RS2</i> の発現誘導を介して全身的な制御系を用いて根粒数を制御することを前年度までの本共同利用研究より明らかにした(Nishida <i>et al.</i> Nat Commun, 2018)。また、<i>NRSYM1</i> とは異なる <i>NLP</i> 転写因子をコードする <i>NRSYM2</i> も硝酸に応答した根粒共生の多面的な制御に関与することを明らかにしている(未発表)。今年度は、硝酸に応答した根粒形成の初期過程(根粒菌感染など)に着目して、<i>NRSYM1</i> と <i>NRSYM2</i> の新たな標的遺伝子を同定することに成功した。また、<i>NRSYM1</i> と <i>NRSYM2</i> は転写活性化因子として働く一方で、標的遺伝子によって異なる発現制御パターンをもつことも見出した。 H30年度の研究により、<i>NRSYM1</i> 及び <i>NRSYM2</i> が硝酸に応答してどのように根粒形成初期過程を抑制するか、その機構の一端を説明する知見を得た。今後の分子レベルでの詳細な解析により、その制御の全容が解明されることが期待される。
研究成果発表等の予定	H30年度は、国内および国際学会において本研究成果を発表した。今後は詰めの実験をできるだけ早く終わらせ論文化することを予定している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

2019 年 4 月 30 日

基礎生物学研究所長 殿

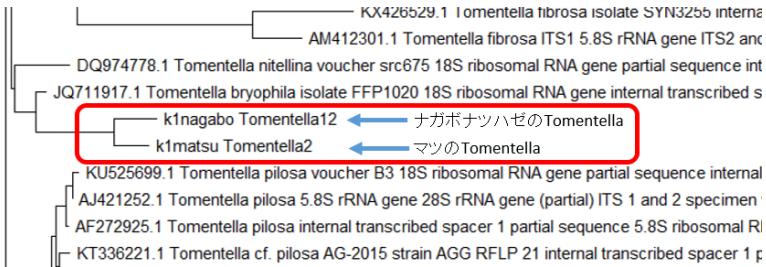
報告者 所属：静岡大学農学部
氏名：富永 晃好

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ツツジ科スノキ属ナガボナツハゼの絶滅回避に向けた菌根菌共生メカニズムの解明		
課題番号	18-309		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	川口 正代司 教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	静岡大学農学部生物資源科学科	学部学生 4 年	木ノ瀬 翔
	静岡大学農学部生物資源科学科	学部学生 4 年	高倉 慧人
	静岡大学農学部生物資源科学科	学部学生 4 年	細口 知椰
	静岡大学持続型農業生態系部門	学部学生	田井 瑞希
	静岡大学持続型農業生態系部門	学部学生	下田 有希奈
	静岡大学持続型農業生態系部門	学部学生	濱口 智美
	静岡大学持続型農業生態系部門	学部学生	井村 晴美

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	ツツジ科スノキ属ナガボナツハゼは、静岡県と愛知県の一部のマツの樹周辺にしか自生しておらず、絶滅危惧 1A 類に指定されており、絶滅を回避することは我が国の喫緊の課題である。これが絶滅危機に至った原因を推測する際に、ツツジ科およびマツ科植物が代表的な菌根菌共生植物である点に着目した。すなわち、「ナガボナツハゼは、地下部で菌根菌の菌糸を経由してマツと繋がっており、マツの養分に依存して生きているのではないか？」という仮説を立てた。これを検証するために、ナガボナツハゼとマツに共生する菌根菌の同定を行った。 分子系統樹を作成した結果、同定した菌根菌は <i>Tomentella</i> 科の菌であり、既存のデータベースに登録されている 297 種の <i>Tomentella</i> 科の菌とは異なることから新種である可能性が示唆された (図)。部分的菌従属栄養植物であるツツジ科のベニバナイチヤクソウおよびラン科のキンランでは <i>Tomentella</i> 科の菌が優占種として存在しており、菌根菌経由で他の樹木の根から養分を受容していることが報告されている。このことから、ナガボナツハゼとマツは根において同種の菌でつながっており、相互に物質のやり取りを行っている可能性が考えられる。今後は、ナガボナツハゼとマツが菌糸経由で養分の受け渡しを行っているかと、マツと菌の有無でナガボナツハゼの生育が変化するかを調査する予定である。 
研究成果発表等の予定	菌同定の再現性を確認した時点で、国際雑誌に投稿予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 30 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：甲南大学理工学部

氏名： 今井 博之

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	マメ科植物根粒共生系の脂質代謝に関する研究		
課題番号	18-310		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	川口 正代司 教授、征矢野 敬 准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	甲南大学・大学院自然科学研究科	修士課程2年	河邊 英実

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	申請者らは、これまでにスフィンゴ脂質代謝に関わるいくつかの酵素遺伝子をミヤコグサにおいて同定し、報告している。本研究では、ミヤコグサにおいて CRISPR/Cas9 でのノックアウトを試み、スフィンゴ脂質代謝に関わるミヤコグサの変異体の作製を行った。具体的には、ミヤコグサの胚軸にアグロバクテリウムを感染させ、カルス誘導を経て、形質転換体を再生させる方法を試みた。現在、カルスから分化したシュートの一部からゲノム DNA を抽出し、ターゲット DNA 配列周辺を PCR で増幅し、再生シュートにキメラがないかをチェックしている。今後、根の再生の後、土に植え替えて植物体の種子を採取する予定である。 来年度はこのノックアウト変異体からのスフィンゴ脂質分析を目指す。
研究成果発表等の予定	本研究で得られた成果は、日本植物生理学会などの国内学会で発表する予定である。
備考	特になし。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 29 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：佐賀大学農学部

氏名：鈴木章弘

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	18-311		
課題番号	共生窒素固定の強化に関与するマメ科宿主植物遺伝子の解析		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	川口正代司教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	佐賀大学大学院農学研究科	修士 1 年	手嶋恭子
	佐賀大学大学院農学研究科	修士 2 年	江上由佳

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	報告者等が単離したミヤコグサの <i>enf1</i> 突然変異体は、野生型と比較して根粒数及び窒素固定活性が約 2 倍であり、大型の種子を生産し、植物体の成長も旺盛であるという表現型を示す。今までに多くの共生変異体が単離解析されているが、この変異体のように共生窒素固定に対してポジティブな性質を見せる変異体は限られている。そしてこの表現型の遺伝は一遺伝子支配の不完全優勢であることが推測されている。このような性質をダイズ等のマメ科作物の育種に応用することができれば、収量が増加した品種や低肥料条件下でも同等の子実生産を示す品種の創成に繋がると期待できる。そこで本研究では <i>enf1</i> 変異体の原因遺伝子の同定を試みる。今までの研究によって <i>enf1</i> 遺伝子は第 4 染色体のある領域に座乗していることが判明しており、次世代シーケンス解析によって原因遺伝子の候補が絞り込まれている。 そこで 2018 年度は CRISPR-cas9 システムを利用して当該遺伝子に変異を導入した。すなわち、CRISPR-2.0 によって候補遺伝子に対するターゲット配列を 4 箇所選び、pUC19_AtU6oligo ベクターへクローニングした。次に Guide RNA 発現カセットを制限酵素 I-SceI で切り出し、I-SceI で消化した pZH_gYSA_FFCas9 へ導入しバイナリーベクターを構築して、このバイナリーベクターをアグロバクテリウムへ導入した。現在このアグロバクテリウムをミヤコグサの B129 と MG20 へ感染させ、再生個体を得るための実験を継続して行なっているところである。 今後は形質転換体を得られ次第次世代の種子を獲得して、根粒着生試験を行い窒素固定活性が増強されているか否かを確認する。
研究成果発表等の予定	上記のゲノム編集によって、候補遺伝子の発現を抑制した場合に、窒素固定活性が増強されることが確認できれば、関係学会等で発表するとともに、速やかに学術論文として公表する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：鹿児島大学大学院理工学研究科
氏名：内海 俊樹

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植物ヘモグロビンの一酸化窒素調節機能と根粒の老化に関する研究		
課題番号	18-312		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	川口正代司 教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	鹿児島大学大学院理工学研究科	博士後期課程 3 年	福留 光拳
	鹿児島大学大学院理工学研究科	博士後期課程 1 年	小杉 祥平
	鹿児島大学大学院理工学研究科	博士後期課程 3 年	蘭 正人
	Suranaree University of Technology	PhD student	Teerana Greetatorn

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	マメ科植物と根粒菌の共生窒素固定系は、食糧問題や環境問題の解決への貢献が期待される重要な共生系である。本研究では、クラス 1 植物ヘモグロビンの一酸化窒素 (NO) 除去機能を活用して根粒を冠水に強くし、根粒の老化を抑制して窒素固定活性をより長期間に渡って持続させるための基盤技術の確立を目的とした。 本研究では、ミヤコグサ (<i>Lotus japonicus</i>) のクラス 1 植物ヘモグロビンである LjGlb1-1 の遺伝子を高発現するミヤコグサの形質転換系統を使用した。この高発現系統は、組織内の NO レベルが低く、着生した根粒の窒素固定活性は、野生型よりも高かった。さらに、長期栽培時には、窒素固定活性の低下が抑制されていた。高発現系統では、老化関連遺伝子の発現が低く、根粒内部組織の老化も進行していなかった。NO 供与剤、エチレンまたはアブシシン酸を野生型ミヤコグサの根粒に与えると、組織内の NO レベルが高くなり、老化関連遺伝子の発現が誘導され、根粒内部組織も老化の兆候を示した。この NO レベルの上昇や老化関連遺伝子の発現、内部組織の変化は、NO 除去剤の添加により抑制されたことから、高発現系統では、LjGlb1-1 の NO 除去機能により老化の進行が抑制されたものと考えられた。これらの研究成果は、<i>Plant and Cell Physiology</i> に掲載 (doi:10.1093/pcp/pcy245) された。高発現系統は、根系を 1 週間程度冠水しても活性が維持されることを確認しており、この耐性機構にも、LjGlb1-1 の NO 除去機能が関与していることを明らかにした。 低温・高温をはじめとする環境ストレスに対する応答については、実験を進めている。また、発芽時に NO 耐性を示すミヤコグサ変異体の選抜も進行しており、現在までに、10 個体程度を候補として、系統の確立と特性の解析に取り組んでいる。環境ストレス応答や根粒菌との共生で新規な形質を有する系統の確立が期待できる。
研究成果発表等の予定	本共同研究で、ミヤコグサの LjGlb1-1 高発現系統の根粒は、冠水に対して耐性を示すことが判明した。冠水耐性とそのメカニズムに関する研究成果は、学術誌「Antioxidants」で企画されている「植物 NO 特集」に寄稿を依頼されており、5 月末をめどに投稿する予定である。また、2019 年 10 月に中国・武漢にて開催予定の 21st International Congress on Nitrogen Fixation では、講演を依頼されており、ミヤコグサの <i>LjGlb1-1</i> 遺伝子などの高発現系統の特性について発表することになっている。その他、5 月に仙台で開催予定の 5th Asian Conference on Plant-Microbe Symbiosis and Nitrogen Fixation、9 月開催予定の植物微生物研究会第 29 回研究交流会、2020 年 3 月開催予定の第 61 回日本植物生理学会年会での発表を計画している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 8 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 首都大学東京 理学部
氏名： 岡田泰和

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	武器甲虫オオツノコクヌストモドキのゲノム編集・ゲノム解析技術の解析		
課題番号	18-313		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	新美輝幸		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	これまで、成虫形態の形成が起こる前蛹期において、雌雄間、および大きいオス・小さいオスの間での比較トランスクリプトーム解析を行っている。候補遺伝子について、RNAi 法を用いたノックダウン解析を開始し、栄養感受性に関わる遺伝子（インスリンなど、岡田ら, 2017 年進化学会）や、ヒストン脱アセチル化酵素群 HDAC(Ozawa,Niimi,Okada et al.2016)など、武器発達に関与する分子やエピゲノム機構を解明しつつある。また、雌雄差にかかわるエピジェネティック因子があらたに見つかった（大塚, 岡田 未発表） HDAC ノックダウンが武器形質に特異的な形態形成作用を示したことにくわえ、他にも雌雄差の作出に関わるエピジェネティック因子を発見した。オオツノコクヌストモドキではヒストン修飾が武器サイズ可塑性を制御していることが強くサポートされている。今後、武器サイズの可塑性や性的二型の発現における、ゲノムレベルでの発現制御が多様な形態を生みだしている可能性を検証する。インスリンなどの栄養感受性シグナルについては、生物情報学的な解析を行い、昆虫種ごとにインスリン様ペプチドは非常に多様化しており、特定のペプチドのみが武器サイズ決定に関わることがわかってきた。このことについて、現在論文を投稿中であり、遺伝子重複にインスリン様ペプチドの機能的多様化があることを論じている。
研究成果発表等の予定	特定のペプチドのみが武器サイズ決定に関わることについて、現在論文を投稿中であり、遺伝子重複にインスリン様ペプチドの機能的多様化があることを論じている。 雌雄間、および大きいオス・小さいオスの比較トランスクリプトームの論文を準備中である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 11 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 北海道大学大学院薬学研究院
氏名： 横井 佐織

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカを用いた長鎖ノンコーディング RNA の生理機能解析		
課題番号	18-314		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬清特任教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	北海道大学薬学部	学部学生	井ノ上俊太郎
	北海道大学薬学部	学部学生	長森光紀

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	機能性 lncRNA 候補について CRISPR/Cas9 法を用いたノックアウトを試み、その中の一つについてはホモ変異個体を得るに至った。当該個体が社会性行動に異常を示すかをテストする前段階として、視運動反応テストを行った。メダカは視覚情報を利用した行動を主に示すため、社会性異常の検証の際には視覚情報処理や運動性に異常がないかをテストする必要がある。 視運動反応テストにより、当該変異体は視覚情報処理や運動性に異常を示さないことが判明したため、今後様々な社会性行動アッセイテストを行い、異常を検証する予定である。
研究成果発表等の予定	社会性行動アッセイテストの結果が出次第、学会発表を行う予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 11 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：上智大学理工学部物質生命理工学科
氏名：川口 眞理

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカ属に見出された新規孵化酵素様遺伝子の機能解析		
課題番号	18-315		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬清 特任教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	メダカは2種類の孵化酵素（HCE と LCE）を持ち、両者の共同作用により、卵膜を分解して孵化する。ゲノム上には HCE はマルチコピー遺伝子として存在し、LCE はシングルコピー遺伝子として存在する。HCE と LCE の至適塩濃度を調べたところ、LCE は幅広い塩濃度で活性を示すのに対し、HCE には至適塩濃度が異なる 2 種類のアイソザイムが存在し、一方は淡水で活性が高い淡水型の酵素、他方は淡水では活性が低い塩水で活性の高い塩水型の酵素であることが分かった。 さらに、メダカ属に属するジャワメダカの BAC ライブラリーのスクリーニングを通して、多重コピー遺伝子として存在する孵化酵素 HCE 遺伝子の全配列を得ている。これらの HCE の組換えタンパク質を作製を試みた結果、5 コピー存在する HCE 遺伝子のうち、1 つのみ組換えタンパク質の作製に成功した。そこで、卵膜分解における至適塩濃度を調べた結果、0 M NaCl では活性はほとんど見られなかったが、0.125~0.75 M NaCl では高い活性が維持されていた。ジャワメダカの 5 コピーある HCE の配列を比較してみると、いずれも塩水型の活性を有すると予想される。 本年度は、上記の研究成果を論文として発表すべく、ディスカッションを行い、以下に示す通り、投稿論文として発表することができた。
研究成果発表等の予定	研究成果の一部は下記の論文で発表した。 Yusuke Takehana, Margot Zahm, Cédric Cabau, Christophe Klopp, Céline Roques, Olivier Bouchez, Cécile Donnadieu, Celia Barrachina, Laurent Journot, Mari Kawaguchi, Shigeki Yasumasu, Satoshi Ansai, Kiyoshi Naruse, Koji Inoue, Chuya Shinzato, Manfred Schartl, Yann Guiguen, and Amaury Herpin. (2019) Genome sequence of the euryhaline Javafish medaka, <i>Oryzias javanicus</i>: a small aquarium fish model for studies on adaptation to salinity. BioRxiv, in press.
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 2018 年度）

2019 年 8 月 8 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：慶應義塾大学 医学部

先端医科学研究所 遺伝子制御

氏名：大槻雄士

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	体色変異メダカを用いたNF1(Neurofibromin type1)発症シグナル経路の解明		
課題番号	18-316		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望

Kit-ligand(Stem cell factor)はチロシンキナーゼレセプター c-Kit の ligand であり、造血、生殖細胞やメラニン細胞などでの役割が良く知られている。また c-Kit から下流シグナルはマウスやヒトなどの脊椎動物

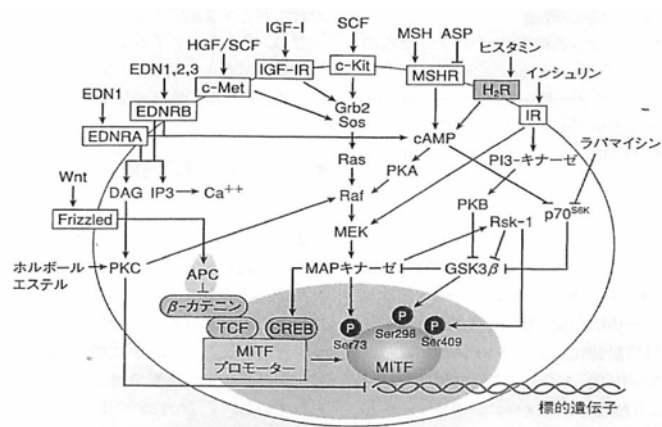


図 1 c-kit の MITF を介した pathway

物で高度に保存されており、メラニン細胞では Ras-Raf-Mek-MAPK のシグナルを介して、MITF プロモーターの活性化を制御し、メラニン産生過程における律速酵素であるチロシナーゼの転写を制御している (図 1)。マウスやヒトなどの体色はメラニン細胞で合成されるメラニンにより決定されるが、メダカなどの魚類はメラニン細胞に相当する色素細胞が 4 種類も存在する。申請者はメダカ黒色素胞 melanophore (ヒトのメラニン細胞に相当) が減少する *fm* (few melanophore) という変異メダカの原因遺伝子を同定するためポジショナルクローニングを行い、kit-ligand(kitlg)のメダカホモログであることを示唆する結果を得ている。興味深いことに *fm* では黒色素胞だけではなく白色素胞 leucophore も減少することが知られているが、その原因は明らかではなかった。白色素胞の異常を呈する変異メダカの解析より、その形成・維持に関与する遺伝子として転写因子の *Pax7* と *Sox5* がこれまで報告されており、表現型の類似性から *kitlg* と両遺伝子の機能相関が予想されるが、これまでその報告はない。そこで本研究では *fm* の原因遺伝子が実際に *kitlg* であることを証明すると共に、*kitlg* の新規下流シグナルとして *Pax7* と *Sox5* の可能性をメダカを用いて検証することを目的とする。

研究計画・方法

1) *fm* の原因遺伝子確定

・Crisper-Cas9 を用いた Kit-ligand 変異メダカの作製

本プロジェクトでは、melanophore が著明に減少する *fm* メダカと呼ばれる変異メダカを用いている。同メダカは基礎生物研究所より提供を受けた。Fm メダカとの表現型の類似性の確認のため、基礎生物学研究所の成瀬教授、竹花助教の協力をえて、Crisper/Cas9 technology により Kit-ligand を knockout した個体を作成した。

・上記作製メダカを用いた相補性試験

上記で作成したメダカの中には genotyping により homo、hetero と思われる個体も得ている。産卵可能時期になれば、これらを用いて *fm* 個体と交配させ相補

性検討を行い *fm* の原因遺伝子が *kitlg* であることを確定したい。

2) Kitlg と Pax7, Sox5 の機能相関の有無解明

・ *fm* における Pax7, Sox5 の発現検討

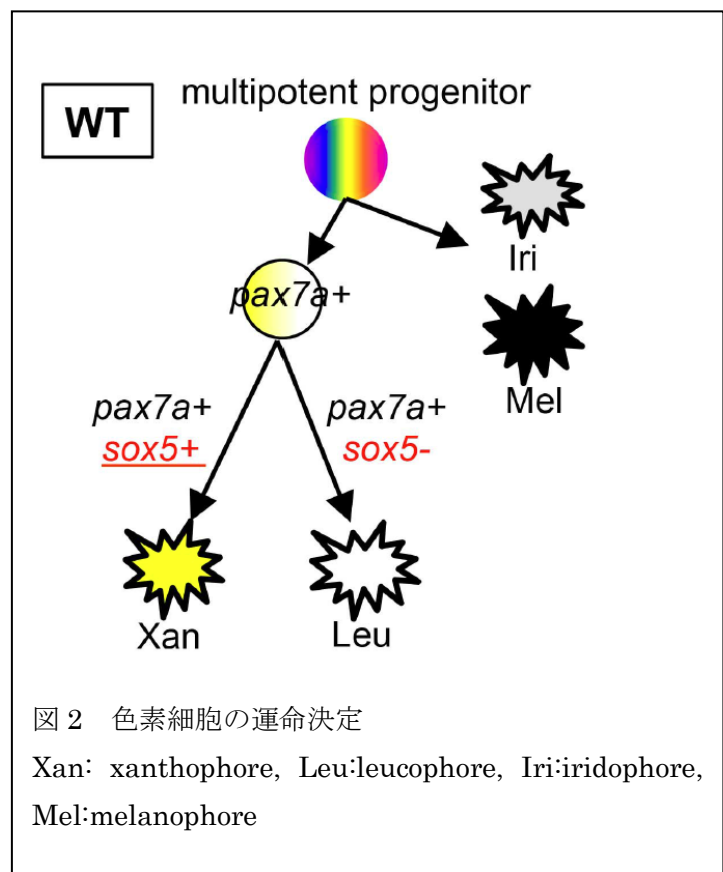
成魚の中枢神経系ならびに筋骨格系から QIAGEN RNeasy キットを用いて RNA を精製した。次に、Primescript Rt reagent kit with gDNA Eraser kit を用いて cDNA を作製した。この cDNA を用いて、Reverse transcription-PCR を行った。

結果と考察

我々がメダカを研究ツールとして用いた理由として、卵生で発生初期からの体色観察が可能であることが挙げられる。メダカは黒色素胞 melanophore、白色色素胞 leucophore、黄色色素胞 xanthophore、虹色素胞 ilidophore の 4 つの色素細胞をもち、体色異常を呈する多くの変異体が報告されている。また、メダカの色素細胞の分化の運命決定は、種々の変異体の解析によりかなり解明されている。つまり、野生型では paired box gene 7a (*pax7a*) の発現があると黄色色素胞もしくは白色色素胞へと分化

が誘導され、さらに *sox5* の発現の有無により黄色色素胞と白色色素胞の分化がそれぞれ誘導されることが分かっている(図 2)。黒色素胞と白色色素胞が多能性前駆細胞から異なる系譜で発生することから考えると(図 2)、*fm* で両色素胞が減少していることは、*kitlg* が *pax7* や *sox5* などと共に黒色素胞の分化誘導因子(*mitf*)の上流で機能していることを示唆するものと考えている。また、近年で

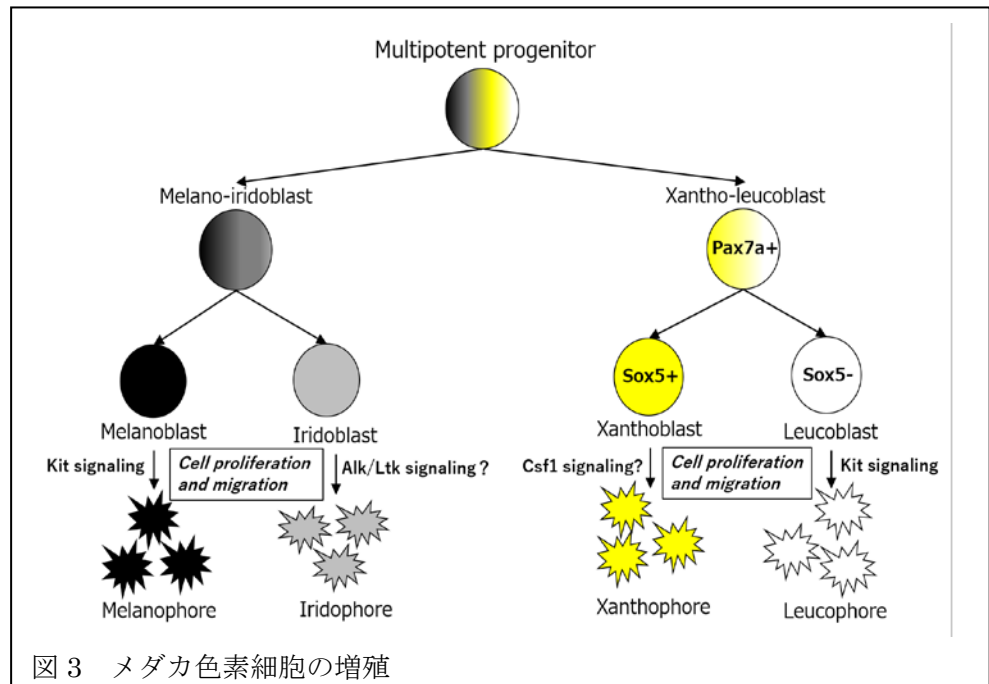
は、*c-kit* の変異が肺癌、大腸癌、生殖細胞由来の癌、神経芽細胞腫などの腫瘍形成や限局性白皮症などの色素異常においても重要な役割を果たすことが示されており、Kit-ligand/*c-kit* を介したシグナルの詳細解明はこれら疾患の病態解析、治療薬開発など大きく寄与するものと考えている。



C-kit 以下のシグナルは、正常細胞では、造血や生殖細胞の分化において重要な役割を担っている。メダカにおいても、様々な役割を担っているが、我々は色素細胞の発現のコントロールに着目した。メダカでは体色異常を呈する mutant が多く認められ、そのうちの 1 つである fm メダカは、この変異体における原因遺伝子は特定されていなかった。今回我々は positional cloning と genome 配列の sequencing を行い、fm ではゲノムレベルで Kit-ligand の exon2-5 がトランスポゾン配列に置換されていることが判明した。さらに、exon2-5 の mRNA が Kit-ligand のどのドメインをコードしているのかを e!Ensembl (<http://asia.ensembl.org/index.html>)で参照したところ、fm では c-kit binding domain や transmembrane domain を含む大きな領域が置換され、欠損していた。

このことから fm メダカでは sox5 や pax7 の転写もしくは発現に影響が及び、色素細胞の変異が出現していると考えられる。RT-PCR で sox5、pax7 の転写を確認したところ、ともに fm メダカでは減少していることが分かった。

共に低下するという結果は、上述の運命決定の仮説とは一致しないが、各色素細胞が発現していることを鑑みるに、この両遺伝子の発現低下は色素細胞の発現ではなく増殖に影響を及ぼしていると考えられる。Zebrafish では、ALK/Ltk signaling が黒色素胞の増殖に、Csf1 signaling が白色・黄色素胞の増殖に関与することが示されており同様の機構が存在することも想定される（図 3）。



このようにヒトには認めない色素胞の研究を通して、哺乳類モデル動物を用いた研究では解明されなかった分子レベルでの Kit-ligand の機能を解明することができると考えられる。特に、leucophore に関しては、ゼブラフィッシュにも存在せず、実験動物モデルとして用いられている中ではメダカにしか存在しない。さらに上述のように、leucophore に関しては比較的分子メカニズムが解明

	されており、今後も興味深いツールになりうると考える。 今後は、ヒト細胞への fm gene 導入による細胞内分子機構の変化の観察も予定しているおり、これによりヒトでの Kit-ligand の新たな機能や分子機構が判明することが期待される。
研究成果発表等の予定	G3:Gene,Genome,Genetec に投稿中
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 28 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：早稲田大学教育・総合科学学術院
氏名：加藤 尚志

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカにおける血球の分化と機能および造血制御に関する解析		
課題番号	18-317		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清 特任教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	早稲田大学大学院先進理工学研究科	博士学生	佐藤 圭
	早稲田大学大学院先進理工学研究科	修士学生	小川 斐女
	基礎生物学研究所	助教	安齋 賢

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	〔目的〕 白血球はリンパ球と顆粒球に大別される。顆粒球は、細胞内顆粒の種類によって好酸球、好中球、好塩基球の三種に分類される。しかしメダカの顆粒球は好中球のみとされている。そこで、メダカの好中球の増殖・分化・機能を調べ、自然免疫系における機能を解明する。まず、顆粒球の種類が少ないメダカにおいても顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF;遺伝子名 <i>csf3</i>）が好中球造血に大きく関与するのかを解明する。 〔方法〕 ① <i>csf3a1</i> 欠損メダカの末梢血球数の解析 <i>csf3a1</i> ヘテロ欠損メダカ及び野生型メダカより尾静脈採血法により末梢血液を採取し、遠心塗抹標本を作製した。ミエロペルオキシダーゼ・ヘマトキシリン重染色を行い、好中球数を計数し、比較した。 ② メダカ G-CSFa1x2 の動物細胞発現 メダカ成魚脾臓由来 cDNA クローンから G-CSFa1x2 遺伝子の全長配列を取得し、FLAG-tag 配列を付加して pFUSE mlg G2A fc2 に挿入し、動物細胞発現ベクターを構築した。この発現ベクターを 24 ウェルプレート上で、リポフェクション法によりヒト胎児腎細胞株である HEK293T 細胞に導入した。5% CO₂, 37℃で培養 48 時間後に培養上清を回収し、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動後、抗 FLAG 抗体を用いてウェスタンブロットを行った。 〔成果〕 末梢血液中の好中球数は野生型では 14.2×10^9 細胞/L であったのに対し、<i>csf3a1</i> ヘテロ欠損メダカでは 1.80×10^9 細胞/L であり、有意な減少を認めた。ウェスタンブロットにより、G-CSFa1x2 の蛋白質の発現を確認した。N-グリコシダーゼ消化により分子量が小さくなったことから N-結合型糖鎖の付加を明らかにした。 〔今後の展望〕 今後は <i>csf3a1</i> 欠損メダカの血球系細胞の分化・増殖、感染致死率、好中球による自然免疫系に関与する機能を中心とした表現型解析を進める。また、好中球系細胞特異的に蛍光を有するノックインモデルを作出し、臓器中の好中球及び前駆細胞の組織分布や局在性の変動を明らかにする。加えて、好中球前駆細胞の G-CSFa1x2 に対する応答性を <i>in vitro</i> で確認する。
研究成果発表等の予定	2019 年第 90 回動物学会大阪大会に演題登録予定。 本課題に関連する成果を国際誌へ論文投稿予定。「Discrimination of different blood cell types of <i>Oryzias latipes</i> using flow cytometry（仮題）」
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 3 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 静岡大学理学部創造理学
氏名： 日下部 誠

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカにおける浸透圧調節に必須な遺伝子の探索		
課題番号	18-318		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬清 特任教授、安齋賢 助教		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

研究成果の概要及び今後の展望	2018 年度の共同利用で予定していた「メダカにおける浸透圧調節に必須な遺伝子の探索」に関しては、申請者の諸所の都合で予定していた研究課題について十分に着手することが出来なかった。しかしながら、共同研究の打ち合わせを行い、今後の共同研究の土台を固めることが出来た。 本申請課題とは直接の関連はないが、研究打ち合わせの際、高校生を対象とした「未来の科学者養成スクール(FSS)」の研究課題について相談した。FSS を受講している高校生は、近交系に生じる変異について興味があり、変異が生じるメカニズムを解析したいという希望を伝えると、安齋助教より黒色素胞の著しい減少を起こした <i>Oryzias curvinotus</i> の近交系が存在すること紹介していただいた。そこで、バイオリソース研究室より <i>Oryzias curvinotus</i> を入手し、高校生が主体となって「メダカにおける黒色素胞の減少を起こす原因遺伝子の解析」という研究課題を実施した。FSS の研究では、哺乳類や魚類の先行研究により体色制御に重要な役割を果たすことが分かっている <i>kitlg</i> 遺伝子の発現解析を行った。<i>kitlga</i> (ENSORLG00000022628) を <i>Oryzias curvinotus</i> の皮膚よりクローニングし、RT-PCR により簡易な定量を行なった。その結果、野生型と体色の薄いメダカの皮膚において <i>kitlg</i> 遺伝子の発現量に顕著な違いは見られなかった。今後は、その他の <i>kit</i> 関連遺伝子 (<i>kita</i>: ENSORLG00000000569, <i>kitb</i>: ENSORLG00000004401, <i>kitlgb</i>: ENSORLG00000013327) の解析も進める予定にしている。遺伝子の発現解析については、リアルタイム PCR を用いた定量あるいは RNAseq による網羅的な解析を行い、より精度の高い発現解析を行う。
研究成果発表等の予定	FSS 研究の途中経過については、中心となって研究を行なった高校生が「平成 30 年度静岡大学未来の科学者養成スクール受講生研究発表会」にてポスター発表を行なった。FSS で実施している <i>Oryzias curvinotus</i> の研究は、来年度も継続予定であり、<i>kita</i>、<i>kitb</i>、<i>kitlga</i>、<i>kitlgb</i> の解析が完了した時点で国際誌に発表する予定にしている。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 九州大学農学研究院
氏名： 謝 家暉

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Generation of osmotic stress transcription factor1b knockout medaka for fish osmoregulation studies		
課題番号	18-319		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所バイオリソース研究室・IBBP センター	特任教授	成瀬 清
	基礎生物学研究所バイオリソース研究室	助教	安齋 賢

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	〔目的〕 The project aims to generate both the knock-in and knock out transgenic lines of the osmotic stress transcription factor 1b (Ostf1b) medaka for fish osmoregulation study. We are interested in the osmoregulatory role of Ostf1b in fish gill, and would like to use the fish model to understand the molecular mechanism of osmo-sensing network. 〔成果〕 In the past year, we have visited the NIBB for two times, and started to generate the Ostf1b knock-in fish by the KI system in Prof. Naruse's laboratory. With the help of Prof. Naruse, we have decided three target sites for the gene. The constructs were generated and brought back to my laboratory for further micro-injection experiments. Potential carrier could be identified by the GFP. Our group is currently working on such identification. Lastly, the knock-out line that generated in last year has been further out-crossed to maintain the line, and its relatively mutation site has been identified. 〔展望〕 The project aims to understand how the Ostf1b could affect the euryhaline ability of medaka and the reasons behind. With the knockout line, we could study the salinity tolerance of the fish. While for the knock-in fish, since the Ostf1b is labeled with the GFP, the fish will allow us to observe the possible changes of the Ostf1b expression pattern. In addition, we could investigate the expression pattern in the embryo or larvae stages that may link to the ionocyte development. Taken together, the two transgenic lines that generated could provide new insights on the osmoregulatory functions of Ostf1b in medaka.
研究成果発表等の予定	We are now undergoing various experiments. With the two transgenic lines, fruitful results will be generated in the next two years. Publications and presentation in the international conference are expected in the future.
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 2018 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： Max Planck Institute for Heart and Lung Research

氏名： Didier Stainier

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカ属内における心臓再生能の比較評価		
課題番号	18-320		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2018 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	Max Planck Institute for Heart and Lung Research	Postdoctoral fellow	亀崎 青沙

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	ゼブラフィッシュが有する心臓再生能をミナミメダカ(<i>O.latipes</i>)は有さない。しかしながら、これらの魚種は進化的に近いとは言えないことから、単純比較からでは心臓再生能の違いを生み出す詳細なメカニズムを探ることは難しい。そこで、本研究では、メダカ近縁種の多様性に着目し、新たな比較モデルを探索するためにメダカ近縁種の心臓再生能を調べることを第一の目的にしている。 現時点までに、マックスプランク研究所および基礎生物学研究所においてメダカ近縁種の心臓損傷後応答を調べる実験をおこなった。マックスプランク研究所でおこなった実験では、<i>celebensis</i> 種群に分類される <i>O.woworae</i> と <i>O.nigrimas</i> において、心臓損傷 7 日後の繊維組織の蓄積に異常がみとめられていたが、本研究機関の飼育システムにおける <i>O.nigrimas</i> と <i>O.woworae</i> の繁殖がうまくいかなかったため再現がとれていない。そこで、<i>O. celebensis</i> を基礎生物学研究所より入手し、現在繁殖を試みている段階である。また、基礎生物学研究所でおこなった <i>O. celebensis</i> を用いた試験的実験では、心臓損傷 7 日後の損傷後応答の進行に大きなバラつきがみとめられたため繊維化応答への異常に関する結論を出すことはできなかった。よって、現在は本研究所における近縁種の繁殖を試みながら、今後、心臓損傷 7 日以降に繊維化応答を解析する予定である。また、これらの魚種の心臓損傷後の生存率はゼブラフィッシュと比較してはるかに低く、損傷後の運動を抑制するなどして生存確率を上げることも今後の一つの課題である。
研究成果発表等の予定	本研究共同による研究成果の発表には、試験的実験の結果の再現性の確認が必須であり、さらにその後の心臓再生能の評価などが必要となる。また、そのメカニズム解明にはオミックス解析やゲノム解析を含めると数年を要することが予想されるため、現時点では成果発表は未定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 2018 年度）

2019 年 4 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東北大学大学院生命科学研究科
氏名： 丸山 真一郎

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	細胞内共生に関わる単細胞藻類の微小環境応答特性の解析		
課題番号	18-321		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	皆川 純 教授、 高橋 俊一 准教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	東北大学・データ科学国際共同大学院	助教	中山 卓郎
	東北大学・大学院生命科学研究科	研究支援員	石井 悠

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	サンゴなどの刺胞動物類は、渦鞭毛藻の一種である褐虫藻を細胞内共生させることで、貧栄養の熱帯海域において食物連鎖を支える貴重な共生生態系を形成している。こうした「サンゴ共生系」では海水温上昇など環境変動により共生崩壊が起こることが大きな問題となっているが、その分子機構は不明である。本研究では、褐虫藻および比較対象となる異なる進化段階にある種々の藻類を用いて、環境適応に大きな影響を持つ応答機構の進化を、光物理化学・生理学・生化学など多面的に比較解析し、共生の起源、葉緑体の進化に決定的な役割を持つ環境応答因子を明らかにすべく、解析を行った。 その結果、サンゴ共生藻が宿主刺胞動物などが発する緑色蛍光への正の走行性を持ち、共生が成立する初期段階に関わる共生体誘引の過程で光情報伝達が重要な役割を果たすこと (Aihara et al. 2019)、高温ストレスにより褐虫藻とモデル刺胞動物のセイタカイソギンチャクとの共生安定性が低下する過程で、特定の細胞小器官の機能に關与する代謝酵素の遺伝子発現量制御を大きく変化させ、環境変動に応答すること (Ishii et al. Under review) などを示すことができた。こうした研究成果は、今後の共同利用研究を加速させるだけでなく、新たな「サンゴ共生系」コミュニティ創成につながる共同研究の立上げにも有効であり、さらに充実させていきたい。
研究成果発表等の予定	• Ishii, Y., S. Maruyama, K. Fujimura-Kamada, N. Kutsuna, S. Takahashi, M. Kawata, J. Minagawa (2018) Isolation of uracil auxotroph mutants of coral symbiont alga for symbiosis studies. Scientific Reports 8:3237 • Aihara Y, Maruyama S, Baird AH, Iguchi A, Takahashi S, Minagawa J (2019) Green fluorescence from cnidarian hosts attracts symbiotic algae. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 116:2118-2123. • Ishii Y, Maruyama S, Takahashi H, Aihara Y, Yamaguchi T, Yamaguchi K, Shigenobu S, Kawata M, Ueno N, Minagawa J. Global shifts in gene expression profiles accompanied with environmental changes in cnidarian-dinoflagellate endosymbiosis. Under review.
備考	特になし

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

令和 元 年 5 月 16 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 理化学研究所
氏名： 濱田 博司

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	マウスノード繊毛のカルシウム動態の観察		
課題番号	18-322		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者			
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	理化学研究所生命機能科学研究センター	研究員	水野 克俊
	理化学研究所生命機能科学研究センター	研究員	井手 隆広
	理化学研究所生命機能科学研究センター	研究員	峰岸 かつら
	理化学研究所生命機能科学研究センター	国際プログラムアソシエイト	Wangkyaw Twan
	理化学研究所生命機能科学研究センター	テクニカルスタッフ I	Sai Xiao Rei

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本課題では、マウス胚において左右軸形成に必須であるノードと呼ばれる部位において、繊毛におけるカルシウムの動態の詳細な可視化を目指した。そのために、Ca²⁺センサーGCaMP6 および mCherry を発現させるトランスジェニックラインや細胞質で RGECO1、繊毛において GCaMP6 を同時発現するラインを作製した。これらのマウスを用いて、我々はすでに繊毛、細胞質において Ca²⁺濃度変化を可視化することに成功し、左右決定機構への関わりを示す予備的データを取得しつつある。共同利用研究としては、実験系の協議や画像解析についてのディスカッションを行い、とくに、ライトシート顕微鏡による観察を行い、ライトシート顕微鏡の利用が有効であることが示された。現在、論文執筆に必要なデータの継続的な収集を行っており、また、さらなる共同研究による新たな実験解析も計画する。とくに、繊毛への刺激の実体を明らかにする実験に取り組む予定である。
研究成果発表等の予定	研究成果は日本発生生物学会など諸学会で発表を行う。また、研究経過をまとめて国際雑誌に投稿予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 3 月 31 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京理科大学
氏名：宮川信一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	発生期のホルモン環境に依存する生殖器の発達		
課題番号	18-323		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	渡辺英治 准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東京理科大学・基礎工学部	准教授	宮川信一
	神奈川大学・理学部	博士研究員	豊田賢治
	和歌山県立医科大学・先端医学研究所	大学院生	平野優
	東京理科大学・基礎工学部	学部生	内田翔

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究は、胚発生期のホルモン環境に依存するマウス外生殖器の形態を定量的に評価することを目的としていた。正常なマウスと、胎児期に様々なホルモン投与（アンドロゲンやアンドロゲン受容体阻害剤、エストロゲン類など）を行ったマウスの外生殖器を、CT スキャン装置を利用して定量的に解析した。造影剤にはヨウ化カリウムを用いて、データ解析は OsiriX ソフトウェアを利用した。各種パラメーターを検討し、例えばアンドロゲン受容体阻害剤やエストロゲン類を投与した雄の陰茎は、陰茎長、陰茎骨長が正常な雄に比べて小さくなった。一方で、アンドロゲンを投与した雌に曝されたメスの陰核は、陰核長、尿道長が正常な雌に比べて大きくなった。これらの表現型を、CT を用いて正確に定量化することができた。このように、本研究は外生殖器の雄化や雌化の形成異常の程度を測定するための新たな手法を確立した。今後は遺伝子改変マウスや他のホルモン投与マウスでも同様の解析を行っていく。また、遺伝子発現との連関解析も計画している。
研究成果発表等の予定	現在、RNA シーケンス解析をおこなっている。上記のヒストロジーの解析を合わせて、次年度に学会発表を行い、国際誌に発表する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ H30 年度）

2019 年 4 月 2 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 九州大学農学研究院

氏名： 荻野 由紀子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	アンドロゲン受容体の魚類二次性徴発現および繁殖行動に果たす役割の解明		
課題番号	18-324		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	基礎生物学研究所 神経生理学研究室 渡辺英治准教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	バイオリソース研究室	教授	成瀬 清
	バイオリソース研究室	助教	安齋賢
	IBBP センター	助教	竹 鶴 裕 亮

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	本研究は、環境要因に応じた柔軟な繁殖戦略の背景にある内分泌経路を介した適応機構を解析することを目的とし、アンドロゲン応答、ストレス応答の相互作用が、二次性徴発現としての形態形成及び繁殖・情動（不安）行動に及ぼす影響を解析するものである。 本年度は、CRISPR/Cas9 を用いたノックインシステムを利用し、ARα/ARβ 受容体をそれぞれ Flag タグとの融合遺伝子として発現するメダカ系統を作出し（安齋助教との共同研究）、オスの外部二次性徴として観察される尻鰭乳頭状小突起の形成過程における ARα/ARβ 受容体の発現、細胞内局在の相違をマッピングした。ARα がユビキタスな発現を示したのに対し、ARβ は尻鰭乳頭状小突起先端部に形成される未分化間葉組織及び骨芽細胞において、核への局在が観察された。これまでの ARα/ARβ 受容体変異体メダカの表現型解析から、尻鰭乳頭状小突起の形成過程には ARβ 受容体が重要な役割を果たしていることが明らかとなっており、上記 ARβ の核局在を示す細胞は、尻鰭乳頭状小突起の形成過程過程におけるアンドロゲン標的細胞であると予想された。 尻鰭乳頭状小突起の形成はコルチゾール投与で抑制効果が見られた。現在 GR ノックアウトメダカを樹立しており、今後さらに GR についても Flag タグとの融合遺伝子として発現するメダカ系統を作出し AR/GR 両経路に共通する標的細胞を同定するとともに、Flag 抗体を用いた ChIPseq により、AR-GR 経路の相互作用が分子レベルで明らかになると期待される。
研究成果発表等の予定	学会における成果発表予定 2019 年度 第 90 回日本動物学会シンポジウム 魚類の繁殖～多様すぎる形態と生理に分子生物学のメスを入れる～ 2019 年度 第 42 回日本分子生物学会ワークショップ ステロイドホルモンバイオロジー：技術革新とリバースジェネティクスが切り開くステロイドホルモン研究の新たな潮流 論文発表予定 （仮題：Different contribution of AR paralogs on sex characteristics development in medaka）
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018年度）

2019年4月10日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：名古屋大学大学院創薬科学研究科
氏名：人見清隆

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	タンパク質架橋化酵素および関連する遺伝子産物の生理的意義の解明		
課題番号	18-325		
研究期間	2018年4月1日 ～ 2019年3月31日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	名古屋大学・大学院創薬科学研究科	技術補佐員	渡邊優子
	名古屋大学・大学院創薬科学研究科	大学院生	鈴木里沙
	名古屋大学・農学部(創薬科学研究科)	研究生	Meng Qi (マン・チー)
	基礎生物学研究所	特任教授	成瀬清

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	「概要」 高等動物において特定のタンパク質が不可逆に架橋される反応が生命維持に必須な反応として存在する。この触媒反応はトランスグルタミナーゼというカルシウム依存性酵素によってなされる。ヒトでは「血液凝固」「皮膚表皮形成」「死細胞処理」などを始めとする多彩な生命現象に関与しており、本反応の制御が正常に行われないと疾患症状となる。酵素ファミリーにおいて、ヒトでは8種類の酵素群が存在し、それぞれが独自の組織分布と役割をもつ。メダカにおいてもこの酵素群があることが判明し、これまでこの個別共同研究を通じて、生化学的解析、遺伝子欠損個体の作製のアドバイスを受けながら行い、その表現型について共同利用の中で、メダカでの生理機能解明と薬剤スクリーニングのモデル系としての可能性を探索することを目的とした。 本年度は現在論文執筆中の(酵素名 OITGT)、基生研において行った行動解析についてアドバイスを仰いだ。これは昨年度まで所属研究員のご指導の下、変異させた個体の行動解析で遊泳距離を定量的に観察して表現型を解析したものについて本年度も実験は行わなかったものの、意見を頂いた。 また、高い浸透圧溶液下で、特に稚魚の生存率が低いことについて、本年度は下に示す論文発表を行えた。その際には執筆についての相談をし助言を頂いた。 〔今後の展望〕 今後は、酵素に関連するタンパク質(血液凝固因子)も対象に進めると共に、得られた変異体の特長を活かして、薬剤スクリーニングにどのように用いられるか、の視点で有益な助言、討論を基に、これ以外の表現型解析、情報収集を個別利用によって行いたい。 また、受精卵への導入については独自に行ってきたことが効率性の上昇を妨げているので、改めてアドバイスを受け倣いたい。 ＜本年度発表論文＞ Higher susceptibility to osmolality of the medaka (<i>Oryzias latipes</i>) mutants in orthologue genes of mammalian skin transglutaminases. Watanabe Y., Furukawa E. Tatsukawa H., Hashimoto H., Kamei Y., Taniguchi Y., Hitomi K., Biosci. Biotechnol. Biochem. Jul; 82(7), 1165-1168 (2018)
研究成果発表等の予定	タンパク質架橋化酵素 OITGT のより詳細な生化学的解析と、変異体の遊泳速度が遅いこと、について論文投稿をする予定である。現在論文を執筆中で、FASEB Journal に投稿を予定している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

2019 年 5 月 31 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：名古屋大学生物機能開発利用研究センター
氏名：北 島 健

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	モデル小型魚類利用によるシアル酸代謝とその機能解明研究		
課題番号	18-326		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所 生物機能解析センター・工学解析室	特任准教授	亀井保博
	基礎生物学研究所 バイオリソース研究	准教授	成瀬清
	名古屋大学生物機能開発利用研究センター	准教授	佐藤ちひろ
	名古屋大学 生物機能開発利用研究センター	研究員	呉迪 (Wu Di)
	名古屋大学 生命農学研究科	大学院生	傅博 (Fu Bo)
	名古屋大学 生命農学研究科	大学院生	ERTUNC Nursah
	名古屋大学 生命農学研究科	大学院生	大本 敬之

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	まず、CSS については、平成 28 年度までに、Medaka TILLING ライブラリーから CSS の点変異体メダカ M1 と M2 の 2 種類を樹立した。また、TALEN 法によって CSS ノックアウトメダカも樹立した。これらの解析を進めた結果、いずれも致死表現型を示すこと、ヘテロ交配により得たホモ体メダカについては、M1 が孵化直前(8.5 日胚)に致死となる一方、M2 とノックアウトは 3 週間で (21 日胚) 致死となることがわかった。興味深いことは、M2 の表現型がノックアウトメダカのそれと酷似している点であり、調査の結果、M2 の生合成する CSS が翻訳後不溶性になり、見かけの酵素活性が著しく低下する事が判明した。M1 については、致死となる時期の脳の形態異常とアポトーシスマーカーの増加が見られることから、細胞死が原因であると推定される。現在、成瀬グループがもつノックイン技術を用いて、CSS の脳特異的なノックアウトメダカの作出、CSS の機能未知 C ドメインを欠失させた触媒活性ドメインのみからなる CSS を発現するメダカの作出をゲノム編集法によって行うことを計画している。 また、α 2,6-シアル酸転移酵素 I と II に着目して、Crispr-Cas9 法を用いてそれぞれの欠失メダカの樹立を行い、ほぼその変異体メダカが樹立できた。今後、初期胚における表現型を観察してシアル酸残基の重要性を検証する予定である。
研究成果発表等の予定	まず、CSS のノックアウト変異体と CSS 点変異体の 3 種類のメダカの研究から、CSS の個体発生における重要性の証明の論文を投稿する予定である。国内の学会（日本生化学会、日本糖質学会）にも成果報告する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018年度）

2019年4月5日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪府立大学・総合リハビリテーション学研究科
氏名：神谷 重樹

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	歯周病のメダカ感染モデル作製についての検討		
課題番号	18-327		
研究期間	2018年4月1日 ～ 2019年3月31日		
所内対応者	亀井 保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	大阪府立大学 総合リハビリテーション学研究科	博士前期課程2年	和田 衣里佳
	大阪府立大学 総合リハビリテーション学研究科	博士前期課程1年	三宅 彩優奈
	大阪府立大学 総合リハビリテーション学研究科	博士前期課程1年	有蘭 安香音
	大阪府立大学 総合リハビリテーション学類 栄養療法学専攻	3年	上木 綾乃

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	メダカ胚、幼生あるいは成魚を用いた歯周病及び関連疾患モデルを作製する。 1) 歯周病骨吸収モデルの作製 メダカなどの硬骨魚ではウロコに骨芽細胞と破骨細胞が存在し、体内のカルシウムの恒常性を保つために骨形成と骨吸収のリモデリングを繰り返している。そこで成魚から麻酔下でウロコを採取し、慢性歯周病原細菌 <i>P. gingivalis</i> または侵襲性歯周病原細菌 <i>A. actinomycetemcomitans</i> を加えて培養した。96 時間の培養後にウロコの破骨細胞や骨芽細胞からタンパクを抽出し、ALP 活性（骨芽細胞分化）と TRAP 活性（破骨細胞分化）を調べたが、いずれの菌においても非感染、感染の比較では TRP/ALP に有意な差は認められなかった。またウロコ採取時の成魚の状態によりデータのばらつきが大きいことも分かった。 2) 歯周病関連の全身性感染モデルの作製 メダカの受精卵に <i>P. gingivalis</i> または <i>A. actinomycetemcomitans</i> をマイクロインジェクションし、その後の生死や生育や循環器系など臓器の発達に関する影響を解剖学的に評価することとした。受精後のメダカ胚を用いて、メダカ胚の一細胞期に①卵黄②細胞質に <i>P. gingivalis</i> をインジェクションしたところ、いずれについても、コントロールの PBS と生存率に差が有ることがわかった。また基礎生物学研究所で実施した結果を申請者の機関でもほぼ再現することができた。今後はインジェクションする菌量を変化させ、菌量に生存率が依存するか、生死以外の表現型が現れるかを検討する予定である。 3) メダカのヒト生活習慣モデルを用いた歯周病原細菌による重症化の検討 歯周病との関連が示唆されている生活習慣病（糖尿病、NASH、骨粗鬆症）についてメダカのモデルに <i>P. gingivalis</i> を感染または LPS などの菌体成分をインジェクションした場合の重症化を検討する目的でまず論文で報告されている NASH モデルの確立を目指し、実験を開始した。
研究成果発表等の予定	現時点では発表の予定はない。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：重井医学研究所

氏名：松山誠

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	2 型糖尿病モデルメダカのためのモノクローナル抗体の作製		
課題番号	18-328		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所	特任教授	成瀬清
	杏林大学	助教	菅田慎一

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	重井医学研究所にて、メダカインスリンを抗原としてラット腸管リンパ節法により合成したハイブリドーマからそれらの培養上清を得た。杏林大学にて、得られたハイブリドーマの培養上清について、メダカ血中インスリン測定系に用いることが可能かどうか検討した。候補となる複数のハイブリドーマのうち1種類がメダカ血中インスリン測定系に用いることが可能であると分かった。次に化学合成したメダカインスリンとそれに類似するペプチドを用いて該当のハイブリドーマ上清の反応特異性を調べた。その結果、該当のハイブリドーマ上清は化学合成したメダカインスリンに特異的に反応することが分かった。来年度はメダカ血中インスリンを用い、メダカの血中インスリン測定系の確立を目指す。これにより半永久的に再現性を保つメダカインスリン測定系を確立でき、今後の小型魚類研究の発展に貢献すると考えている。
研究成果発表等の予定	この測定系を用いた研究成果を第 73 回日本栄養・食糧学会のシンポジウムで発表予定である。またこの測定系を用いた研究成果を原著論文として日本毒性病理学会の学術誌に発表予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 6 月 10 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：広島大学両生類研究センター
氏名：井川 武

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	リュウキュウカジカガエルの高温耐性獲得に関わる HSF1 の分子進化及び機能解析		
課題番号	18-329		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	広島大学両生類研究センター	教授	荻野 肇
	広島大学大学院理学研究科	准教授	富樫 祐一
	広島大学理学部	学部学生	野田 達也

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究課題は西南諸島において温泉に適応したリュウキュウカジカガエルの HSF1 遺伝子に着目し、高温適応と生体機能の変化をもたらすメカニズムを明らかにすることを目的として研究を行っている。本年度は、高温暴露時の遺伝子発現パターンとタンパク質機能について詳細に調べるため、温泉に生息するトカラ列島・口之島産の幼生を 25℃～35℃までの定常状態で飼育した 3 群と、25℃から 35℃に移して高温暴露した 1 群の計 4 群について発現変動遺伝子と HSF1 の発現を RNA-seq により確認した。RNA はステージ 30 の幼生各群 3 個体の全身から抽出し（合計 12 サンプル）、次世代シーケンサーに供した。その結果、熱ショックタンパク質（HSP）ファミリーをはじめとする温度応答に関連した遺伝子が高温飼育個体で発現上昇しており、HSF1 遺伝子も確認された。これらの結果は所内対応者ら（亀井特任准教授、坂本リサーチフェロー）と共有し、HSF1 遺伝子およびそのアイソフォームの幼生、及び生体における部位特異的発現の確認に用いられた。現在、報告者らはリュウキュウカジカガエル及び、低温適応した近縁種であるカジカガエルの新規ゲノム決定を進めており、今回発現変動が確認された遺伝子群のゲノム内での遺伝子構造及び、エンハンサー等の発現調節因子を同定する予定である。また、その他に主要な役割を果たすと考えられる遺伝子については、両生類モデル動物であるネッタイツメガエルにおいてゲノム編集によって同祖遺伝子をノックアウトし、機能解析を行う。
研究成果発表等の予定	遺伝子発現解析の結果について学会発表を行う（日本動物学会第 90 回大阪大会）。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018年度）

2019年 4月 23日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：慶應義塾大学生物学教室
氏名：林 良信

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	シロアリにおける社会免疫機構の解明		
課題番号	18-330		
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	シロアリは、多数の個体が集合して社会を形成し、分業を行う。シロアリでは、分業によって伝染性病原生物へ対処していると予想されるものの、それが実証された例はなかった。本研究では、その実証に向けて様々な調査・実験をおこなった。まず初めに、病原生物を感染させるための操作法を確立するとともに、シロアリに対して病原性を持つ微生物を明らかにするため、昆虫病原菌として良く知られている <i>Metarhizium anisopliae</i> と <i>Beauveria bassiana</i> の孢子懸濁液にシロアリのワーカーを浸し、生存率を調べた。その結果 <i>M. anisopliae</i> では実験処理をした個体はほぼ全て死んだが、本研究で用いた <i>B. bassiana</i> 株では死亡率は対照実験のものと違いはなかった。さらに、ワーカーだけでなく、それ以外の階級、すなわちソルジャーとニンフも使い、<i>M. anisopliae</i> と <i>B. bassiana</i> の孢子懸濁液で処理し、階級間で生存率に違いがあるか調べたところ、大きな違いはないことが明らかになった。また、<i>M. anisopliae</i> の孢子懸濁液で処理した個体を未処理個体群に導入し、感染が拡大するかを調べた。その結果、感染は拡大し、ほとんどすべてのワーカーが死亡した。今後は、個体が死なない程度に孢子密度を低くした孢子懸濁液を用いて、感染個体に対する各階級個体の行動を調べるなど、階級間の行動における違いを調べる。また、<i>M. anisopliae</i> 感染後の遺伝子発現の変化を階級ごとに調べることで、分子レベルの違いも調べていく。
研究成果発表等の予定	今後研究結果をまとめて、国際誌へ投稿する。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（H30 年度）

2019 年 4 月 16 日

基礎生物学研究所長 殿

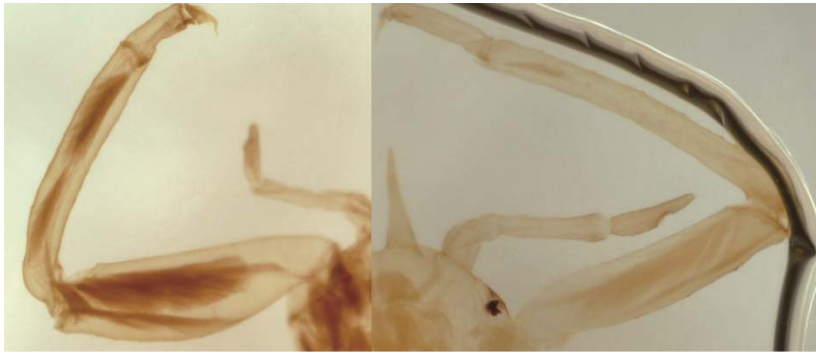
報告者 所属：長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科
氏名：服部 充

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	<u>社会性アブラムシの兵隊カーストに関する生態進化発生学的研究</u>		
課題番号	18-331		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治（生物機能解析センター・生物機能情報分析室）		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	社会性アブラムシは、「兵隊カースト」と呼ばれるコロニーの防衛を担う個体を産出する。本研究で研究材料としたササコナフキツノアブラムシ <i>Ceratovacuna japonica</i> とタケツノアブラムシ <i>Pseudoregma bambucicola</i> も、その形態が防衛に特化した兵隊カーストを産出する。両種ともに、兵隊カースト個体が捕食者に前脚でつかみかかり、頭部にあるツノで突き刺すという方法で防衛を行なう。そこで、本研究では、別属ではあるものの似た生態をもつ両種の兵隊カーストがもつ外部形態と内部形態は、その機能から同様であると仮説をたて、調べた。 その結果、両種の兵隊カースト個体ともに外部形態だけでなく内部形態(図)も似ていることが明らかになった。特に、両種の兵隊カースト個体は、前肢腿節において脛節を閉じることに特化した筋肉構造を持っていた。 この成果を受け、今後はタケツノアブラムシにおいてもササコナフキツノアブラムシと同様の兵隊カースト個体のサイズ変異が、存在するのかを検証する。また、サイズ変異が認められた場合には、どのような遺伝的メカニズムによって変異が生じるのか種間で比較しながら探っていく予定である。  図: ササコナフキツノアブラムシ(左)とタケツノアブラムシ(右)における前肢の透明標本
研究成果発表等の予定	これからの成果とともに国内学会、国際学術誌での発表を予定している。

備考	
----	--

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019年4月5日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 琉球大学
氏名： 北條 優

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	キノコ栽培を行うシロアリの栽培共生システムを司る分子機構の解明		
課題番号	18-332		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治(特任准教授)		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	【目的】 農業を行う動物として有名なキノコシロアリは、働きアリが木をかじり取り未消化のまま腸を通過して出した糞を用いて巣内で菌床(菌園)を作り、そこで担子菌(オオシロアリタケ)を栽培し、その菌糸の塊や菌によって分解が進んだ菌園を餌として摂食する。本研究では、菌園管理におけるカースト分業や栽培共生機構について、フィールドを用いたマクロな手法と、分子生物学的手法を用いて研究を行った。 【成果】 日本には、八重山諸島と沖縄島に 1 種のキノコシロアリ(タイワンシロアリ)が分布しているが、栽培しているオオシロアリタケ属菌は 2 種類存在している。これまで日本のオオシロアリタケ属菌の子実体は大型で偽根を持つもののみが知られていたが、フィールド調査および分子系統解析の結果、小型で偽根を持たない子実体を発見し、「イケハラオオシロアリタケ」と和名を提唱した(Hojo and Shigenobu 2019)。 また、タイワンシロアリの各種カーストを用いて、HiSeq による RNA シークエンシングを行った。得られたリードを用いて de novo アセンブリを行い、遺伝子のカタログを構築した。それらの中から、派生的なシロアリの兵隊の防衛物質として知られるジテルペンの合成に関わるゲラニルゲラニルニリン酸(GGPP)合成酵素の遺伝子のコンティグを特定した。この遺伝子は他の生物ではシングルコピーであるのに対し、派生的なシロアリでは多重化しているが、タイワンシロアリでは 3 つの遺伝子の存在が明らかになった。また、GGPP 合成酵素遺伝子は、他のシロアリではカースト特異的な発現を示すが、タイワンシロアリではカースト特異的な発現をしないことが明らかになった。各種シロアリの GGPP 合成酵素遺伝子の分子進化、発現解析をまとめ、現在論文執筆中である。 【考察及び展望】 タイワンシロアリが栽培する小さなきのこ(イケハラオオシロアリタケ)は、一般的なオオシロアリタケとは異なる発生様式を示すと考えられる。今後は、イケハラオオシロアリタケの子実体の発生段階におけるトランスクリプトーム解析を行い、子実体の発生に関わる遺伝子の特定を行うとともに、子実体発生にシロアリがどのように関わっているのかを明らかにする。 また、これまで行ってきたビデオ撮影を用いたタイワンシロアリの行動観察から、菌園を管理するワーカーの分業が示されたことから、比較トランスクリプトーム解析から、ワーカーの分業に関わる遺伝子の特定を行い、菌園管理の分子機構を明らかにする。
研究成果発表等の予定	・北條優, 保坂健太郎, 重信秀治. 2018. 日本のキノコシロアリが育てるもう 1 種のオオシロアリタケ属きのこ. 日本菌学会第 62 回大会講演要旨集 41. ・北條優, 重信秀治, 前川清人, 三浦徹, 徳田岳. 2018. ゲラニルゲラニルニリン酸合成酵素遺伝子がシロアリ兵隊の防衛戦術を進化させた. 日本昆虫学会第 78 回大会プログラム・講演要旨 48. ・Hojo, M., Shigenobu, S. 2019. A new finding of small fruiting bodies lacking pseudorhiza of <i>Termitomyces</i> (Basidiomycota, Agaricales, Lyophyllaceae) associated with Japanese fungus-growing termite <i>Odontotermes formosanus</i> (Arthropoda, Blattodea, Termitidae). Biol. Mag. Okinawa 57, 51-64.
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 9 日

基礎生物学研究所長 殿

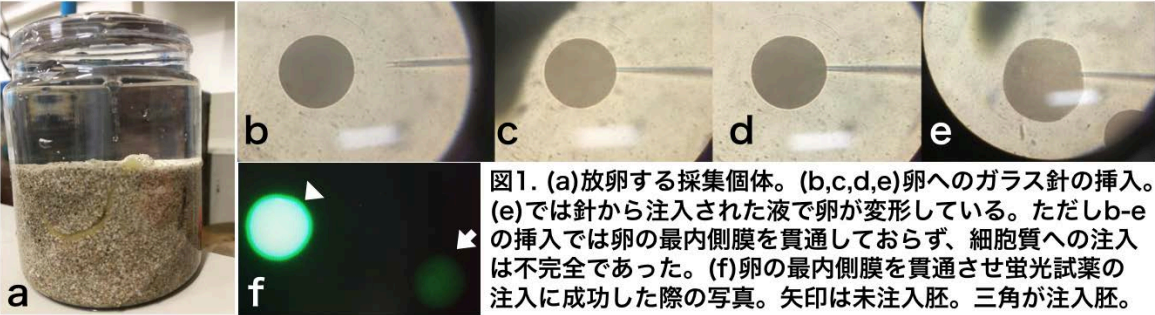
報告者 所属：ROIS・国立遺伝学研究所
氏名：川島 武士

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	半索動物ギボシムシの遺伝情報と形態情報の整備及びそのゲノム編集系の確立		
課題番号	18-333		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	高橋弘樹		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	広島大学・理学研究科	准教授	田川 訓史
	慶應義塾大学・理工学部・生命情報学科	専任講師	堀田 耕司

（裏面に続く）

研究 成 果 の 概 要 及 び 今 後 の 展 望	2018 年度もサンプルの取得に苦労した為に、予定のインジェクション実験および発生初期胚の固定サンプルの取得は果たせなかった。しかしながら、予定外のタイミングで一度だけインジェクションの機会を得たので報告しておく。2019 年 2 月 18 日~21 日の期間、筑波大学の下田臨海実験所近く(九十浜)でシモダギボシムシ (<i>Balanoglossus simodensis</i>)の放卵のタイミングに居合わせた。この際、川島と同道していた JAMSTEC の宮本教生博士が採集した成体数匹が採集のショックによって放卵と放精をし、これを用いた受精卵を得ることができた。なお、宮本氏は <i>B. simodensis</i> の記載者である。この卵に対し、同臨海実験センターの谷口俊介准教授と谷口順子研究員によって、ウニ等に用いているインジェクションシステムによる GCaMP インジェクション実験が行われ、胚を壊さずに針を挿入させることは、容易ではないが十分可能であることが確認できた。また挿入可能なのは受精後のある短い時間に限られるだろうとの示唆が得られた。卵をホールドできるチャンバーの利用や、注入時海水に ATA（還元剤）を入れることで、さらに成功率が上がるだろうとのサジェスチョンを谷口氏らから得た。  図1. (a)放卵する採集個体。(b,c,d,e)卵へのガラス針の挿入。(e)では針から注入された液で卵が変形している。ただしb-eの挿入では卵の最内側膜を貫通しておらず、細胞質への注入は不完全であった。(f)卵の最内側膜を貫通させ蛍光試薬の注入に成功した際の写真。矢印は未注入胚。三角が注入胚。
研究 成 果 発 表 等 の 予 定	未定
備 考	サンプルの取得だけでなく、胚へのインジェクション操作が非常に困難であることが知られているギボシムシであるが、いくつかの幸運が重なって、今年度は実際のインジェクションを目の当たりにすることができた。詳細を記載しないが、この際の記録によって、今後の条件設定に有用なデータが多く得られた。急な機会にサンプリングとインジェクション実験の対応をしてくださった、JAMSTEC の宮本教生氏と筑波大学の谷口俊介・谷口順子両氏に深く感謝いたします。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 20 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京大学大学院農学生命科学研究科
氏名： 舘川 宏之

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	出芽酵母前孢子膜形成におけるPP1(Gip1-Glc7)のターゲットの探索		
課題番号	18-334		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	鎌田 芳彰 博士		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東京大学大学院農学生命科学研究科	修士 1 年	棟重 賢治
	東京大学大学院農学生命科学研究科	学振 PD	中村 毅
	東京大学大学院農学生命科学研究科	特任研究員	井上 一朗

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	研究成果の概要 前孢子膜伸長に必須な PP1(Gip1-Glc7)のターゲットを明らかにすることを通して、膜形成の分子機構に迫ることを目指している。本研究では、まず、野生株と <i>gip1</i>Δ株に、転写因子の発現を薬剤で誘導することにより孢子形成を同調させるためのシステム(Ndt80 Block release sysytem)を組み込んだ。これらの株で孢子形成を誘導して、タンパク質を抽出し、ペプチドまで分解したのち、Fe-NTA-Agaroseを用いてリン酸化ペプチドを精製し、MS 解析を行った。本年度は、野生株を用いた解析を行い、多くのリン酸化ペプチドの同定に成功した。Gip1 そのものを含め、孢子膜形成に必須な多くの因子由来のリン酸化ペプチドが同定できており、孢子形成時のリン酸化部位を網羅的に検出できたものとする。以上のように、今年度は孢子形成時のリン酸化ペプチドを検出する実験系を確立することに成功した。 今後の展望 今回の実験で確立した、孢子形成時のリン酸化ペプチドの網羅的同定の手法を用いて、野生株と <i>gip1</i>Δ株の比較を行ってターゲットを同定して解析することにより、PP1 複合体の関与する膜伸長の分子機構の解明につなげたい。
研究成果発表等の予定	未定。 今後、研究を進めて発表したい。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 26 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 国立遺伝学研究所

氏名： 野々村 賢一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	内在性トランスポゾン DART の転移を利用したイネ生殖関連遺伝子の同定		
課題番号	18-335		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	梅根 一夫		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	国立遺伝学研究所・技術課	技術職員	柏原美紗子
	国立遺伝学研究所 実験圃場	ポスドク	小野聖二郎

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	水稻品種コシヒカリに交配により導入した内在性トランスポゾン nDART の転移と遺伝子破壊が原因で、種子稔性をほぼ失った個体が分離する 2 系統 (12 個体／系統) を選抜し、自殖後代での分離から 12 個体それぞれの遺伝子型を特定した。各系統の 12 の分離個体のそれぞれの成葉から DNA を抽出し、nDART 挿入配列を利用したトランスポゾンディスプレイ (TD) を実施した。TD では、3 種類の 4 塩基認識制限酵素を用いて切断した DNA 断片にアダプターを付加し、アダプター配列と蛍光ラベルした nDART 内部配列をプライマーとして、nDART 隣接ゲノム配列を増幅した。増幅断片はキャピラリーシーケンサーで泳動し、DNA 断片の有無を個体間で比較した。 その結果、種子不稔性の表現型との連鎖が示唆されるいくつかの TD バンドが系統のそれぞれで検出された。増幅断片は再度ポリアクリルアミドゲル電気泳動し、該当するバンドを含むゲルを切り出し、現在、含まれる DNA 断片のクローニングとシーケンスをすすめているところである。 今後は、隣接配列情報を元に種子不稔の原因遺伝子を特定することで、および詳細な表現型解析および遺伝子機能解析が可能となる。
研究成果発表等の予定	該当なし
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 30 年度）

31 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 岡山大学 資源植物科学研究所
氏名： 前川雅彦

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	DNA トランスポゾンによる優性わい化変異体 Bdt2 の解析と挿入領域の網羅的解析法の開発		
課題番号	18-336		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	梅根一夫		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	岡山大学	大学院生	邱琬貽（Wan-Yi Chiou）

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	イネの DNA 転移因子 <i>nDart1</i> の転移系統からは、しばしば優性（顕性）変異体が出現する。この優性変異を利用して新奇の育種素材を開発することを目指している。種子が大粒化した変異体である <i>Large grain(Lgg)</i> は、この <i>nDart1</i> をコシヒカリに交配によって導入して変異体を育生している集団から分離した。<i>Lgg</i> 変異は一遺伝子に支配される優性変異であるので、<i>nDart1</i> の挿入領域の同定法である <i>nDart</i> トランスポゾン・ディスプレイ法によって原因遺伝子の同定を試みた。この研究を進展させて、(1) 野生型における <i>LGG</i> 遺伝子の機能解析、(2) 優性の <i>Lgg</i> 変異となっている原因の解明と育種素材としての評価、(3) 新たな優性変異体の分離と解析を行うことを試みることを目標とする。 ほ場において <i>Lgg</i> 変異体の 85 個体の F2 集団を育成して、大粒の性質を解析したところ、<i>Lgg</i> 変異体の粒の長さの平均は、5.42mm で合ったのに対して、分離した野生型は 4.95mm であった。ヘテロ型は中間型の 5.15mm となり、不完全優性の遺伝を示した。また、100 粒あたりの重量も野生型にたいして、109% の上昇が見られた。稔性は野生型の 95% にたいして、75.6% と低い傾向が示されたが、他の性質については大きな違いは観察されなかった。この <i>Lgg</i> の大粒化の原因が細胞数の増加なのか、細胞の大きさの違いなのかを調べるために、籾および胚乳で細胞を観察する凍結切片法を開発した。<i>Lgg</i> の変異体の種子の細胞の大きさは変わっておらず、細胞の数が増えて増加していることが明らかにした。<i>Lgg</i> 変異では、原因遺伝子の発現低下を確認できた。ゲノム編集によって <i>LGG</i> 遺伝子のゲノムを破壊したところ、種子の大粒化が確認できた。逆に <i>LGG</i> 遺伝子の発現を上昇させると種子の小粒化を引き起こすことができた。 <i>nDart1</i> が活発に転移する系統 MK-1 を年間 3000 系統育生した。その中には様々な変異体が出現しているが、新たな変異体として不完全優性で分げつが増えわい性となる <i>Bushy dwarf tiller 2</i> 変異体(<i>Bdt 2</i> 変異体)など複数の変異体も分離した。<i>Bdt2</i> 変異は、2 因子によって優性変異を引き起されていることが明らかになった。
研究成果発表等の予定	原著論文 Chiou WY, Kawamoto T., Himi E., Rikiishi K., Sugimoto M., Hayashi-Tsugane M., Tsugane K., Maekawa M. (2019) <i>LARGE GRAIN</i> encodes a putative RNA-Binding protein that regulates spikelet hull length in rice, <i>Plant Cell Physiol</i> 60, 503-515, doi.org/10.1093/pcp/pcz014 Chiou WY, Tsugane K, Kawamoto T, Maekawa M. (2018) Easy sectioning of whole grain of rice using cryomicrotome. <i>Breed Sci.</i> 68, 381-384. doi: 10.1270/jsbbs.

備考	
----	--

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

平成31年 4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 東北大学大学院

氏名： 中山 亨

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植物の代謝調節と効率的な物質生産機構の解明		
課題番号	18-337		
研究期間	平成30年 4月 1日 ～ 平成31年 3月31日		
所内対応者	星野 敦		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東北大学大学院工学研究科	助教	和氣 俊之
	東北大学大学院工学研究科	修士2年	中野 拓也
	理化学研究所・環境資源科学研究センター・統合メタボロミクス研究グループ	上級研究員	榊原 圭子
	名城大学農学部附属農場	准教授	森田 裕将

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究では、アサガオから発見されたフラボノイドの生産に寄与する新規タンパク質、フラボノイド生合成促進因子（EFP）の機能発現機構の解明を試みている。これまでの研究から、コケ植物から被子植物まで 12 種の陸上植物において、EFP タンパク質がカルコン合成酵素（CHS）と相互作用することを確認している。また、これらの EFP が試験管内で CHS 活性を増強できることが示唆されている。 今年度は、EFP と CHS が相互作用するドメインを、酵母ツーハイブリッド法などを用いて探索した。また、組換えタンパク質を用いて、阻害剤、中間産物、副産物の存在下における CHS の試験管内活性に EFP が与える影響についても解析した。詳細なデータが蓄積してきており、論文化に向けた詰めの解析を進めている。一方、基礎生物学研究所・生物進化研究部門の長谷部光泰先生、壁谷幸子先生の協力を得て、ヒメツリガネゴケの EFP 変異体を作成いただいた。ヒメツリガネゴケには 2 コピーの <i>EFP</i> 遺伝子があるので、それぞれの変異体と 2 重変異体を作成いただいた。今後、変異体の表現型や代謝産物を調べることで、コケ植物における EFP の機能を検討し、EFP とフラボノイド合成系の進化について考察したい。
研究成果発表等の予定	本年度の成果の一部は、日本農芸化学会 2018 年度北海道支部・東北支部合同支部大会において発表した。また、これまでの共同研究の成果をまとめる論文を準備している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

平成31年 4月28日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 岡山大学 資源植物科学研究所
氏名： 池田陽子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	CRISPR/dCas9 を用いたエピゲノム編集による育種法の開発		
課題番号	18-338		
研究期間	平成30年 4月 1日 ～ 平成31年 3月31日		
所内対応者	星野 敦		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	岡山大学 資源植物科学研究所	准教授	長岐 清孝
	長岡技術科学大学大学院 工学研究科	准教授	西村 泰介
	長岡技術科学大学大学院 工学研究科	修士課程学生	相馬 敬太
	長岡技術科学大学大学院 工学研究科	修士課程学生	前地 弘基

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	エピゲノム編集による植物育種法を開発するために、配列特異的に DNA メチル化情報を変更しうる Binary vector の構築を進め、モデル植物を形質転換した。黄色ブドウ球菌由来の SaCas9 に変異を導入し、DNA 切断活性を持たない dSaCas9 (dead SaCas9) をコードする遺伝子を作製し、植物の DNA メチル化酵素あるいは DNA 脱メチル化酵素に dCas9 を融合させたタンパク質を発現させるベクターを構築した。これらの Binary vector とターゲット sgRNA を発現するカセットをシロイヌナズナに形質転換した。今後、形質転換植物の DNA メチル化の変化や表現型の変化を観察することにより実験系の有効性を確認する予定である。次年度はさらにアサガオでのエピゲノム編集を試みる予定であり、アサガオ用の Binary vector の構築を進めている。これらの結果をもとに将来的には作物におけるエピゲノム編集技術を可能にすることを目指す。
研究成果発表等の予定	エピゲノム編集についてのレビューを投稿稿準備中である。また、国立遺伝学研究所研究会をはじめとする学会発表を予定している。植物の表現型のデータが揃った段階で原著論文を投稿予定である。
備考	H30 年度分野融合ネットワーク型共同研究加速事業から、この個別共同研究についてゲノム編集技術開発を推進する課題として追加予算配分を頂き、研究に必要な試薬等の購入に使用した。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 3 月 28 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：群馬大学・生体調節研究所
氏名： 石谷 太

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	超短命メダカ <i>Nothobranchius furzeri</i> の遺伝子組換え技術の確立		
課題番号	No18-339		
研究期間	平成 30 年 6 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清/安齋 賢		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	群馬大学・生体調節研究所	助教	荻沼 政之
	群馬大学・生体調節研究所	博士課程1年	小神野 翔平

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	近年、“超短命メダカ” ターコイズキリフィッシュ <i>Nothobranchius furzeri</i>(<i>N. furzeri</i>)が、欧米において老化研究のモデル動物として注目されている。従来の老化研究においては、線虫やハエ、マウスなどが重用されてきたが、線虫やハエは確かに寿命が短いものの無脊椎動物であるがためにヒトの老化メカニズムの理解のためのモデルとしては十分でなく、また、マウスは寿命が3～4年あるため、長大な時間を研究に要するという問題があった。一方で、<i>N. furzeri</i>は、寿命が平均6ヶ月であり、飼育法が確立された脊椎動物の中で寿命が最も短い。さらに、<i>N. furzeri</i>の中でもより短い短命野生型系統（GRZ 系統：寿命は3ヶ月）も存在する。現在、欧米では、<i>N. furzeri</i>の長命系統と短命系統あるいは若齢個体と老齢個体を用いた、比較ゲノム解析や組織解析が精力的に行われており、未知の老化メカニズムが姿を現わしつつある。しかしながら、<i>N. furzeri</i>の遺伝子組換え技術は十分に確立されておらず、変異体やレポーター系統などの報告はほとんどない。また、国内で <i>N. furzeri</i>を扱う研究室はまだわずかである。そこで、本研究では、<i>N. furzeri</i>の遺伝子組換え技術（CRISPR/Cas9 による組換えやレポーター遺伝子の組み込み）の確立を目指す。 具体的には、基礎生物学研究所バイオリソース研究室を訪問し、成瀬先生、安齋先生から <i>N. furzeri</i> の近縁種であるメダカ（<i>Oryzias latipes</i>）の飼育や遺伝子組換えに関する最新情報、最新技術を教えていただいた。この情報をもとに <i>N. furzeri</i>における CRISPR/Cas9 による組換え、レポーター遺伝子の組み込みの技術確立を行った。その結果現在までに、3つの遺伝子破壊系統、3つのレポーターTG 系統の作出に成功した。今後はこれらの系統を用いた解析を行い、論文投稿を目指す。
研究成果発表等の予定	2019 年度中に論文を執筆し、2020 年度での発表を目指している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2018 年 4 月 23 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：京都大学生命科学研究科
氏名：酒巻 和弘

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	光操作による細胞死誘導システムの開発と遺伝子組換えメダカの創出		
課題番号	18-340		
研究期間	2018年7月1日 ～ 2019年3月31日		
所内対応者	バイオリソース研究室・成瀬清教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	京都大学・生命科学研究科	大学院修士過程1年	高木 菜那

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究では、生きた個体において特定の細胞や組織に対して細胞死（アポトーシス）を人為的に誘導できるモデル動物の開発を目的とし、その第1段階としてアポトーシス実行因子を発現するトランスジェニックメダカを樹立することを試みた。 最初に、全身性に導入遺伝子 pMag-CASP8 を発現させるために、CMV プロモーターを繋いだプラスミドコンストラクト “CMV:pMag-CASP8” を作製し、さらに自己切断能を持つ 2A ペプチドと蛍光タンパク質 Venus をそれぞれコードする DNA 断片を繋ぎ合せた “CMV:pMag-CASP8-2A-Venus” を構築した。これをメダカの受精卵に導入し、発生途中の胚を顕微鏡観察による蛍光の有無でもって遺伝子導入の成否を判定した。導入胚において Venus の蛍光が認められなかったため、2回目の導入実験ではメダカ由来の β アクチン遺伝子のプロモーターに挿げ替えたコンストラクト “OIβAct:pMag-CASP8-2A-Venus” を構築し、同様に受精卵に遺伝子導入を試みたところ、蛍光を発する胚を見出すことができた。 並行して、メダカ由来の神経細胞特異的遺伝子 GAP43 のプロモーターを使って、メダカの脳の神経細胞で融合遺伝子が特異的に発現するメダカの創出を試みた。導入する遺伝子には、2A と赤色蛍光タンパク質 mCherry を付加することによって、前者の導入遺伝子と個体内で識別可能にするようにデザインした。出来上がったコンストラクト “OIβGAP43:nMag-CASP8-2A-mCherry” を受精卵に導入して蛍光顕微鏡下で、導入胚における mCherry の発現の有無を判定した。年度内に3回の導入実験を試みたが、いずれも mCherry 陽性の胚を特定することができなかった。GAP43 プロモーターの稼働力が β アクチン遺伝子のプロモーターに比べて弱く検出が困難である可能性も考慮し、ポジティブコントロールとして GAP43:EGFP のコンストラクトを用いて導入実験を行ったところ陽性胚が認められたことから、導入量を増やせば作製したコンストラクトによって mCherry 陽性胚を作り出せる可能性があることが判明した。 現時点ではトランスジェニックメダカとして成魚まで生育させることができていないが、最終実験では稚魚を3ヶ月まで育てることに成功している。よって、各種条件設定が整えば、今後2種類のトランスジェニックメダカの樹立が期待できる。
研究成果発表等の予定	特になし。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 20 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪府立大学

氏名：秋山康紀

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	アーバスキュラー菌根菌の共生や分化を制御するシグナル分子の解析		
課題番号	18-341		
研究期間	2018 年 6 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	川口正代司教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	大阪府立大学	研究員	亀岡啓
	大阪府立大学	学生	森愛美

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	アーバスキュラー菌根菌（AM 菌）は陸上植物の大部分と共生する真菌である。土壌から吸収したリンなどの無機栄養を植物に与え、植物から単糖や脂肪酸などの炭素源を受け取る。そのため、AM 菌は陸上生態系において重要な役割を担っており、また、生物肥料として農業への利用も期待されている。しかし、AM 菌は宿主植物に共生しないと次世代の胞子を形成できないため、培養にコストがかかることが基礎研究・農業利用の両面において課題となっていた。 我々は、パルミトレイン酸等の脂肪酸を AM 菌に処理することで胞子様器官を分化誘導できることを発見していた。しかし、この胞子様器官が植物に感染し、さらに次の世代の胞子を作る能力をもつかは確認できていなかった。 そこで本課題では、共生システム研究部門で確立されているニンジン毛状根-AM 菌共存培養系を用いて胞子様器官を培養し、毛状根への感染や次世代胞子形成の有無を観察した。その結果、パルミトレイン酸によって誘導された胞子様器官の植物への感染、次世代胞子の形成が確認された。この結果から、この胞子様器官は通常の胞子と同様に、生活環を完結させる能力をもつ胞子であることを証明することができた。
研究成果発表等の予定	本課題の成果を含む以下の論文が、<i>Nature Microbiology</i> 誌に掲載予定である。 Kameoka, H., Tsutsui, I., Saito, K, Kikuchi, Y, Handa, Y., Ezawa, T., Hayashi, H., Kawaguchi, M., and Akiyama, K. Stimulation of asymbiotic sporulation in arbuscular mycorrhizal fungi by fatty acids. <i>Nature Microbiol.</i> (accepted)
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019 年度）

2019 年 8 月 30 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：Heidelberg University

氏名： Lazaro Centanin

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Evolution of lateral line patterns tinkering with development		
課題番号	18-342		
研究期間	2018 年 6 月 18 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	Center of Organismal Studies, COS, Heidelberg, Heidelberg University	PhD student	Ali Seleit

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	Background and aims Little is known about the basis of the vast diversity of lateral line patterns in the wild. This is primarily due to the near exclusive focus of lateral line research on a single teleost, the Zebrafish. While this has been invaluable in delineating the molecular mechanisms driving the embryonic development of the lateral line (Aman and Piotrowski, 2008; David et al., 2002; Grant et al., 2005; Haas and Gilmour, 2006; Hernández et al., 2006; Lecaudey et al., 2008; López-Schier and Hudspeth, 2005, 2006; Lush and Piotrowski, 2014; Ma and Raible, 2009; Sánchez et al., 2016), it has led to a deficit in our understanding of how diverse lateral line patterns arise in different species. Important preliminary comparative work done by (Pichon& Ghysen, 2004; Ghysen et al., 2010; Ghysen et al., 2012) led to the suggestion that there is a deep conservation of the embryonic pattern of lateral lines between teleost species. And that most of the diversity is generated post-embryonically by modifications on an essentially unified rudimentary pattern. In my 2017 Development paper, I focused on the embryonic formation of the lateral line in Medaka (<i>Oryzias latipes</i>). And to my surprise discovered that there are significant differences between the embryonic lateral line patterns of Medaka and Zebrafish. I also showed that these differences arise in part from subtle changes in the temporal signature of key molecular cues that are commonly utilized by both species to build the lateral line (Seleit et al., 2017). Meaning that the diversity of patterns is not solely a function of post-embryonic embellishments but is rather an intrinsic part of how the overall development of each species proceeds. A key question that arises from this work is whether the developmental tissue (known as the primordium) forming the embryonic posterior lateral line has different intrinsic properties in different species. Or whether it is essentially the same and is responding to a divergent context (speed and length of development, local gradients and cues outside the primordium etc.). In other words, is the primordium of each species wholly deterministic in the pattern it will form regardless of local context or is there a degree of plasticity where a primordium will produce a pattern according to the surrounding external cues it is receiving. This question is an important one for our understanding of the evolution of developmental tissues of origin in general. And how they get integrated into the overall evolution of the entire organism. To begin to answer it requires two things, identification of closely
-----------------------	--

	related species that differ in their embryonic lateral line patterns. And performing inter-species transplantations to see if the primordium is ‘coded’ to produce a certain pattern or if it is plastic and will respond to new contexts in a reproducible manner. Results Over the course of one month at the Naruse lab in NIBB in Japan, I was able to systematically analyse the embryonic and adult lateral line patterns and organ numbers of 27 different <i>Oryzias</i> species and strains using DiAsP staining. The wide diversity of patterns on display confirmed my hypothesis that this system is useful to study the evolution of lateral line patterns. Indeed, we found differences in embryonic lateral line patterns that led to differences in the adults. And differences in the adult patterns that seem to have arisen post-embryonically. More specifically the results point towards overall size and ecological niche as major determinants of the fast-evolving lateral line patterns (and organ numbers) rather than phylogeny or genetic similarity. This is particularly interesting as it raises the spectre that differences in patterns could arise from the different external pressures that each species faces <i>i.e</i> their species-specific environmental niche. We have identified a number of species and strains (<i>o.mekongensis</i>, <i>o.minutillus</i>, <i>HB32D</i>, <i>HO4C</i>) that would be ideal for inter-species transplantations and brought some of them back to Germany for further experimentation. This will lead us to identify whether patterns evolve by tinkering with the intrinsic properties of the primordium or by differences in extrinsic cues regulating the organogenesis of the lateral line neuromasts.
研究成果発表等の予定	We continue our collaboration research and applied grant to JSPS International collaboration research grant (B), 2019.
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019 年度）

2019 年 8 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 国立遺伝学研究所
氏名： 石川 麻乃

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	トゲウオにおける季節性繁殖の多様性を生む原因変異とその機能の解析		
課題番号	18-343		
研究期間	2018 年 5 月 18 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	安齋 賢／成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	国立遺伝学研究所	教授	北野 潤
	国立遺伝学研究所	研究員	柿岡 諒
	国立遺伝学研究所	研究員	山崎 曜
	国立遺伝学研究所	大学院生	細木 拓也
	琉球大学・熱帯生物圏研究センター	教授	山平 寿智
	琉球大学	客員教授	Kawilarang W. A. Masengi

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	生物にとって「いつ繁殖するか」は適応度を左右する重要な形質である。中でも季節に応じた繁殖、すなわち季節性繁殖は、多くの分類群の近縁種／地域集団間で獲得と喪失を繰り返し、種分化や更なる形質の多様化に貢献してきた。その重要性にもかかわらず、季節性繁殖の獲得／喪失の進化遺伝基盤は殆ど明らかにされていない。トゲウオ科魚類イトヨには日長応答性の繁殖を行う海型と、その日長応答性を失い、より長い繁殖期間を持つ淡水型が存在する。そこで、これらを用い、季節性繁殖の多様性をもたらす分子遺伝機構を解明することを目的に本共同利用が行われた。申請者の研究から、この季節性繁殖の制御とその進化には甲状腺刺激ホルモン遺伝子が関与することが分かってきた。海型の甲状腺刺激ホルモンは強い日長応答性を示し、短日条件で高く発現し、長日条件で発現が急激に低下する一方で、淡水型はこれを示さない。甲状腺刺激ホルモンノックアウトイトヨの解析から、新しく、甲状腺刺激ホルモンは海型で性的二型の発現を抑制していることが分かった。また、この季節性繁殖の制御システムに関わると考えられる性ステロイドホルモンの合成経路に関わる酵素について CRISPR/Cas9 法を用いてノックアウトイトヨの作成を行った。一部の胚を用いて変異が導入されているか確認したところ、デザインした3つのガイド RNA のうち2つで変異の導入が見られたため、現在飼育中であり、今年度中にこれらの表現型について解析を開始する予定である。
研究成果発表等の予定	現在、本研究について論文を執筆中であり、近日中に投稿予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物學研究所共同利用研究実施報告書（ 2018 年度）

2019 年 6 月 3 日

基礎生物學研究所長 殿

報告者 所属：徳島大学大学院医歯薬学研究部

氏名： 堤 理恵

下記のとおり実施しましたので報告します。

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	小型魚類を用いた化学療法における味覚受容体変動の可視化および作用機序の解明		
課題番号	18-344		
研究期間	2018 年 7 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	安齋賢		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	徳島大学大学院医歯薬学研究部代謝栄養学分野	講師	堤理恵
	徳島大学大学院医歯薬学研究部代謝栄養学分野	教授	阪上浩
	徳島大学大学院医歯薬学研究部代謝栄養学分野	大学院生	別府香名
	徳島大学大学院医歯薬学研究部代謝栄養学分野	大学院生	渡辺涼乃
	徳島大学大学院医歯薬学研究部代謝栄養学分野	大学院生	上嶋菜々子
	徳島大学大学院医歯薬学研究部代謝栄養学分野	大学院生	吉岡遼弥

研究成果の概要及び今後の展望	我々はこれまでにヒトおよびマウスにおいて、化学療法を行うと舌の味蕾細胞の味覚受容体遺伝子 T1R3 の発現が減少することを報告してきた。しかし、これに対する有効な成分、あるいは化学療法の薬剤がこの遺伝子発現を減少させる機序は明らかではなく、これをスクリーニングするために、味蕾細胞を多く有するメダカを用い、メダカの味覚受容体 T1R3 を蛍光にて可視化するシステムの構築を目指した。 まずはメダカの飼育について教授いただき、当研究室での飼育環境を確立した。Crisper/Cas9 システムを用いて、味覚受容体 T1R3 のノックインメダカ、ノックアウトメダカを作成することとした。味蕾細胞の T1R3 が特異的に可視化されたメダカの作成のため、オリゴ作成などの分子生物学的手法、マイクロインジェクション等の手技等を学び実験を進めた。共同利用期間中は基礎生物学研究所で生育可能であったが、当研究室では生育できなかったため、現在、当研究室でノックイン、ノックアウトメダカの作成を継続して行っており、確認できれば薬剤投与時の味覚受容体遺伝子発現の機序を解明するとともに、食品成分等のスクリーニングに展開する予定である。
研究成果発表等の予定	ノックインおよびノックアウトマウスの作成が完了し、薬剤、食品のスクリーニングを行うことができれば研究成果を英語論文として投稿するほか、味と匂いの学会、日本分子生物学学会などで発表したいと考えている。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 3 月 28 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：Huazhong Agricultural University
氏名：Chunli CHEN

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Mechanism of DNA damage inducing stem cell formation in the moss <i>Physcomitrella patens</i>		
課題番号	18-345		
研究期間	2018 年 7 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	Professor Mitsuyasu Hasebe		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University	Associate Professor	Chunli CHEN

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	DNA damage is generally considered as a threat to the genome integrity and cell viability that excess or irreparable DNA damage normally results in programmed cell death. In land plants, wounding is known as one of inductive stimuli for reprogramming. We investigated effects of DNA damage to cellular characters in the moss <i>Physcomitrella patens</i> and are preparing the results for publication.
研究成果発表等の予定	We are preparing an academic draft for an international journal.
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 16 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 横浜市立大学医学部医学科組織学
氏名： 大保和之

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	精子幹細胞分化におけるヒストン修飾分子の機能解析		
課題番号	18-346		
研究期間	平成 30 年 7 月 24 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	吉田松生		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	横浜市立大学医学部医学科	講師	富澤信一
	横浜市立大学医学部医学科	博士学生	小林裕貴

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	基礎生物学研究所の生殖細胞研究部門の吉田松生教授、広島大学大学院統合生命科学研究科の中村隼明先生らとの共同研究で、マウス精巣において、GFP で標識された精原細胞の動態を、蛍光顕微鏡で時間を追いながら観察する研究を行っている。特に、我々が見出したエピジェネティックな因子を欠損させたマウスと正常コントロールの比較を行い、その相違の観察において順調な成果を挙げている。今後、この撮影結果の分析を行いつつ、さらなる詳細な解析を行う予定である。本実験システムは、世界にここだけしかない実験系であり、オンリーワンのシステムである。従って、今後とも精原細胞の動態解析で有益な共同研究を行っていきたいと考えている。
研究成果発表等の予定	日本解剖学会総会、日本分子生物学会などの学会での発表を行いつつ最終的に海外の英文雑誌に成果がまとまり次第発表する。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30年度）

2019年 4月 15日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立遺伝学研究所
氏名：井ノ上 逸朗

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ヒト疾患モデルメダカの作成		
課題番号	18-347		
研究期間	2018年 7月 24日 ～2019年 3月 31日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	国立遺伝学研究所	特任研究員	木村哲晃

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	カウデン病様疾患家系の全エクソンシーケンスにより同定された病因の候補遺伝子の機能解析を目指して実験を行なった。候補遺伝子のノックアウトマウスは胚性致死であり解析が困難であったため、メダカを用いてその機能解析を行なった。CRISPR/Cas9 システムにより候補遺伝子を破壊したところ、内臓逆位の表現型が観察された。内臓逆位は繊毛病の表現型の一つであることから、遺伝子破壊メダカでは一次繊毛に何らかの異常が起きたと考えられる。今回の結果から、これまで知られていなかった候補遺伝子の新しい機能が判明した。今後はカウデン病様疾患家系で見つかった変異が一次繊毛に対してどのような影響があるかを解析し、カウデン病様疾患発症の分子機構を明らかにする予定である。
研究成果発表等の予定	
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：京都大学大学院人間・環境学研究科
氏名： 瀬戸口 浩彰

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	開花関連遺伝子 <i>LjEI</i> がミヤコグサ(マメ科)の開花所要日数に及ぼす影響の評価		
課題番号	18-348		
研究期間	2018 年 8 月 15 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	川口 正代司 教授		
分担者(研究会は参加者) (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	奈良女子大学 理系女性教育開発共同機構	特任助教	若林 智美
	東北大学 大学院生命科学研究科	准教授	佐藤 修正
	京都大学 地球環境学堂	助教	阪口 翔太

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	国内に広く分布するミヤコグサは、種内に著しい開花時期の多型を維持する。本研究は、この開花時期の種内多型をもたらす遺伝的要因を解明することで、生物多様性形成機構の一端を明らかにしようとするものである。これまでの研究で、ミヤコグサの開花時期多型に関わる候補遺伝子についての分子進化的解析と、野生系統を用いた共通圃場における開花所用日数計測などを行い、開花時期多型に関わる複数の候補遺伝子が挙げられてきた。30 年度は前年度に引き続き、これまでに挙げられた候補遺伝子のうち、<i>LjE1</i> について、その機能に着目し、形質転換体の形質評価により、この遺伝子の開花時期決定への影響を評価した。 <i>LjE1</i> の遺伝子型には、ハプロタイプの地理構造に関連したパターンがあり、これに基づいて遅咲きアリル・早咲きアリルを選抜した。選抜された系統に、両遺伝子のアリルをそれぞれ相互に導入し(図1)、導入された形質転換体と導入していない個体の開花所要日数を比較することで、それぞれのアリルが開花時期決定にもたらす影響を評価することを試みた。今年度は前年度までに作成した形質転換体の T2 世代の個体から T3 世代の種子を収集した。 今後は、得られた T3 世代を用いて同一条件下での開花時期の計測を行う。相互に遺伝子導入した系統間および野生型との比較を行うことで、本遺伝子の遺伝子型の開花時期決定への影響を評価する。複数の栽培スペースが確保できるようであれば、両系統の自生地での開花時期の日長を設定し、異なる日長間での開花時期・適応度(種子量)を比較する。 図1
研究成果発表等の予定	上記の展望にあるように、T3 世代の開花時期を計測後、論文をまとめて国際雑誌に投稿予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪大学 大学院生命機能研究科
氏名：深川 竜郎

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	染色体分配に関わる CENP-C の変異マウスの作成		
課題番号	18-349		
研究期間	平成 30 年 8 月 15 日 ～ 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	藤森 俊彦		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	大阪大学 大学院生命機能研究科	助教	原 昌稔

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	生物が、生命を維持するためには、ゲノム情報を担う染色体が安定に次世代細胞へ伝達されなければならない。染色体分配に関する詳細な分子機構を解明することを目指し、深川らは、キネトコア構造がどのように形成され、どのように紡錘体微小管と結合するかについて解析を行っている。キネトコアを構成するタンパク質のうち CENP-C と呼ばれるタンパク質は、クロマチンと紡錘体微小管を橋渡しする重要な因子と考えられていた。ところが、最近、CENP-C と微小管結合タンパク質複合体 KMN との結合や、CENP-C とクロマチンとの結合を欠損させた培養細胞でも染色体分配がほぼ正常におこるという予想外の結果を得た。しかし、CENP-C の KMN 結合ドメインやクロマチン結合ドメインは、生物間で高度に保存されていることから、初期発生段階など、特殊な環境下での染色体分配では機能しているのではないかという仮説を立てた。この仮説を立証するために、CENP-C の KMN 結合ドメインやクロマチン結合ドメインを欠損させたマウスを作成し、初期発生段階での染色体分配異常について解析することを目的とした共同研究を基礎生物学研究所の藤森の研究室と行った。CENP-C の欠損させたい領域がコードされたエキソンの前後に gRNA を設計し、Cas9 とともにマウス受精卵に打ち込み、マウスを発生させ各種欠損 CENP-C をホモやヘテロに持つマウスを得ることに成功した。ヘテロマウスに関しては、ホモ個体が致死であることが予想され、現在どのステージで致死となるかを解析中である。また、これらマウスを対象にして、初期発生段階での染色体分配の異常などについて、ライブイメージングで観察する準備をしている。また、ホモマウスについてじゃ、減数分裂での異常を想定して、稔性の解析なども行う。
研究成果発表等の予定	すでに学会レベルで発表できるレベルにあるが、よりデータを蓄積し、投稿論文にまとめる予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 24 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：名古屋市立大学大学院医学研究科
氏名： 加藤 洋一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	繊毛形成過程における PIH1D3 の機能とそれに起因する繊毛病の病態の解明		
課題番号	18-350		
研究期間	2018 年 8 月 15 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	上野直人 教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	名古屋市立大学医学部	学部生	井本 健太
	名古屋市立大学医学部	学部生	荻野 晋太郎

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	研究計画 1 では primary ciliary dyskinesia (PCD)患者から発見された PIH1D3 の遺伝子変異をもったクローンの過剰発現は繊毛の基底小体の位置の異常を引き起こすことを発見した。 計画 2 では、現在のところ変異 PIH1D3 は結合パートナーである分子と基底小体付近出来ないことが判明した。これらの事実から、PIH1D3 複合体は繊毛形成においても、病態を理解する上でも非常に重要な複合体であると考えられた。今後はこの複合体の機能を解明することでさらに PCD の病態の解明を進めたいと考えています。
研究成果発表等の予定	今年度の 11 月に行われる繊毛研究会（日本）での発表と論文投稿を考えている。
備考	申請時に名古屋市立大学ではツメガエルの飼育施設とツメガエル胚へのマイクロインジェクションを行うことのできる機器を保有していなかったため、共同利用研究を申請した。しかしながら、姿勢採択直後に名古屋市立大学内で施設と機器が確保できたため、基礎生物学研究所の上野直人教授の研究室で実験を行わず、自研究施設で当初の目的の研究を行うことが出来た。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 9 月 10 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：神戸大学大学院 農学研究科
氏名：藍原 祥子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	受容体を介した食品成分の機能性の発現に関する研究		
課題番号	平成 30 年度基生研共同利用研究 (18-351)		
研究期間	2018 年 8 月 15 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井 保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所 バイオリソース研究室	特任教授	成瀬 清
	基礎生物学研究所 生物機能解析センター	特任准教授	亀井 保博
	基礎生物学研究所 生物機能解析センター	助教	安齋 賢

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	消化管は、取り込んだものを消化・吸収しエネルギーを得るはたらきのほかに、取り込んだものに対し、防御応答をしたり、摂食行動とエネルギー代謝を制御したりするはたらきを有する。この応答は、食品中の因子が消化管内に散在する受容体によって感知されることで生じるが、対象となる受容体の種類が多く、かつ、刺激因子と受容体の対応が多対多であるため、メカニズムの解明が困難である。これらのうち、特に栄養素に応答する仕組みは哺乳類で研究されてきたが、近年ではゼブラフィッシュでも同様の仕組みがあることがわかってきた。本研究は、消化管内における食品成分の受容とその生理機能について、特に脳においてを検出することを目指して、メダカを用いた実験の構築を試みる。 本年度は、申請者の所属において飼育環境を整えることができなかったため、研究開始のためのディスカッションを行った。
研究成果発表等の予定	現在の時点では該当なし
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

令和元年 5 月 2 4 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：北海道大学大学院水産科学研究院
氏名：浦 和寛

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ウニの生殖巣の成長、成熟因子の探索～ウニにおけるインシュリン属ペプチド3種とそれらの受容体候補の作用の検証を中心として～		
課題番号	18-352		
研究期間	平成30年8月15日 ～ 平成31年3月31日		
所内対応者	大野 薫		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	北海道大学大学院水産科学研究院	修士1年	松尾 惟
	北海道大学大学院水産科学研究院	修士2年	樋口 一郎
	北海道大学大学院水産科学研究院	修士2年	由比 智春

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	キタムラサキウニインスリン受容体の全長 cDNA クローニングを覆なった。その結果、3954bp の ORF を含む cDNA を得た。演繹アミノ酸は 1317 残基であった。相同性検索の結果、脊椎動物、無脊椎動物で報告されているインスリン受容体と約 50%の相同性が認められた。また、インスリン受容体特有のドメイン構造が認められると共に高度に保存されていた。この得られた cDNA 塩基配列を基に遺伝子発現定量系 (q-PCR)を確立した。確立した定量系を用いてウニ生殖巣の成熟段階に伴うインスリン受容体の mRNA 発現量変化を解析した結果、ウニ雌雄の初期配偶子形成期（生殖巣最大肥大時）に最も発現量が高くなり、その後配偶子の形成後期にかけて減少することが明らかになった。次に、得られた cDNA 塩基配列を基に大腸菌でのリコンビナントタンパク質を合成し特異抗体を作製した。作製した特異抗体を用いて、ウニ生殖巣でのインスリン受容体の局在解析を行った結果、ウニ生殖巣の体細胞である栄養細胞膜上に局在が認められた。上記生殖巣最大肥大時は糖、脂質、タンパク質が最も合成蓄積されている時期であることから、脊椎動物と同様にウニインスリンは糖、脂質、タンパク質の合成に深く関与することが示唆された。このインスリン受容体に結合するインスリンペプチドの配列を特定するため、神経の RNA-seq を行った結果、数種の配列を得た。現在、酵母等でのリコンビナントインスリンペプチドの合成を実施中である。実際にインスリンペプチドがウニ生殖巣の肥大に関わる因子（核内受容体・卵黄タンパク質など）の発現誘導を引き起こすか検証する前に、ウニ生殖巣の器官培養系を用いて、ウニ体腔液で培養するとインスリン受容体の mRNA 発現量が増加した。このことから、インスリンペプチドは神経から分泌され、栄養細胞を標的に作用すると推察された。今後は、栄養細胞を分離した細胞培養系を確立し、どのインスリンペプチドがウニ生殖巣の肥大および配偶子形成に関わる因子の発現誘導を引き起こすか検証する予定である。
研究成果発表等の予定	ウニインスリン受容体 cDNA クローニングおよび生殖巣での受容体の局在を明らかにした論文報告は無いため、本個別共同研究で得た成果を国際科学雑誌に投稿予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：京都大学医学研究科
氏名：上野 智弘

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	タウタンパク質過剰発現メダカの行動解析		
課題番号	18-353		
研究期間	平成 30 年 8 月 15 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井 保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	京都大学大学院医学研究科	修士 2 回生	宗像 大朗
	京都大学医学部	4 回生	山田 正翔
	京都大学大学院医学研究科	修士 2 回生	西垣 貴裕
	京都大学大学院医学研究科	修士 1 回生	森泉 元

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	平成 29 年度に引き続き、平成 30 年度個別利用研究においても、タウタンパク過剰発現メダカとその対照群に対し、3 次元的な行動解析装置を用いて、30 分間のオープンフィールドテストを行った。 前年度は、実験開始前日に実験対象個体を京都から基礎生物学研究所に移動させ、翌日から 3 日間に渡る実験を行なった。このプロトコルでは、実験条件の偏りを防ぐため、実験順序のランダム化を行なった。そのため、1 日目に実験を行なった個体では順化期間半日、2 日目に行った個体では順化期間 1 日半のように、同一群の中の実験個体間での順化期間のばらつきが大きくなる。行動実験の解析結果から、順化期間のばらつきがテスト結果のばらつきを大きくしている可能性が示唆された。そこで、本年度は、実験 1 日目までの順化期間を 2 日半にした場合と 4 日半にした場合のそれぞれについて、実験順序のランダム化の上、4 日間に渡る実験を行なった。実験個体ごとの順化期間が 2 日半から 3 日半のデータは、実験条件の不備により解析できなかったが、実験個体ごとの順化期間が 4 日以上ある群の解析結果では、順化期間のばらつきに由来すると考えられたばらつきが抑えられていた。しかし、4 日以上の実験個体ごとの順化期間が必要十分条件かは、来年度以降、実験個体数を増やす等による検討が必要である。3 次元のオープンフィールドテストにおける遊泳場所の比較において、タウタンパク質過剰発現や食餌法の影響を示唆する結果が得られた。この影響を詳しく調べるために、さらに年齢群や個体数を増やすことや、新たな対照群の導入について検討する必要性が示唆された。今後、実験条件の最適化と、個体数や年齢群を増やすことを行う。
研究成果発表等の予定	The 14th International Zebrafish Conference 第 73 回日本栄養・食料学会大会 シンポジウム
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 2018 年度）

2019 年 4 月 24 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： お茶の水女子大学

氏名： 加藤 美砂子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植物二次代謝の多様性を支えるメチルトランスフェラーゼの分子進化		
課題番号	18-354		
研究期間	2018 年 10 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者			
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	お茶の水女子大学理学部生物学科	4 年	伊藤舞花

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	植物の二次代謝に関与するモチーフ B'メチルトランスフェラーゼの遺伝子の分子進化を調べるために、ゼニゴケ (<i>Marchantia polymorpha</i>) に存在する 11 個のモチーフ B'メチルトランスフェラーゼ遺伝子に着目した。それぞれの遺伝子発現をゲノム編集によって抑制した変異体，ならびに過剰発現させた変異体の作出を試みた。 現在，これらの株の表現型の解析を行うと共に，メチルトランスフェラーゼのメチル基受容体の探索について研究を進めている。
研究成果発表等の予定	2019 年度も研究を継続し，研究成果が得られた後に査読付き英文誌への投稿を予定している。
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30年度）

2019年4月25日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：九州大学理学研究院物理学部門
氏名：前多 裕介

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	上皮細胞のシグナル伝播と集団運動を結ぶ非平衡力学の理論モデル構築と実験検証		
課題番号	18-355		
研究期間	2018年 10月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	青木 一洋		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	九州大学理学部物理学部門	大学院生	福山 達也

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	本研究の目的は上皮細胞の細胞間シグナル伝搬と集団運動の力学的関係を解明することである。近年、細胞集団を ERK シグナルが伝搬するとき、それを遡上するように集団運動が起きることが発見された[1]。申請者らは高分子水溶液中を加熱点が動くときに、加熱点の動きとは逆向きの流動が発生することを発見し、その力学的機構を解明した[2]。細胞集団運動と流動という力学的にも全く異なるように見える系でも同様の特徴を持っていることから、流体の理論的知見を応用し、シグナル伝搬下の細胞集団運動のメカニズム解明を目指した。 本共同研究により、 (成果 1) 理論モデルにより ERK シグナルへの「力・接着」の応答を考慮することで先行研究[1]の集団運動の定性的な説明に成功した。 (成果 2) 光遺伝学的に ERK を活性化できる optogenetic MDCK 細胞株を用いた人工的なシグナル伝搬下で集団運動速度のシグナル強度依存性・伝搬速度依存性の測定を行い、理論モデルの予言と一致することがわかった。 (成果 3) また、ERK 活性と接着強度の関係を調べるために、ERK の FRET probe と接着斑に局在するタンパク質分子を共発現する MDCK 細胞株の樹立を青木研究室で行った。 (成果 4) 樹立した細胞株を用い、自発運動中の ERK 活性と接着斑の局在変化を ERK 活性の FRET イメージングと同時に行うことに成功し、現在解析を進めている。 今後の展望は、接着斑のイメージングで得られた実験データを解析し、ERK 活性と接着強度の関係を定量的に解明する。また上記の研究成果をまとめ、論文投稿の準備を行う。
研究成果発表等の予定	本研究の成果は研究会や学会で発表し、論文投稿に向けて現在執筆を進めている。7月を目処に投稿する予定である。
備考	参考文献 [1] Aoki K., et al. Dev. Cell, 43, 305–317 (2017) [2] Fukuyama T., Nakama S, Maeda, Y.T. Soft Matter, 14, 5519 (2018)

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京農工大学

氏名：井上 真紀

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	チャハマキにおけるオス殺しウイルスの感染動態と致死要因の解明		
課題番号	18-356		
研究期間	平成 30 年 12 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	新美 輝幸		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東京農工大学	修士 1 年	西野 眞由

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	オス殺しウイルスの分子機構解明を目指して、遺伝子導入系が確立していない非モデル鱗翅目昆虫チャハマキを用いた遺伝子導入法の確立を検討した。その結果レポーター遺伝子の発現を示す GFP の強い蛍光を確認できた。今後は、本年度確立した実験系を利用してオス殺し関連因子の機能解明を進める。
研究成果発表等の予定	未定
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019 年度）

2019 年 8 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：Southwest University

氏名： Deshou Wang

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☒ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Functional investigation of <i>Apolipoprotein D (ApoD)</i> gene family specific to fishes		
課題番号	18-357		
研究期間	2018 年 5 月 18 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	Southwest University, College of Life Science	PostDoc Researcher	Langyu Gu

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	Background Previously, we reported, for the first time, the expansion of <i>ApoD</i> gene family specific to fishes in a cluster manner (Gu and Xia, 2019, BMC Evolutionary Biology). Evidence from different aspects suggests the potentially advantageous roles of <i>ApoD</i> genes in teleost fishes. To further study their functions in fishes, I contacted with Prof. Naruse and got the precious opportunity to visit NIBB in February in 2019. During this month, we discussed about this project and started to do some experiments to initiate this project. Contents Since it is my first time to do research in medaka, it is better to get familiar with it first. Therefore, Prof. Naruse showed me their interesting breeding behaviour first. Medaka can lay eggs every day and it is better to raise them with 14h day time and 10h night time which mimic their natural irradiation time. You can insert the isolation plate during the night to separate male and female, and take it out in the next morning. After removing the plate, it is better to collect the eggs within 30min to obtain fertilized one-cell stage eggs. And remember that do not watch their mating, since they have good eyes and might be too nervous to mate. After obtaining the eggs, there are two ways to separate individual eggs, i.e. finger rotation and spaghetti way. Since the shell of medaka embryos are very hard, we can simply use fingers to rotate to separate them. However, if you would like to do injection later, it is better to find a gentler way, e.g., the spaghetti way. This method uses two tweezers to stir up the threads among the eggs, and then twin round again and again until the threads are broken automatically to release each individual egg. Since the eggs are not touched here, it is good for further embryo injection. The most difficult issue should be how to find the animal pole and plant pole when do one-cell embryo injection. Dr. Satoshi and other lab members, as well as Prof. Naruse have shown me again and again, but I still do not have confidence to find the correct pole by myself. Since we have to inject the embryos during one-cell stage, we have to find the correct animal pole at the very early developmental stage. It is written in the book that animal pole should be rare of the bubble, but to be honest, it is very hard to recognize it. I think I have to practice it later.
-----------------------	---

研究成果発表等の予定	This experience laid a good foundation for further collaboration with Prof. Naruse in NIBB. With this training, we can start to study gene functions in medaka by doing gene knockout and transgene. We plan to collaborate in the near future, focusing on mutant strains construction, mutant phenotypes detection and transgene strains construction. This will be the first study of this gene family in fish. The derived strains will provide ideal evo-devo models to study gene duplication, gene cluster maintenance, and their roles in speciation and adaptation in the future. Dr. Langyu Gu will be responsible for bioinformatics analyses and experimental operation. Prof. Naruse will provide medaka fish for doing gene knockout and transgene. The plasmids construction and embryos injection will be conducted by Dr. Langyu Gu in the lab of Prof. Naruse.
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

統合ゲノミクス共同利用研究

- 18-401 p 53 誘導性プロテインホスファターゼ PPM1D およびそのファミリーの機能解明
坂口 和靖（北海道大学大学院理学研究院 教授）
- 18-402 ミズタマシヨウジョウバエ模様形成因子の探索
越川 滋行（北海道大学大学院地球環境科学研究院 准教授）
- 18-403 キューバアノールトカゲのゲノム配列比較による進化可能性
河田 雅圭（東北大学大学院生命科学研究科 教授）
- 18-404 クラゲ類を用いた環境変化に応答して形態リモデリングを制御する機構の解明
中嶋 悠一郎（東北大学学際科学フロンティア研究所 助教）
- 18-405 半翅目昆虫と共生細菌の相互作用に関する網羅的遺伝子発現解析
深津 武馬（産業技術総合研究所生物プロセス研究部門 首席研究員）
- 18-406 カメムシ類の共生器官で特異的に発現する免疫関連遺伝子の網羅的解明
菊池 義智（産業技術総合研究所生物プロセス研究部門 主任研究員）
- 18-407 「戦い」および「漢方薬」の RNA ゲノミックス
岡田 典弘（国際科学振興財団シーラカンス研究所 主席研究員）
- 18-408 スギの全ゲノム配列の解読
上野 真義（森林研究・整備機構森林総合研究所 チーム長）
- 18-409 極限環境生物の特異的生命現象を解明するためのバイオインフォマティクス解析
黄川田 隆洋（農業・食品産業技術総合研究機構生物機能利用研究部門 上級研究員）
- 18-410 チャの遺伝的多様性を育種に活用するための大規模 DNA マーカー開発
荻野 暁子（農業・食品産業技術総合研究機構果樹茶業研究部門 主任研究員）
- 18-411 薬用植物トコンの不定芽形成過程に発現する遺伝子の RNA-seq を用いた網羅的解析
梅原 三貴久（東洋大学生命科学部 教授）

- 18-412 新規植物脂質制御因子の探索と機能解析
島田 貴士（千葉大学大学院園芸学研究科 助教）
- 18-413 アキノキリンソウ群（キク科）の生態ゲノム学的研究
伊藤 元己（東京大学大学院総合文化研究科 教授）
- 18-414 *Xenopus* 属の異質倍数化機構の解析と *X. laevis* ゲノム情報の活用
平良 眞規（中央大学理工学部 教授）
- 18-415 トゲオオハリアリのゲノム解読およびエピゲノム解析
岡田 泰和（東京大学大学院総合文化研究科 助教）
- 18-416 タツノオトシゴの育児嚢の形成に関わる分化因子の探査
川口 眞理（上智大学理工学部 准教授）
- 18-417 アリ類の新奇カーストの分化決定を司る遺伝的基盤の解明
宮崎 智史（玉川大学農学部 准教授）
- 18-418 ショウジョウバエ種群における精子形成機構と脳神経系の発生機構の遺伝的多様性の解析
栗崎 健（杏林大学医学部 教授）
- 18-419 In vitro 精子形成を改善するための因子の同定
小川 毅彦（横浜市立大学大学院生命医科学研究科 教授）
- 18-420 根、及び根圏における植物-微生物相互作用の分子機構の解明
白須 賢（理化学研究所環境資源科学研究センター グループディレクター）
- 18-421 道管液のペプチドミクス・プロテオミクスを用いた地下部-地上部間の相互作用の探索
岡本 暁（新潟大学農学部 助教）
- 18-422 高度な社会システムの構築機構を探るモデル昆虫「シロアリ」の進化をもたらした分子基盤の解明
前川 清人（富山大学大学院理工学研究部 准教授）
- 18-423 脳の進化が種分化を促した？：交配前隔離を制御する脳内因子の固定
川口 将史（富山大学大学院医学薬学研究部 助教）
- 18-425 ミドリゾウリムシ独立栄養培養系を用いた光合成を基盤とする任意細胞内共

生維持機構の解析

宮城島 進也（情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 教授）

18-426 ゼブラフィッシュ精原細胞で発現する rRNA の解析

酒井 則良（情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 准教授）

18-427 メダカ生殖細胞性決定に関する遺伝子の網羅的解析

田中 実（名古屋大学大学院理学研究科 教授）

18-428 RAD シーケンスを用いたウズラ遺伝連鎖地図の作製と突然変異遺伝子の同定

松田 洋一（名古屋大学大学院生命農学研究科附属鳥類バイオサイエンス研究センター 教授）

18-429 オルガネラの新規獲得と膜交通経路開拓機構の解明

上田 貴志（自然科学研究機構基礎生物學研究所 教授）

18-430 発生期および成体期におけるマウス生殖細胞の細胞系譜および遺伝子発現の解析

吉田 松生（自然科学研究機構基礎生物學研究所 教授）

18-431 生物進化の分子機構の解明

長谷部 光泰（自然科学研究機構基礎生物學研究所 教授）

18-432 植物-微生物共生における宿主シグナリング経路と共生関係確立のための遺伝学的要因の解析

川口 正代司（自然科学研究機構基礎生物學研究所 教授）

18-433 昆虫新奇形質の形成メカニズムの解明

新美 輝幸（自然科学研究機構基礎生物學研究所 教授）

18-434 G 蛋白質共役型受容体の自発活性化能の生理的・病態生理的意義の解明

西田 基宏（自然科学研究機構生理學研究所 教授）

18-435 ショートリードシーケンサーによる解析が困難な藻類のゲノム解析

広瀬 侑（豊橋技術科学大学環境生命工学系 助教）

18-436 DNA 倍加誘導に関わるエピゲノム制御機構の解明

高塚 大知（奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 助教）

18-437 茎寄生植物アメリカネナシカズラと宿主植物間での small RNA 移行の解析

青木 考（大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 教授）

18-438 オミクス解析を用いたシジミチョウ・アリ共生系の分子基盤研究
北條 賢（関西学院大学理工学部 准教授）

18-439 発生時・分化後に腸神経サブタイプを特異化する遺伝子コードのトランスクリプトームによる解明
二階堂 昌孝（兵庫県立大学 大学院生命理科学研究科 助教）

18-440 爬虫類における温度依存型性決定のメカニズム解析
宮川 信一（東京理科大学基礎工学部 准教授）

18-441 ラン科植物シランを用いた寄生的菌根共生システムの解明
上中 弘典（鳥取大学農学部 准教授）

18-442 哺乳類におけるライディッシュ細胞の分化転換機構の解明
嶋 雄一（川崎医科大学医学部 准教授）

18-443 送粉適応した花形質の進化：夜咲きの遺伝子基盤と進化過程の解明
矢原 徹一（九州大学大学院理学院 教授）

18-444 棘皮動物ウミユリ綱・クモヒトデ綱動物の NGS 解析
吉国 通庸（九州大学大学院農学研究院 教授）

18-445 異なる染色体レース間に見られる遺伝構造：サッポロフキバッタを用いた解析
立田 晴記（琉球大学農学部 教授）

18-446 脳の左右を決める遺伝子の同定
重本 隆一（IST Austria 教授）

18-447 The transcriptomic analyses of specific cell-types that contribute the neuronal regeneration of zebrafish after spinal cord injury
TSAI, Huai-jen (Mackay Medical College Institute of Biomedical Sciences Visiting Professor)

18-448 HITS-CLIP 解析による単細胞生物クラミドモナスの microRNA 機能解明
山崎 朋人（高知大学教育研究部 助教）

18-449 ゼノパスの四肢再生と皮膚再生で発現する遺伝子の網羅的解析
横山 仁（弘前大学農学生命科学部 准教授）

- 18-450 MGD データベースを利用した微生物ゲノムからの進化的知識発見
千葉 啓和（情報・システム研究機構ライフサイエンス統合データベースセンター 特任助教）
- 18-451 実用珪藻キートセラスの比較ゲノム解析とゲノムデータベースの利用
伊福 健太郎（京都大学大学院生命科学研究科 助教）
- 18-452 *Rhizobium radiobacter* (syn. *Agrobacterium tumefaciens*) のゲノム分化ならびに根頭癌腫病原性との相関に関する解析
鈴木 克周（広島大学大学院理学研究科 教授）
- 18-453 休眠中卵母細胞の健常性維持に必須な酵素 Prmt5 の機能解析
鈴木 仁美（東京医科歯科大学統合研究機構 助教）
- 18-454 上皮恒常性維持過程における平面内細胞極性の維持機構の解明
藤森 俊彦（自然科学研究機構基礎生物学研究所 教授）
- 18-455 介在ニューロンサブタイプ同定により解き明かす、脊髄運動系神経回路の動作機構
東島 眞一（自然科学研究機構基礎生物学研究所 教授）
- 18-456 超長鎖 DNA を用いた新規ゲノム配列解析
郷 康広（自然科学研究機構生命創成探究センター 特任准教授）
- 18-457 一塩基分解能メチローム解読に基づくピロリ菌エピゲノム進化の解析
大崎 敬子（杏林大学医学部 准教授）
- 18-458 有害赤潮原因種ヘテロカプサの毒性発現機構の解明
山崎 康裕（水産研究・教育機構水産大学校 講師）
- 18-459 オオミジンコのエピゲノム解析
渡邊 肇（大阪大学大学院工学研究科 教授）
- 18-460 トランスクリプトーム解析による有害赤潮プランクトンのスーパーオキシド産出機構の解明
紫加田 知幸（水産研究・教育機構瀬戸内海区水産研究所 研究員）
- 18-461 新しい進化指標を用いての数十億年前の生体システムの仕組みの解析
堀越 正美（東京大学定量生命科学研究所 准教授）

- 18-462 クローディング完全欠失上皮細胞の作製による細胞間隙輸送の再構成
古瀬 幹夫（自然科学研究機構生理学研究所 教授）
- 18-463 社会性アブラムシにおける比較ソシオゲノミクス
植松 圭吾（東京大学大学院総合文化研究科 助教）
- 18-464 DNA トランスポゾンを用いた逆遺伝学的手法によるイネ遺伝子破壊系統の構築
梅根 一夫（自然科学研究機構基礎生物学研究所 助教）
- 18-465 脂肪性種子植物における脂質合成機構の解明
真野 昌二（自然科学研究機構基礎生物学研究所 准教授）
- 18-466 ミヤコグサの異変異性ならびに新規草型変異体の原因遺伝子同定
深井 英吾（新潟大学農学部 助教）
- 18-467 刺胞動物と褐虫藻の共生破綻に関与する遺伝子の探索
高橋 俊一（自然科学研究機構基礎生物学研究所 准教授）
- 18-468 麹菌 *Aspergillus oryzae* の比較ゲノムによる多様性創出機構の解明
丸山 潤一（東京大学大学院農学生命科学研究科 特任准教授）

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

平成31年4月22日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：北海道大学大学院理学研究院
氏名：坂口 和靖

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	p53 誘導性プロテインホスファターゼ PPM1D およびそのファミリーの機能解明		
課題番号	18-401		
研究期間	平成30年4月1日 ～平成31年3月31日		
所内対応者	重信 秀治 特任准教授（生物機能情報分析室）		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	北海道大学大学院理学研究院	助教	鎌田 瑠泉
	北海道大学大学院総合化学院	博士課程2年	工藤 風樹
	北海道大学大学院総合化学院	修士課程1年	川村 慧
	北海道大学大学院総合化学院	修士課程1年	谷 愛海

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	癌抑制タンパク質 p53 誘導性 Ser/Thr ホスファターゼ PPM1D は、p53 経路のネガティブフィードバックにより細胞の恒常性を維持している。近年、PPM1D が免疫応答や精子形成、グルコース恒常性維持など、様々な細胞内機能に関与していることが示唆されている。また、我々は PPM1D の重要な上流タンパク質 p53 がアミノ酸代謝において非常に興味深い機能を持つことを見出している。本研究の目的は、好中球分化・成熟、代謝における PPM1D と、その上流タンパク質である p53 の機能を解明することである。 H30 年度は好中球の分化モデル細胞 HL-60 において PPM1D 阻害剤 SL-176 により PPM1D を阻害し、分化誘導前後における発現遺伝子のゲノムワイド解析を実施した。その結果、PPM1D 阻害剤単独投与の条件および、分化誘導剤 ATRA と阻害剤の共投与の条件下において、刺激前の HL-60 と比較して多くの遺伝子の発現が変化していることが見出された。得られた発現変動遺伝子群の GO 解析を実施し、好中球の主要な機能である貪食能や、炎症応答経路に関わる遺伝子発現が PPM1D により制御されていることが明らかとなった。 今後、PPM1D の標的経路および標的転写因子を同定することで、好中球分化および成熟における PPM1D の機能が明らかになると期待される。
研究成果発表等の予定	第 92 回日本生化学会大会（2019 年 9 月 18 日～20 日）にて発表予定
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 18 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 北海道大学大学院地球環境科学研究院
氏名： 越川 滋行

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ミズタマシヨウジョウバエ模様形成因子の探索		
課題番号	18-402		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	国立遺伝学研究所	助教	近藤 周
	北海道大学大学院環境科学院	大学院生	福富 雄一

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	動物の体表には模様がある場合があるが、その形成機構についての知見は少ない。動物における模様形成の一般的な法則と動物種間での共通性と差異を明らかにするため、ミズタマシヨウジョウバエ (<i>Drosophila guttifer</i>) の翅をモデル系として用いる。ミズタマシヨウジョウバエでは透明な翅に黒いメラニン色素の沈着による水玉模様がある。水玉模様の形成に必要な遺伝子を同定するため、GFP で細胞を標識したミズタマシヨウジョウバエ系統を用いて、将来模様がで ける場所とできない場所の細胞群を選別し、Quartz-Seq のプロトコールでライブラリー作成、NextSeq によるシーケンスを行った。その結果として、予想されていたメラニンの合成に関与する遺伝子群に加え、シグナルリガンドや転写因子も検出された。また、ミズタマシヨウジョウバエで模様をコントロールする Wingless シグナリングの直下流で働く転写因子を同定するための予備的な実験として、翅全体で <i>wingless</i> 遺伝子を過剰発現させたキイロシヨウジョウバエの系統と過剰発現させていない系統の翅での遺伝子発現を、TruSeq Low Sample (LS) プロトコールでのライブラリー作成・NextSeq によるシーケンスによって比較した。 今後、ミズタマシヨウジョウバエの模様がで ける場所で発現が上昇していた遺伝子が <i>wingless</i> の制御下にあるかどうかを検討するため、<i>wingless</i> を異所的に発現するミズタマシヨウジョウバエの系統を用いたトランスクリプトーム解析を行う予定である。
研究成果発表等の予定	2018 年度で得られた成果は、52nd Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists (2019 年 5 月) と日本進化学会第 21 回大会 (2019 年 8 月) で発表予定である。
備考	特になし。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 30 年度）

31 年 4 月 4 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 東北大学大学院生命科学研究科
氏名： 河田雅圭

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	キューバアノールトカゲのゲノム配列比較による進化可能性		
課題番号	18-403		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東北大学大学院生命科学研究科	准教授	牧野能士
	東北大学大学院生命科学研究科	研究員	石井悠
	東北大学大学院生命科学研究科	大学院生	金森駿介
	自然科学研究機構	特任准教授	郷康広

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	【成果】 キューバのアノールトカゲ 6 種(<i>A. allogus</i> と <i>A. sagrei</i>, <i>A. isolepis</i>, <i>A. allisoni</i>, <i>A. porcatus</i>, <i>A. homolechis</i>)について、Genomics'chromium の方法を用いて、全ゲノム配列の決定を試みた。6 月に 2 種(<i>A. allogus</i> と <i>A. sagrei</i>)のゲノム解読が完了し、N50 が <i>A. sagrei</i> で 39Mb、<i>A. allogus</i> で 39Mb, BUSCO の割合は 86-86%とよい結果がえられた。重複遺伝子率も <i>A. sagrei</i> で高いという予測どおりの結果が得られた。。その結果の一部は 2018 年 8 月の日本進化学会、2019 年 3 月の日本生態学会で報告した。残り4種 <i>A. isolepis</i>, <i>A. allisoni</i>, <i>A. porcatus</i>, <i>A. homolechis</i>)については、HiseqX によるシーケンスは完了し、現在 Chromium 専用のアセンブラ Supernova を使い、ゲノムアセンブル中である。 【展望】 <i>A. allogus</i> と <i>A. sagrei</i> については、個々の遺伝子の重複、転移因子の挿入、synteny などさらなる解析し、森林低温環境と高温開放環境での適応に関するゲノム情報を調べる予定である。残り 4 種についても、全ゲノム配列のアセンブルを完成させ、同様の解析を行う予定である。
研究成果発表等の予定	<i>A. allogus</i> と <i>A. sagrei</i> の 2 種については、論文にまとめ投稿予定である。残り 4 種については、結果の解析が終わり次第、学会で発表すると同時に、論文執筆予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

平成31年4月23日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東北大学学際科学フロンティア研究所
氏名： 中嶋 悠一郎

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	クラゲ類を用いた環境変化に応答して形態リモデリングを制御する機構の解明		
課題番号	18-404		
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	重信秀治 博士		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東北大学・生命科学研究科	修士課程 学生	富士田壮佑

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究計画は、刺胞動物門のヒドロ虫綱に属する <i>Cladonema pacificum</i> (エダアシクラゲ) を用いて、環境変化に応答して形態リモデリングを行う仕組みについて、その分子レベルでの理解を目指すものである。通常のライフサイクルでは春から夏にかけて stolon から polyp が生え、polyp から medusa が生み出されるが、<i>Cladonema</i> は温度が低下すると polyp が退縮して stolon のみとなり、低温下の冬を経験した stolon は再び春に polyp を出芽させて medusa を産出する。これまでに、研究室内環境で <i>Cladonema</i> の繁殖・維持を確立して、stolon から polyp への遷移を温度変化させる(4 度$\pm$20 度)ことによって再現性よく実現してきた。今年度は、温度条件で異なる形状を示す polyp と stolon の変遷に関与する遺伝子発現変化を RNA-seq によって明らかにすることを計画した。具体的には、(1a) 出芽直後の polyp, (2a) medusa 産出能のある polyp, (3a) 低温刺激直後の polyp, そして(1b) 低温下の stolon, (2b) 20 度に移して 1 日後の stolon, (3b) polyp 出芽直後の stolon、というステージの異なるサンプル群を用意して、それぞれの total RNA を抽出した (4 回の繰り返し実験を行うため、合計 24 サンプル)。しかしながら、当初の予定よりもサンプル準備に大幅に時間を要したため、RNA-seq のためのライブラリー作成やシーケンス解析まで達成することができなかった。今後の展望としては、早速これまでに準備した RNA を用いてライブラリー作成からシーケンス解析までを遂行することを予定している。<i>Cladonema</i> はゲノム情報がない種であることから、<i>de-novo</i> RNA-seq 解析をする必要があるため、所内対応者の重信博士らと連携しながら解析までを行う。
研究成果発表等の予定	これまでに研究成果の論文での発表はない。一方、<i>Cladonema</i> の環境応答に関する成果は Janelia Conference ‘New Genetic Tools for Non-model Organisms’ (2019 年 3 月) や First Biennial Cnidofest: The Cnidarian Model Systems Meeting (2018 年 9 月) といった国際学会にて発表してきた。新規モデルを使用して環境応答による形態リモデリングや生活環の制御メカニズムの理解を目指す本研究は、参加者から概ね良い反応を得ている。これまでの細胞生物学的な結果に加えて、<i>de-novo</i> RNA-seq 解析によって遺伝子発現変化を明らかにしたら、研究成果を論文として発表する予定である。
備考	申請者の提案は平成31年度の統合ゲノミクス共同利用研究に継続して採択された (19-406) 。平成31年度はこれまで準備した環境応答に加えて、組織再生過程における遺伝子発現変化も RNA-seq 解析を行う予定である。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 9 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立研究開発法人 産業技術総合研究所
氏名：深津 武馬

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	半翅目昆虫と共生細菌の相互作用に関する網羅的遺伝子発現解析		
課題番号	18-405		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	別紙参照		

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	非常に多くの生物が恒常的に微生物を体内に共生させているが、この「内部共生」という現象は、寄主植物特異性や農薬耐性、体色変化など、様々な生物機能の獲得に重要な役割を果たしている。しかし、宿主昆虫と共生細菌の相互作用に関わる分子基盤は、未だにほとんど解明されていない。本実験課題では、RNA-seq を用いた共生細菌、宿主昆虫双方の遺伝子発現解析や、共生細菌のゲノム解析を網羅的に行うことで、共生細菌と宿主昆虫の相互作用に関する分子基盤を徹底的に解明することを目的とする。 本年度はカメムシ類が自身の共生微生物を次世代への垂直伝達する機構を解明することを目的として、垂直伝達をおこなうメスの共生器官に特異的に発達する部位（末端膨大部）において発現する遺伝子の解析を実施した。今回の解析では、チャバネアオカメムシおよびクサギカメムシを対象とし、両種の共生器官よりそれぞれ通常部および末端膨大部について RNAseq ライブラリの作製および次世代シーケンサーをもちいた配列解析を進めた。得られた配列について、de novo アセンブル等の配列解析、遺伝子発現解析をおこなったところ、メスの末端膨大部において両種に共通して有意に高発現する数十の遺伝子群を同定することができた。現在、これらの遺伝子配列情報および発現情報をもとに着目する遺伝子群を選定し、RNAi 遺伝子干渉法を用いることで、垂直伝達に関するそれぞれの遺伝子機能について検証している最中である。
研究成果発表等の予定	候補となる遺伝子の機能など必要なデータを取得次第、順次国際死闘に発表する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

別紙 提案代表者以外の共同利用研究者の所属・職・氏名

所属 (大学・学部・研究科等)	職 名	氏 名
放送大学 教養学部	教授	二河 成男
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	主任研究員	二橋 亮
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	グループリーダー	古賀 隆一
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	主任研究員	安佛 尚志
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	主任研究員	沓掛 磨也子
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	主任研究員	古藤 日子
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	主任研究員	森山 実
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	大学院生	西野 貴騎
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	大学院生	奥出 絃太
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	大学院生	廣田 敏
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	大学院生	大石 紗友美

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 19 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立研究開発法人産業技術総合研究所
氏名：菊池 義智

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	カメムシ類の共生器官で特異的に発現する免疫関連遺伝子の網羅的解明		
課題番号	18-406		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	北海道大学・農学研究院	博士 1 年	Seonghan Jang
	北海道大学・農学研究院	修士 1 年	栗原 駿太

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	多くの昆虫はその体内に共生細菌を持ち緊密な相互作用を行っている。それら共生細菌は宿主の栄養代謝や環境適応において必須の役割を果たしており、昆虫の進化と多様化の原動力となってきた。これら共生細菌は「菌細胞」や「盲嚢」と呼ばれる特殊な器官に局在しているが、近年の解析により、共生器官において多くの抗菌タンパク質が高発現していることが明らかとなってきた。本研究では、多様な共生様式を発達させるヘリカメムシ類・ナガカメムシ類を対象に免疫関連遺伝子や抗菌タンパク質を網羅的に同定し、共生の成立と維持における宿主免疫系の役割を解明することを目的とした。 本年度は特にホソヘリカメムシを対象に、抗菌タンパク質の発現調節に関与する転写調節因子について解析を進めた。まず目的の転写調節因子について RNAi を行い、発現抑制された個体のトランスクリプトーム解析を行うことで、対象とする調節因子がどの程度免疫系の発達および共生の維持に関わるのかを調査した。その結果、いくつかの転写調節因子が共生器官の発達に大きく寄与し、また共生器官における免疫系の発現に重要な役割を果たしていることが新たに明らかとなった。 今回複数の転写調節因子について RNAi を行い、それら RNAi 個体についてトランスクリプトーム解析を行ったが、全てのデータを解析するためにはさらなる時間を有する。今後は、得られたトランスクリプトームデータの比較解析を進めるとともに、調節因子および免疫関連遺伝子の RNAi をさらにを行い、同時に組織学的な解析も並行して行うことで、共生器官における遺伝子発現パターンの調節機構について総合的な理解を目指す。
研究成果発表等の予定	本年度は宿主昆虫の解析と同時に得られた共生細菌の発現遺伝子情報についても解析を行い、下記のような論文発表を行った。 Ohbayashi T, Futahashi R, Terashima M, Barrière Q, Lamouche F, Takeshita K, Meng X-Y, Mitani Y, Sone T, <u>Shigenobu S</u>, Fukatsu T, Mergaert P, <u>Kikuchi Y</u>. 2019. Comparative cytology, physiology and transcriptomics of <i>Burkholderia insecticola</i> in symbiosis with the bean bug <i>Riptortus pedestris</i> and in culture. The ISME Journal DOI: 10.1038/s41396-019-0361-8.
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 30 年度）

2019 年 4 月 17 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 国際科学振興財団

氏名： 岡田典弘

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	「戦い」および「漢方薬」の RNA ゲノミックス		
課題番号	18-407		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	国際科学振興財団	研究員	岩崎裕貴
	東京工業大学生命理工学系	PhD Student	Vu Trieu-Duc

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	戦いの最中に脳内で発現する転写産物を分析するために、闘魚の RNA-seq を行い、発現量解析を行った。 戦いが始まる前後で発現している遺伝子を比較したところ、戦いの最中に特異的に高発現している遺伝子が多数みられた。 興味深いことに、これらの遺伝子は戦っていたペアごとに発現量が同調していることが見られた。 漢方による転写産物の変化を調べるために、早期老化モデルとして利用されているクロトーマウスを材料に RNA-seq を行い、発現量解析を行った。 通常餌で飼育したマウスと比較して、漢方を与えたマウスで有意に発現量が増加している遺伝子が多数見られた。 これらの研究により、いままで分子生物学的な解析がほとんど行われていなかった、「戦い」及び「漢方薬」の分子メカニズムに関する知見が得られた。今後の解析により、より詳細な分子メカニズムの解明が期待できる。
研究成果発表等の予定	本研究の成果は、英語論文として投稿中である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

平成31年4月22日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立研究開発法人森林研究・整備機構
氏名：上野真義

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	スギの全ゲノム配列の解読		
課題番号	18-408		
研究期間	平成30年4月1日 ～ 平成31年3月31日		
所内対応者	重信秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東京大学大学院新領域創成科学研究科	准教授	笠原雅弘
	東京大学大学院新領域創成科学研究科	特任研究員	藤野健
	森林総合研究所樹木分子遺伝研究領域	室長	伊原徳子
	森林総合研究所樹木分子遺伝研究領域	主任研究員	内山憲太郎
	森林総合研究所樹木分子遺伝研究領域	非常勤特別研究員	魏甫錦
	新潟大学大学院自然科学研究科	准教授	森口喜成
	新潟大学大学院自然科学研究科	特任助教	長谷川陽一

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	スギ新葉から抽出した DNA を用いて MinION シーケンサーでのシーケンス条件の検討を行い、総計で 21.6 Gb の配列（最大リード長、564 kb）を収集した。MinION シーケンサーのポアへの DNA 鎖の導入効率を改善するために DNA 抽出方法を改良し、長鎖の DNA 配列の解読とデータ量の増大を達成した。抽出した長鎖 DNA 溶液の保存性を検討するために、DNA 溶液を凍結し、解凍後の DNA を使用して MinION シーケンサーで解読を行い、凍結の有無により得られる結果はほとんど変わらないことを確認した。 前年度までに収集した 10x Genomics 社の Chromium ライブラリから得られたリード、および PacBio RSII で収集したリードのアセンブル方法の検討を行った。また MinION の超長鎖リードを PacBio の長鎖配列と合わせてアライメントするアルゴリズムの開発を行った。 ゲノムのアノテーションに必要なコード領域（CDS）に関するデータを RNA-Seq 法で収集した。RNA は針葉、雄花、内樹皮組織から抽出し、Illumina 社のシーケンサーでリードを収集してアセンブルを行い、合計、49,758 本のトランスクリプト配列の CDS を推定した。 今後は引き続き、ナノポアシーケンサーを使用して配列の解読を進め、Chromium および PacBio RSII のリードと合わせてアセンブルを行いスギゲノムの構築とアノテーションを行っていきたい。
研究成果発表等の予定	スギの RNA-Seq により得られたリードのアセンブリーと相同性探索による機能推定について論文による成果発表を予定している。
備考	特になし

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 30 年度）

2019 年 4 月 23 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：農業・食品産業技術総合研究機構
氏名： 黄川田隆洋

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	極限環境生物の特異的生命現象を解明するためのバイオインフォマティクス解析		
課題番号	18-409		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門	主任研究員	リシャール コルネット Richard Cornette
	理化学研究所 予防医療・診断技術開発プログラム	ユニットリーダー	おれぐせ 夫 Oleg Gusev
	東京大学大学院 新領域創成科学研究科	修士2年	鈴木健吾
	東京大学大学院 新領域創成科学研究科	博士1年	徳本翔子

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	乾燥耐性生物であるネムリユスリカと凍結耐性生物であるヌマエラビルのゲノム・トランスクリプトームのバイオインフォマティクス解析を目的に提携した共同研究であったが、思うようにサンプリングができずに、ライブラリを読むに至らなかった。共同研究のフレームワークを有効に活用できなかった点は、残念の言葉につきる。一度、研究の方針を整理し、オミクス解析にかけるべき実験対象を精査した上で、再度、共同研究によるバイオインフォマティクス解析が行えるような状況を醸成していきたいと考えている。そのため、31年度の延長申請は行わずに、これまでに得られたデータを用いた論文作成に集中していこうと考えている。
研究成果発表等の予定	なし
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 8 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：農研機構果樹茶業研究部門
氏名：荻野 暁子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	チャの遺伝的多様性を育種に活用するための大規模 DNA マーカー開発		
課題番号	18-410		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	農研機構果樹茶業研究部門	上級研究員	谷口郁也

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	茶について、国内で保有する豊富な遺伝資源を活用して育種の効率化を図るためのゲノム情報基盤として、高密度連鎖地図の作成に取り組んだ。昨年度までに、チャの基準連鎖地図を作成するために作出していた F₁ 分離集団 (KM 集団 ; 「さやまかおり」 × 「金 Ck17」) の正逆交雑) 64 系統を用いて、double digest RAD-seq (ddRAD-seq) 解析を行い、KM 集団でマッピング可能な約 16,000 個の多型情報を取得し、茶の基本染色体数と同数である 15 の連鎖群からなる連鎖地図を作成した。2018 年度は、SSR マーカーによる茶の基準連鎖地図と ddRAD-seq による連鎖地図を統合した。その結果、1,203 マーカー、1,301cM からなる茶の高密度連鎖地図を構築された。さらに、この連鎖地図に座乗するマーカーの塩基配列情報を、茶の全ゲノムドラフト配列情報に対してマッピングしたところ、連鎖地図に座乗するマーカーの 90% 以上のマーカー配列情報がマッピングできた。これらの情報は、QTL 解析や GWAS による有用遺伝子座の同定と育種への利用を加速化する重要なリソースとなると考えられる。
研究成果発表等の予定	これまでに得られた研究成果をとりまとめて論文投稿予定。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 14 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東洋大学 生命科学部
氏名：梅原 三貴久

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	薬用植物トコンの不定芽形成過程に発現する遺伝子の RNA-seq を用いた網羅的解析		
課題番号	18-411		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	生物機能解析センター 生物機能情報分析室 重信秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東洋大学生命科学部応用生物科学科	教授	梅原三貴久

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	〔目的〕 一般的に、植物組織から植物体を再生させるためには、培養培地中にオーキシシンやサイトカイニンなどの植物ホルモンを添加する必要がある。しかしながら、薬用植物のトコンの場合、植物ホルモンを処理することなく、切断が再生の刺激となるため、節間切片を切り出して培地に置床するだけで不定芽を誘導できる。この現象を遺伝子レベルで解明するために、RNA-seq を行い、不定芽形成に関わる遺伝子群を特定することを試みた。 〔方法〕 トコンの節間切片の内生植物ホルモンは、培養 1 週間目に最も多く増加したことから、培養開始前と培養 1 週間目、それぞれ基部側と茎頂側の節間切片を回収し、イルミナ社の HiSeq2500 を用いて Pair-end でシーケンス解析を行った。 〔研究成果の概要〕 新たに配属された学生とともに、昨年度実施した RNA-seq データの解析を引き続き行った。RNA-seq で得られたデータについて、cutadapt でアダプター配列を除去し、<i>de novo</i> アセンブリで得られたリファレンス配列にマッピングを行っている。また、トレーニングコースの BLAST 自由自在に参加し、コマンドベースでの大規模な配列解析の手法を学んだ。 〔今後の展望〕 前年度達成できなかった eXpress を用いた遺伝子ごとのカウント情報を取りまとめとトコンと同じアカネ科のコーヒーの木のアライメント情報を元にした発現解析を進める。
研究成果発表等の予定	第 61 回日本植物生理学会年会で口頭発表
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 4 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：千葉大学大学院園芸学研究科
氏名：島田 貴士

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	新規植物脂質制御因子の探索と機能解析		
課題番号	18-412		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	千葉大学 園芸学部	学部生	足立 充紀
	千葉大学 園芸学部	学部生	山口 萌

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	脂質は植物にとって重要な物質である。脂質合成に関わる酵素反応系の研究は進んでいるが、脂質合成経路を制御する機構については未解明の部分が多い。本研究では、申請者が単離した脂質制御系に異常を持つシロイヌナズナ変異体について、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析により同定し、新たな脂質制御因子の発見を目指すことを目的とした。また、ステロールを異常蓄積するシロイヌナズナ <i>hise1 psat1</i> 二重変異体を用いて、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析を行った。 2018 年度の研究により、全ゲノム解析を行った変異体 4 ラインのうち、2 ラインについて原因遺伝子の同定に成功している。このうち、<i>lipid rich 1</i> と名付けた変異体の原因遺伝子は、機能未知の葉緑体タンパク質をコードしており、新たな脂質制御因子の発見につながっている。また、残りの変異体 2 ラインについては、候補遺伝子のさらなる絞り込みを行っている。 <i>hise1 psat1</i> 二重変異体のトランスクリプトーム解析により、この変異体では環境ストレスに応答する遺伝子の発現が上昇していることが明らかになった。これらの遺伝子については、定量 PCR を用いた解析においても発現が上昇することを確認している。これらの解析から、ステロール過剰蓄積の影響による遺伝子発現変動の実態が明らかになってきていると考えている。
研究成果発表等の予定	全ゲノム解析を行った変異体解析について、<i>lipid rich 1</i> に関するデータは、2019 年度エンドメンブレンミーティングにて、学会発表を行うことを考えている。<i>hise1 psat1</i> 二重変異体のトランスクリプトーム解析については、現在、このデータを用いた投稿論文を執筆しており、2019 年度中の投稿を目指している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 3 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京大学大学院総合文化研究科
氏名：伊藤 元己

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	アキノキリンソウ群（キク科）の生態ゲノム学的研究		
課題番号	18-413		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治 准教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	東北大学学術資源研究公開センター・植物園	教授	牧 雅之
	基礎生物学研究所	教授	長谷部 光泰
	東京大学大学院総合文化研究科	助教	久保田渉誠
	京都大学大学院人間・環境学研究科	助教	阪口 翔太

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	平成 30 年度までにアキノキリンソウのゲノムアセンブルを 3 種類のデータに基づいて行った結果, IlluminaPE+MP データから SvHa6 (total: 8.2Mbp, N50: 62k, 26k scaffolds), Pacbio データから SvHa canu41 (total: 9.7Mbp, N50: 59k, 19k scaffolds), 10x ライブラリから SvHa10x (total: 10.7Mbp, 120k scaffolds) まで配列を集約できた. CEGMA を用いて 256 種の保存的遺伝子の相同遺伝子を探索したところ, 完全検出できたものが 90%を占め, single-copy 遺伝子を対象とする BUSCO 解析では 3 つのリファレンスともに 85%前後の検出率を記録した. 次に, 最も N50 が長くなった SvHa canu41 をリファレンスとして, 北海道の異なる土壌に生育する 4 集団のマッピング・変異検出を行った. その結果, 蛇紋岩土壌と非蛇紋岩土壌の集団間では, Mg²⁺, K⁺, NO₃⁻, 重金属等のイオントランスポーター周辺の遺伝的分化度が高くなっていた. また, 蛇紋岩土壌の集団は早期開花性を持つことから, 開花遺伝子の分化にも着目して解析を行ったところ, FT と GA2 がアウトライヤーとして抽出された. こうした, 自生地環境や表現型と関係する候補遺伝子は局所環境への適応に寄与している可能性が高いため, 今後はより詳細に集団遺伝学的解析を行うことでその点を検証していく.
研究成果発表等の予定	平成 31 年 31 月に開催された, 日本生態学会神戸大会において, 1 件の研究発表を行った. 阪口翔太, 堀江健二, 重信秀治, 山口勝司, 長谷部光泰, 瀬戸口浩彰, 石川直子, 久保田渉誠, 倉島治, 牧雅之, 木村拓真, 喜屋武隆太, 伊藤元己 (2019) 寒い高山と暑い蛇紋岩地で平行進化した早咲きアキノキリンソウのゲノム解析, 第 66 回日本生態学会, 神戸.
備考	

※公開できない内容は省略し, 簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 23 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：中央大学理工学部生命科学科
氏名：福井彰雅

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	<i>Xenopus</i> 属の異質倍数化機構の解析と <i>X. laevis</i> ゲノム情報の活用		
課題番号	No.18-414		
研究期間	2018 年 6 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	中央大学理工学部	共同研究員	平良眞規
	東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所	准教授	近藤真理子
	同・生物科学専攻	大学院生	池田貴史
	産業技術総合研究所	主任研究員	原本悦和
	基礎生物学研究所	特任准教授	重信秀治
	基礎生物学研究所	技術職員	尾納隆大
	基礎生物学研究所	技術職員	牧野由美子

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本年度の研究計画として、(1) 異質倍数化機構の解析、(2) 胞胚腔液のプロテオーム解析、(3) 変態期の消化管の RNA-seq 解析、を予定したが、主として (1) と (3) を進めたので、それらの概要を述べる。 (1) 異質倍数化機構の解析：異数倍数化は種間雑種の形成から始まるので、アフリカツメガエル (<i>Xenopus laevis</i>) とキタアフリカツメガエル (<i>X. borealis</i>) の雑種のオスの精子について FACS を用いて調べる予定であった。しかし、性成熟の年齢に達しても雄の特徴が現れないことより、予定を変更して精巣の形態学的解析を進めることにした。その結果、精巣は形成されるものの精子数が非常に少ないという予備的結果を得た。精巣が形成されていることより、ホルモン刺激により精子形成が促進される可能性が考えられ、次はその実験を行う予定である。 (3) 変態期の消化管の RNA-seq 解析：<i>X. laevis</i> の変態前の stage 53/54 と変態中の stage 60-62 のオタマジャクシの消化管を摘出し、RNA-seq 解析を行った。その結果、変態中の胃の幽門部に特異的に発現を開始する候補遺伝子を多数同定した。今後それらが実際に時期と領域特異的に発現するかを、切片 in situ ハイブリダイゼーションにより検討する予定である。
研究成果発表等の予定	変態期の消化管の RNA-seq 解析の結果は、日本ツメガエル研究会首都圏集会（立教大学；2019 年 3 月 2 日）で発表した。現在、投稿論文を執筆中である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 8 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 首都大学東京 理学部
氏名： 岡田泰和

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	トゲオオハリアリのゲノム解読およびエピゲノム解析		
課題番号	18-415		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	自然科学研究機構 生命創成探究センター 認知ゲノム研究グループ	特任准教授	郷 康広
	東京大学 大学院 総合文化研究科	博士過程1年	藤岡 春菜
	沖縄科学技術大学院大学(OIST), 進化生態ユニット	准教授	Alexander S Mikheyev

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	Chromium システムを利用し, 基生研の方々のスタッフの方々のサポートを受け, DNA 抽出の条件検討の検討を完了し, ドラフトゲノム配列が得られた. 引き続き, PacBio による長鎖の配列情報の統合や, 引き続きインフォマティクス解析を進めていく予定である. カースト分化の分子基盤・生理基盤については, 活動活性や代謝活性を調べる実験により, 若齢から高齢にかけて, 大幅に活動量や代謝量が上がることがわかってきた. これらの行動実験をもとに, 活動パターンのことなる (異なる個性を持つ) 個体間での遺伝子発現比較を行うため, 引き続き飼育実験・生理学的実験を継続して行っていく.
研究成果発表等の予定	印刷中論文として, Ant activity-rest rhythms vary with age and interaction frequencies of workers. Fujioka H, Abe MS, Okada Y*. Behavioral Ecology and Sociobiology (2019) in press
備考	

※公開できない内容は省略し, 簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 9 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：上智大学理工学部物質生命理工学科
氏名：川口 眞理

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	タツノオトシゴの育児嚢の形成に関わる分化因子の探査		
課題番号	18-416		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	上智大学大学院理工学研究科	修士 2 年	原田明里

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	タツノオトシゴは他の魚にはない特殊な「子育て」器官である育児嚢をもつ。育児嚢は袋状の構造をしており、オスの腹側尾部にある。オスの育児嚢内にメスが卵を産み、メスから卵を受け取る過程でオスが精子を放出して受精させる。受精した卵はオスの育児嚢内で発生が進み、孵化した稚魚をオスが出産する。飼育温度などにもよるが、出生後1ヵ月程するとオスの腹側尾部の真皮が盛り上がるようにして育児嚢の原基の形成が始まり、徐々に正中線に向かって隆起して融合し、その後袋状の育児嚢ができることをすでに明らかにしている。本研究では、育児嚢の形成に関わる遺伝子を同定することにより、分子レベルでその形成メカニズムを明らかにすることを目的とする。 タツノオトシゴに雄性ホルモンを処理すると、オスだけでなくメスにも育児嚢が形成される。そこで雄性ホルモンで育児嚢誘導前後のメスの腹側尾部から RNA を抽出し、ライブラリーを作製後、次世代シーケンサーにより、処理 0～10 日までの個体（各日数 4 個体ずつ）で発現している遺伝子の配列を決定した。 今後は、処理前に比べて、処理後に発現量が上がっている遺伝子に着目する。この中から転写因子として知られている遺伝子が見つければ、それが育児嚢の形成に関わる分化因子の可能性が高いだろう。また、アンドロゲン受容体結合タンパク質も見つかってくると期待している。候補遺伝子が見つかった後、in situ ハイブリダイゼーション等を行い、発現局在を調べることにより、これらの候補遺伝子が育児嚢の形成に関わっているのかを検証する。
研究成果発表等の予定	研究成果は、まとめ次第、学会（日本動物学会など）および投稿論文として発表する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 23 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：玉川大学農学部

氏名：宮崎智史

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	アリ類の新奇カーストの分化決定を司る遺伝的基盤の解明		
課題番号	18-417		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所・生物機能解析センター	技術課技術職員	山口勝司

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	アリ類の系統の中では新奇カースト（兵隊や無翅女王など）が数十回にわたり進化し、高度な社会性の進化、ひいては生態学的な成功に寄与したと考えられている。本研究では、新奇カーストである無翅女王とその祖先カーストである有翅女王の両方を有するカドフシアリ <i>Myrmecina nipponica</i> を対象とした ddRAD-seq を行い、両者の遺伝的差異を調べるとともに、カースト決定の責任遺伝子座の特定を試みる。 昨年度に調整したオス成虫 1 個体由来の Chromium ゲノムライブラリーをシーケンスし、ドラフトゲノムを決定した。続いて国内の 4 つの地域集団から得られた有翅女王と無翅女王、合計 96 個体について ddRAD-seq を行い、計 187,040,311 bp のリードを得た。それらを上述のゲノム配列に対してマッピングしたのち、Stacks を用いた集団遺伝学的解析を行った結果、得られた 115,795 遺伝子座のうち 58,654 サイトに多型が検出された。 次年度は、それらの多型データを用いてカースト決定の責任遺伝子座の特定を試みる。同属種では女王カーストが一つの仮想遺伝子座の対立遺伝子組成 (GG, Ge, ee) により決定される、つまり GG の場合のみ有翅女王に、Ge 及び ee では無翅女王に分化することが知られる。本種についても同様の遺伝システムを仮定し、有翅女王でのみホモ接合となる遺伝子座を責任遺伝子座候補として探索する。
研究成果発表等の予定	国内外の学会で成果発表を行う予定である。また、国際誌への投稿準備を開始する。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 杏林大学 医学部
氏名： 栗崎 健

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ショウジョウバエ種群における精子形成機構と脳神経系の発生機構の遺伝的多様性の解析		
課題番号	18-418		
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	重信 秀治 教授 (生物機能分析室)		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	杏林大学・医学部	講師	佐藤 玄
	杏林大学・医学部	博士研究員	小野 美奈子
	杏林大学・医学部	研究助手	佐藤 世都子

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	脳神経回路の多様性をもたらす分子機構を明らかにするために、ショウジョウバエ近縁種を用いて、発生過程の脳神経組織で発現する遺伝子の発現変動について、種間の比較を行うことを計画した。2017 年度において、キイロショウジョウバエ、アナナスショウジョウバエ、カスリショウジョウバエの 3 種より、発生ステージの異なる幼虫の脳中枢神経系をから抽出した RNA を用いて 3 9 種類のライブラリを作成し、2018 年度にそのシーケンス結果を得た。2018 年度は、キイロショウジョウバエとアナナスショウジョウバエに特に注目して、発生ステージ間における遺伝子発現の違いについて解析を行い、それぞれの種で発生ステージ特異的なパターンで発現変動のある遺伝子を同定した。2019 年度は、カスリショウジョウバエのデータについても解析を行い、3 種をあわせて、時系列的な発現において共通して同じ発現変動様式をとる遺伝子のクラスタリング解析等を行い、進化的共通性と多様性について調べる。 また、昨年度中断していた、精巣において、精子の発生ステージ特異的に発現する遺伝子の種間の比較についても、2019 年度において結果を公開できるように解析を完成させたい。
研究成果発表等の予定	未定
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：横浜市立大学
氏名： 小川毅彦

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	In vitro 精子形成を改善するための因子の同定		
課題番号	18-419		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	横浜市立大学医学群分子生命医科学系列創薬再生科学（生命医科学）	助教	佐藤卓也
	横浜市立大学大学院医学研究科泌尿器科学）	大学院生	三條博之

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	我々は、体外においてマウス精子形成の全過程を誘導可能な器官培養法を 2011 年に報告した。この成功の鍵となったのは、AlbuMAX (AL) というアルブミン製剤であり、このアルブミンに結合している何らかの物質群が精子形成誘導を担っていると考えられている。現在、我々は AlbuMAX を用いずに、化学組成の明らかな物質群のみで精子形成できる培養液 (Chemically-defined 培地; CD) の作製を行っている。しかし、その精子形成は AL 培地には及ばない不完全なものである。本研究では、精子形成の開始・進行に必要な因子を同定することで、AL 培地を越える培養液の開発を図ることが目的ある。そのために AL および CD 培地で培養した精巣と生体内精巣(Vivo)の RNA-seq を行い、3 者のトランスクリプトーム解析の比較から、精子形成の必要因子や阻害原因の特定を試みた。 今回これらの RNA-seq の結果から、培養開始直後の培養精巣において免疫関連遺伝子、特に炎症応答遺伝子の発現が大きく上昇していることが明らかになってきた。一方で Vivo に比べ BMP や WNT シグナル経路関連遺伝子の発現低下が見られた。現在、これらの現象が体外精子形成を阻害する要因となっているのか因果関係を調べている。特に炎症反応の抑制や BMP や WNT シグナルの補完によって体外精子形成誘導効率を向上が可能か検討している。これらの成果によって、AL 培地よりも精子形成に適した培地の開発や他の動物種に適用可能なユニバーサルな培養液の開発につながることを期待している。
研究成果発表等の予定	未定
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

2019 年 4 月 8 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：理化学研究所 環境資源科学研究センター
氏名：白須 賢

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	根、及び根圏における植物-微生物相互作用の分子機構の解明		
課題番号	18-420		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所	教授	長谷部 光泰
	金沢大学 学際科学実験センター	助教	西山 智明
	理化学研究所 環境資源科学研究センター	専任研究員	門田 康弘
	理化学研究所 環境資源科学研究センター	研究員	石垣 祐二
	理化学研究所 環境資源科学研究センター・JST さきがけ研究員	研究員	市橋 泰範
	理化学研究所 環境資源科学研究センター	研究員	佐藤 一輝

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本年度までの基生研 重信准教授のグループとの共同研究により、アレナリアネコブセンチュウ(<i>Ma</i>)の本州型、及び沖縄型のゲノムをPacBio シークエンサーにより解読し、高品質なゲノムデータを取得した。予測した遺伝子の中で病原性を担うエフェクターの一般的な特徴(N末端側に Secretion signal peptide を持ち、膜貫通領域を持たない)を持ち、かつ感染後に劇的に発現が上昇する遺伝子を絞り込んだところ、<i>Ma</i> 本州型から 63 遺伝子、<i>Ma</i> 沖縄型から 95 遺伝子のエフェクター候補を絞り込むことができた。そこで、これら候補遺伝子を植物に発現させることにより、植物免疫に及ぼす影響を調べたところ、いくつかのエフェクターは免疫反応の一つである活性酸素生成を抑制することが分かった。また、酵母ツーハイブリッドスクリーニングによりターゲットとなる植物因子の探索を開始し、いくつかのエフェクターについては興味深いターゲットタンパク質を得ることができた。今後は線虫エフェクターの分子機構の解明を目指すとともに、<i>Ma</i> 両系統における違いを分子レベル、及びゲノムレベルで解明し、病原性の進化に迫る。一方、根で赤色色素と抗生物質の生産が誘導される放線菌においては、その生合成遺伝子クラスターを同定するとともに、その生合成遺伝子の転写活性化因子を明らかにした。遺伝子破壊実験により、赤色色素は抗生物質であることを明らかにした。また、根より分離した放線菌 22 株の PacBio ゲノムシーケンスおよび <i>de novo</i> アセンブリが行われた。
研究成果発表等の予定	沖縄型のゲノムについては本年度に誌上発表を行った (Sato et al., 2018, Genome Announcement. 28;6 (26))。本年は、<i>Ma</i> 沖縄型に対して強い抵抗性を示すが <i>Ma</i> 本州型には感受性を示すナス科抵抗性台木の遺伝子発現解析、及び生理学的解析データについて投稿の準備を進めている。さらに、根で二次代謝が活性化される放線菌の研究については投稿に向けて準備を行っている。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：新潟大学 農学部
氏名：岡本 暁

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	道管液のペプチドミクス・プロテオミクスを用いた地下部-地上部間の相互作用の探索		
課題番号	18-421		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	植物は根、茎、葉、子実などの異なる性質を持つ複数の器官により構成されている。植物の生長は土壌栄養をはじめ様々な外的な因子に影響を受ける。そのような環境のもとで植物が効率的な生命活動や生産活動を行ったりするには器官同士のコミュニケーションを介した全身レベルでの適応が必要である。そこで根から地上部への新たな情報伝達因子を見出すことを目的として、ダイズとトマトをそれぞれ低窒素、リン欠乏、カリウム欠乏条件下で栽培し、それらから採取した道管液を用いてプロテオミクス・ペプチドミクス解析を行った。その結果、ダイズからは 1751 個、トマトからは 1349 個のタンパク（またはペプチド）を同定することに成功した（FDR < 5%）。また、その中からダイズでは 12 個、トマトでは 5 個の分泌型ペプチドを見出すことができた。ダイズ道管液から同定されたペプチドのうち、新規に同定されたペプチドについて、それらのペプチドをコードする遺伝子の発現解析を行った。その結果、複数のペプチド遺伝子は主に根で発現していたことから、それらのペプチドは根由来のものであることが考えられた。また、それらのペプチドの中には低窒素、リン欠乏、カリウム欠乏条件において発現応答を示すものもあった。そのため、今後はそれらのペプチドをコードする遺伝子について、発現量の経時的な変化や機能解析を行う予定である。また、合成ペプチドの添加実験も行い、植物体に与える効果を解析したい。なお、トマトの道管液から同定されたペプチドの数はダイズと比べて半分以下であった。その理由の一つとして、トマトのデータベースに含まれるタンパクの数がダイズのものよりも少ないことが考えられる。今後はその対策も検討する必要がある。
研究成果発表等の予定	これまでの研究成果は 2018 年度に開催された第 60 回日本植物生理学会年会、日本作物学会第 247 回講演会で発表した。今後も研究の進展を上記の学会などで発表したい。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 16 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：富山大学大学院理工学研究部（理学）
氏名：前川 清人

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	高度な社会システムの構築機構を探るモデル昆虫「シロアリ」の進化をもたらした分子基盤の解明		
課題番号	18-422		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	日本大学・文理学部	助手	梅 浩平
	琉球大学・熱帯生物圏研究センター	学術研究員	矢口 甫
	農研機構・生物機能利用研究部門	学術研究員	増岡 裕大
	富山大学・大学院理工学教育部	大学院生	鈴木 隆太郎
	富山大学・大学院理工学教育部	大学院生	鈴木 諒平

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	一部の生物で見られる高度な社会性の進化は、多細胞化の獲得と並び、生物進化の最大のイベントであったと考えられている。社会性はいくつかの系統で独立して進化したが、繁殖活動を含む個体間での労働分業が成立している点や、それらを支える個体間の複雑な情報伝達が存在することなど、多くの点に類似性が認められる。社会性の進化には分子レベルで如何なる変革が必要だったのかについては、この10年ほどで様々な研究が行われてきたが、系統的に遠縁で全く独立して社会性を進化させたグループ間での比較解析は殆ど行われていない。したがって、類似した社会システムを構築させる分子基盤にどこまで共通性があり、多様性がどのような意味を持つのかは、未だ不明なままである。本研究は、この分子基盤を総合的に理解するために、シロアリと近縁なゴキブリを主な対象としてゲノム・トランスクリプトーム解析を行った。特に注目したのは、脱皮を伴うカースト分化のメカニズムである。具体的には、モデル種であるネバダオオシロアリを用いて、兵隊分化の予定個体で特異的に発現上昇する遺伝子を解析した。発現変動する遺伝子をリストアップし、GO および KEGG 解析を行ったところ、ホルモン経路や形態形成遺伝子群と密接に関係することが知られる Hippo シグナル経路が、兵隊分化時に特異的に活性化することが明らかになった (Yaguchi et al. 2019)。今後、リストアップされた重要な遺伝子群の機能解析を進めていく予定である。また、それらの重要な遺伝子群の進化的な特徴を明らかにするために、近縁なゴキブリ類の成虫と若虫間の RNA-seq ライブラリーを作成した。現在シーケンスが完了したところであり、リストアップされた配列と発現パターンをシロアリのデータと付け合わせ、共通点と相違点を整理する予定である。
研究成果発表等の予定	本年度に発表した研究成果は次の通り（謝辞に課題番号を記載）。 Yaguchi H, Suzuki R, Matsunami M, Shigenobu S & Maekawa K (2019) Transcriptomic changes during caste development through social interactions in the termite <i>Zootermopsis nevadensis</i>. <i>Ecology and Evolution</i>, 9: 3446-3456.
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 19 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 富山大学 解剖学講座

氏名： 川口 将史

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	脳の進化が種分化を促した？：交配前隔離を制御する脳内因子の同定		
課題番号	18-423		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治 教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本共同研究の目的は、ハゼ目魚類に特徴的な終脳領域として見出された、終脳腹側野中心部（Vc）で発現する遺伝子群を同定することである。薄切切片からレーザーキャプチャーマイクロダイセクション（LCM）にて Vc 領域を切り出し、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析を行う。現状では、LCM に適う薄切切片の作成技術の習得に時間を費やしている。キンギョ脳を用いて 16 μm 厚の薄切切片を作成し、LCM 用メンブレンスライドガラスに貼り付けて HistoGene で染色するまでの工程について、技術確立を進めている。切片作成時の温度管理方法やメンブレンスライドガラスの保管方法の改良に伴い、薄切切片の品質は向上してきている。幸い、2019 年度にも継続して本共同研究を進めさせていただけることになったので、2019 年度はヨシノボリ脳で薄切切片を作成し、LCM による Vc 領域の切り出しからトランスクリプトーム解析まで進めたい。
研究成果発表等の予定	これまでに、ハゼ目魚類ヨシノボリの終脳アトラスを作成し、Vc 領域の特殊性について言及した論文を公表している（Kawaguchi et al, 2019, <i>J. Comp. Neurol.</i> 527）。この特殊な脳領域に発現する遺伝子群を網羅的に同定し、それらの分布パターンを解析することで得られる知見は、前回の論文の続報として成果報告が可能である。さらに、Vc 領域は哺乳類の線条体に相同な領域と考えられ、知覚に伴う行動選択の中核として機能する可能性がある。同定された遺伝子群に対する薬理学的な操作で行動選択に影響があれば、その結果も含めた研究成果の公表が期待される。
備考	なし。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 9 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立遺伝学研究所
氏名：宮城島 進也

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ミドリゾウリムシ独立栄養培養系を用いた光合成を基盤とする任意細胞内共生維持機構の解析		
課題番号	18-425		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	国立遺伝学研究所	博士研究員	小林 優介

研究成果の概要及び今後の展望	真核細胞による光合成能獲得は、藻類補食、藻類の一時的保持(盗葉緑体;任意共生)、絶対共生(葉緑体)の順に進行したと考えられている。この進化過程の理解は、光合成真核生物の誕生と多様化を理解する上で非常に重要であるが、ほとんど理解が進んでいない。この問題を解く有力な手段として、光合成を基盤とした任意共生系を対象として、細胞内共生の成立に必要な、宿主及び共生体に求められる要件を理解することが挙げられる。そこで本研究では、ゾウリムシとクロレラの任意細胞内共生系(ミドリゾウリムシ)を用いて、両者の代謝産物を介した相互作用を明らかにするとともに、宿主ゾウリムシと共生クロレラそれぞれに求められる共生を成立させるために必要な要件を明らかにすることを目的とする。本年度は、光合成において重要な窒素代謝に注目した解析を行った。 ゾウリムシ宿主の共生クロレラへの窒素源供給と共生クロレラの窒素源利用形態を解明するため、ミドリゾウリムシ、単離した共生クロレラ、独立生活クロレラを様々な濃度の無機窒素源及びアミノ酸存在下で培養した。さらに、共生藻がどのように窒素源のやり取りをしているのか推測するための予備データを得るために、各培養条件に於ける RNA-seq 用ライブラリーを作成するとともに、共生クロレラのゲノムを解読した。 共生クロレラは独立生活クロレラに比べて、無機窒素源を同化する能力が顕著に低い一方で、外界からアミノ酸を取り込み効率よく増殖に利用できることが明らかとなった。ミドリゾウリムシ及び、単離共生クロレラの各窒素源含有培地における培養条件を決定し、それぞれの培養から total RNA を調整し、TruSeq stranded mRNA sample preparation guide に従いライブラリー調整を完了した。対数増殖期の単離共生クロレラからゲノム DNA を抽出し、PacBio によるシーケンシングを行い、PCR フリーのイルミナショートリードを用いて補正することで今後の研究の基盤となる共生クロレラのゲノム情報を取得した。 共生クロレラは宿主が生産する有機化合物を窒素源として利用し、光合成・増殖を行っているかと推測される。今後 RNA-seq データ及びゲノム配列を解析することで、宿主及び共生体が、それぞれの様な代謝経路により窒素源をやり取りしているのか推定するための情報が得られると期待される。
研究成果発表等の予定	
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立遺伝学研究所
氏名：酒井 則良

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ゼブラフィッシュ精原細胞で発現する rRNA の解析		
課題番号	18-426		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治 准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	国立遺伝学研究所	助教	河崎敏広

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	精原幹細胞の分化に異常を示すゼブラフィッシュ変異体の解析から、その原因遺伝子がコードするタンパク Meioc はリボソームと結合していることがわかった。その rRNA をゼブラフィッシュのリファレンスゲノム (GRCz10) で調べたところ、5.8S 遺伝子 10 コピーのうち、Moto タンパクと結合しているのはそのうちの 2 コピーのみであった。このことは、Moto タンパクは特定の 5.8S rRNA と結合しているか、あるいは精原細胞ではこの 2 コピーのみを特異的に発現していることを示しており、精原幹細胞の分化に特異的 rRNA が制御を受ける可能性を提示するものである。しかし、既存のゼブラフィッシュのゲノムアセンブルには十分に rRNA がアノテーションされておらず、詳細な解析は困難である。そこで本研究ではゼブラフィッシュの rRNA を網羅的にシーケンスし、多型を区別したうえで rRNA のレパートリーを構築して、精原細胞で発現する rRNA と Moto タンパクに結合するリボソームを明らかにすることを目的とした。 ゼブラフィッシュ近交系 IM の精巣と筋肉から、Trizol を用いて total RNA を抽出し、Dnase I、Rneasy Mini Kit で RNA を精製後、PacBio のための cDNA ライブラリー構築を行なった。しかし、十分な長さの cDNA を含むライブラリーを構築することはできなかった。そこで、PacBio の Sequel の Amplicon-seq で ribosome DNA を読もうという戦略に切り替えて準備を進めている。
研究成果発表等の予定	まだ、成果発表できる結果は得られていない。得られ次第、学会発表するとともに、論文発表を進める。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 21 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：名古屋大学大学院理学研究科
氏名： 田中実

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカ生殖細胞性決定に関する遺伝子の網羅的解析		
課題番号	18-427		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	名古屋大学大学院理学研究科	助教	西村俊哉
	名古屋大学大学院理学研究科	大学院生	菊地真理子
	名古屋大学大学院理学研究科	大学院生	市川莉沙子
	名古屋大学大学院理学研究科	大学院生	Jose CARRANZA
	大阪医科大学 医学部 生理学教室	助教	山本耕裕

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	哺乳類を除く多くの脊椎動物の未分化型の生殖細胞（生殖幹細胞）は、それが卵巣にあっても精巣にあっても卵と精子の両方の配偶子になりうる能力を持つ。我々は <i>foxl3</i> 遺伝子がこの遺伝子は生殖細胞自律的に卵か精子かの運命決定を行うスイッチ遺伝子であることを示してきたが、このスイッチが入った後にどのような制御行われるのかは不明であった。 共同利用研究により、<i>foxl3</i> 遺伝子変異体メダカと野生型メダカの生殖細胞の性特異的トランスクリプトーム間の差情報を得ることができた。そこから得られた候補遺伝子に対して発現解析、エピスタティック解析、ChIP 解析等を行い、最終的に FOXL3 が制御する遺伝子（発現に FOXL3 を必要とする遺伝子）の同定に成功した。 同定された遺伝子は2つ（<i>rec8a</i> と <i>fbxo47</i>）で、いずれも予想外の遺伝子であった。FOXL3 は哺乳類には見出されなかった。しかし REC8 と FBXO47 は哺乳類も含めた脊椎動物で保存されている因子である。哺乳類での卵になるか精子になるか運命決定ではレチノイン酸が重要とされているが、そこでは減数分裂促進、配偶子形成、エピゲノム制御などの現象と区別せずに解析されており、一方で魚類ではレチノイン酸が運命決定に関与しないことも報告されている。今回の結果は脊椎動物における「卵になるか精子になるかの運命決定」のあらたな共通の機構解明につながると期待される。 今後は <i>rec8a</i> と <i>fbxo47</i> の遺伝子機能を解析するとともに、何が <i>foxl3</i> 遺伝子の発現を制御しているのかにも迫る。
研究成果発表等の予定	Kikuchi, M., Nishimura, T., Saito, D., Shigenobu, S., Takada, R., Gutierrez-Triana, J.A., Cerdán, J.L.M., Takada, S., Wittbrodt, J., Suyama, M. and Tanaka, M. Novel components of germline sex determination acting downstream of <i>foxl3</i> in medaka. Dev. Biol. (2019) 445, 80-89. doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.10.019 Kikuchi M, Saito D, Shigenobu S., Suyama M, Nishimura T and Tanaka, M. (Oral) Seminar in Collège de France “Analysis of foxl3-downstream genes” April 12, 2018 生殖細胞の性決定機構 ～メダカ <i>foxl3</i> 下流で働く新規因子の同定～ 菊地 真理子、西村 俊哉、斎藤 大助、重信 秀治、高田 律子、José Arturo Gutierrez-Triana、Juan Luis Mateo Cerdán、高田 慎治、Joachim Wittbrodt、須山 幹太、田中 実 日本分子生物学会年会 2018 年 11 月 28 日-30 日 パシフィコ横浜（ポスター） 予定：「有性生殖における染色体・クロマチン・核動態に関する研究会」遺伝研 2019 年 6 月
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 18 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：名古屋大学大学院生命農学研究科附属
鳥類バイオサイエンス研究センター

氏名： 松田 洋一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	RAD シーケンスを用いたウズラ遺伝連鎖地図の作製と突然変異遺伝子の同定		
課題番号	18-428		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	生物機能情報分析室 重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	名古屋大学大学院・生命農学研究科附属鳥類バイオサイエンス研究センター	研究員	石下 聡
	名古屋大学大学院・生命農学研究科・鳥類バイオサイエンス研究室	大学院生	北原 駿平
	自然科学研究機構生命創成探究センター認知ゲノム科学研究グループ	特任准教授	郷 康広
	自然科学研究機構生命創成探究センター認知ゲノム科学研究グループ	研究員	辰本 将司

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	ウズラは鳥類の代表的な実験動物であり、その突然変異体は鳥類の形質の多様化やヒト疾患の病因の解明に貢献できる。また、ウズラのゲノム情報はウズラを用いた分子生物学的研究の基盤情報となる。最近、ウズラでもゲノム解析がなされたが、配列は断片的でありゲノム情報はまだ十分とは言えない。そこで、本研究ではこれまでに RAD シーケンス解析によって得られた SNP を利用して、Z 染色体を含む 28 の連鎖群から構成される高密度の遺伝的連鎖地図を作製した(2016 年度報告済)。その後、Chromium システムを利用した解析によって、これまでものとは比べて Scaffold N50 と Contig N50 がともに約 4 倍となり、さらに高精度なアセンブルを作成することができた(2017 年度報告済)。2018 年度は、SNP マーカーの遺伝的連鎖地図と新たに得られたゲノム配列情報を統合し、ゲノムアセンブルの改良を行なった。今後は、これをもとに、すでに公開しているウズラゲノムブラウザを更新する。 ウズラの黄色羽装変異体の原因遺伝子として <i>PMEL</i> 遺伝子を同定し(2017 年度報告済)、投稿論文として発表した(Ishishita et al. <i>Scientific reports</i> 8(1):16732, 2018)。また、新たなウズラ変異体について、RAD シーケンス解析によって、責任遺伝子を含むゲノム領域をマクロ染色体の約 600kb の範囲にマッピングし(2016 年度報告済)、さらに、ゲノムリシーケンスによって候補領域を 170kb の範囲に狭めた(2017 年度報告済)。2018 年度には、候補領域の多型解析や遺伝子の網羅的な発現解析などによって有力な候補遺伝子が見いだされた。今後は、より詳細なゲノム解析により原因変異を同定し、その機能を明らかにする。
研究成果発表等の予定	新たなウズラ突然変異体の候補遺伝子の同定に関する研究成果を投稿論文として報告する。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 26 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 基礎生物学研究所細胞動態研究部門
氏名： 上田 貴志

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	オルガネラの新規獲得と膜交通経路開拓機構の解明		
課題番号	18-429		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所 生物機能情報分析室	技術職員	山口 勝司
	基礎生物学研究所 細胞動態研究部門	助教	金澤 建彦

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	【概要】 陸上植物が独自に獲得したオルガネラの発生と、それに関連した細胞状態の変化に注目した転写プロファイリングを通して、植物におけるオルガネラの新規獲得機構を解明する。 細胞動態研究部門では最近、苔類特異的オルガネラである油体への膜交通経路が、細胞状態の変化に応じた分泌経路の一過的再配向に由来することを発見するとともに、この輸送方向の変換が、たった一つの転写因子（本報告書では以降 MpAP2 と記載）の発現の制御下にあることを見出した。そこでこの輸送方向転換に関連する因子群の同定および解析を行うため、MpAP2 の機能獲得変異体および機能欠損変異体を用いてRNA-Seq解析を行った。その結果、136遺伝子がMpAP2により制御されていることが明らかになった。これら遺伝子群の一部に対してqRT-PCRおよび蛍光タンパク質融合コンストラクトを用いた解析を行い、RNA-Seq解析のデータの妥当性を確認するとともに、MpAP2 で制御される因子群が油体細胞で機能していることを明らかにした。さらに、輸送方向転換に関わる因子を同定するために、これら遺伝子破壊株を作出しその影響について現在解析を進めている。 【展望】 MpAP2 の発現誘導系を用いた時系列サンプルのqRT-PCR解析を行ったところ、比較的早いタイムポイントで発現上昇する遺伝子と比較的遅いタイムポイントで発現上昇する遺伝子の2グループに分類される傾向が見られた。前者はMpAP2の直接の標的遺伝子であり、後者は別のシステムを介した発現誘導であることが推定される。この発現誘導システムと前述の遺伝子破壊株の結果を統合することで、輸送方向転換に関与する分子の同定および機能解明が進捗すると期待される。
研究成果発表等の予定	本研究成果の一部は、EMBO Workshop (2018年6月20-23日, リスボン, ポルトガル), 21th ENPER meeting 2018 (2018年9月4-7日, ウィーン, オーストリア), 第60回日本植物生理学会年会 (2019年3月13-15日, 名古屋), Japan-Taiwan Plant Biology 2019 (2019年3月14日-16日, Nagoya, Japan)で発表を行うとともに、学術原著論文として投稿準備を進めている。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 8 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：基礎生物学研究所 生殖細胞研究部門
氏名：吉田 松生

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	発生期および成体期におけるマウス生殖細胞の細胞系譜および遺伝子発現の解析		
課題番号	18-430		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所	助教	中川 俊徳
	基礎生物学研究所	研究員	池田 達郎
	基礎生物学研究所	大学院生	平野 高大

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	マウス胎児の始原生殖細胞（PGC）は発生過程で約 2 万個まで数が増える。オスでは、このうち一部の細胞のみが、成体の生涯にわたる精子産生を支える精子幹細胞を作り出すことが示唆されている。本研究では、個々の PGC を異なる DNA 配列（バーコード）で標識してそれぞれの系譜を識別することによって、PGC から精子幹細胞に至るレパートリー動態を解析することを目的としている。 平成 30 年度はまず、29 年度末からおこなわれた次世代シーケンシングで得られたリード情報を元に CCS を計算した。その結果、生殖細胞において計画通りバーコード配列が生成され、レパートリーを解析できることが確認された。しかし、現在用いているマウス系統では生殖細胞以外の細胞にも一部バーコードが導入されてしまう問題が発覚し、昨年度内に新たなシーケンスに供するサンプルを用意して解析を進めることができなかった。そこで、新規トランスジェニックマウス系統の作成を行った。このマウスを用いると上記の問題が回避することが可能となったため、今後は様々な条件でバーコードを導入し、取得した生殖細胞バーコードのシーケンスを行うことを計画している。これによって、生殖細胞系譜の削減過程の解明を目指す。
研究成果発表等の予定	今のところなし。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

平成31年 4月 17日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 基礎生物学研究所
氏名： 長谷部 光泰

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	生物進化の分子機構の解明		
課題番号	18-431		
研究期間	平成30年 4月 1日 ～ 平成31年 3月31日		
所内対応者	重信 秀治 教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所・生物進化研究部門	助教	玉田 洋介
	基礎生物学研究所・生物進化研究部門	助教	石川 雅樹
	基礎生物学研究所・生物進化研究部門	大学院生	Gergo Palfalvi
	基礎生物学研究所・生物進化研究部門	特別共同利用研究員	Gu Nan

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	ヒメツリガネゴケでは、葉を切断すると切断面の分化葉細胞に幹細胞化を誘導することができる。転写因子 Squamosa promoter binding proteins (SBPs) はその幹細胞化の抑制に機能するとともに、通常の発生過程において茎や葉、造精器、造卵器の細胞伸長を促進する働きを持つ。SBP の下流遺伝子と、SBP がどのように幹細胞化抑制に機能するようになったかを解明するため、野生株と SBP 遺伝子多重欠失株の切断葉、栄養成長期の茎葉体茎頂、造精器・造卵器を誘導した茎葉体茎頂を用いたトランスクリプトーム比較を行った。現在結果を解析中である。 食虫植物フクロユキノシタは、捕虫のためのつぼ型の葉とともに、通常の扁平葉も形成する。捕虫葉形成に関与する遺伝子や制御系を同定するために、捕虫葉と扁平葉、それぞれの発生過程におけるトランスクリプトーム解析を組織レベルで行った。現在結果を解析中である。また、発現揺らぎの大きい遺伝子が捕虫葉進化に関与したという仮説を検証するために、Chromium を用いた単一細胞核トランスクリプトーム解析を計画しており、そのための条件検討を行った。 上記に加えて、昨年度のシーケンシングの成果として、以下の論文を発表したので報告する。 <u>Kubo M</u>, Nishiyama T, <u>Tamada Y</u>, Sano R, <u>Ishikawa M</u>, Murata T, Imai A, Lang D, Demura T, Reski R, <u>Hasebe M</u>. (2019) Single-cell transcriptome analysis of <i>Physcomitrella</i> leaf cells during reprogramming using microcapillary manipulation. Nucleic Acids Res. in press doi: 10.1093/nar/gkz181.
研究成果発表等の予定	野生株と SBP 遺伝子多重欠失株の切断葉、栄養成長期の茎葉体茎頂、造精器・造卵器を誘導した茎葉体茎頂を用いたトランスクリプトーム比較の結果を解析し、これらの組織で共通に変動する遺伝子を抽出することで、SBP の下流遺伝子を同定するとともに、SBP がどのように幹細胞化抑制に機能するようになったかを推定し、論文を発表する。 フクロユキノシタの捕虫葉と扁平葉、それぞれの発生過程におけるトランスクリプトーム解析を組織レベル・単一細胞核レベルで解明することで、捕虫葉形成に関与する遺伝子や制御系を同定し、論文として発表する。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

2019 年 4 月 18 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 基礎生物学研究所
共生システム研究部門
氏名： 川口 正代司

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植物-微生物共生における宿主シグナリング経路と共生関係確立のための遺伝学的要因の解析		
課題番号	18-432		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所	准教授	征矢野 敬
	基礎生物学研究所	研究員	前田 太郎
	基礎生物学研究所	研究員	中川 知己
	基礎生物学研究所	大学院生	Liu, Meng
	基礎生物学研究所	大学院生	大熊 直生

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	○根粒菌感染過程の宿主初期シグナリングの解明 ミヤコグサ (<i>Lotus japonicus</i>) NF-Y 複合体とこれと相互作用する LjASL18-1 を共発現させた根における RNA-seq を行なった。これらの転写因子は協調的に作用して根粒原基の形成を正に制御するが、遺伝子発現の観点からも協調的作用が確認された。これらの因子が複合体を形成して機能することを支持する結果が得られた。また、<i>ern1-1</i> 変異体での RNA-seq 解析では、ERN1 転写因子が初期応答経路の中心的因子であることが分かってきた。解析結果を活用することで共生情報経路におけるこの因子の役割への理解がさらに進むと考えられる。 ○根粒の着生数を制御する根-シュート遠距離シグナルにおける新規シュート作用因子の同定 マメ科植物は過剰な根粒の着生を抑制するために、シュートを介した AON によって根での根粒形成を抑制する。ミヤコグサのシュートでは HAR1 受容体キナーゼが作用しており、その下流でサイトカニンが合成される。HAR1 が影響するシュート側経路の全貌を明らかにするために、根粒菌の接種によって HAR1 依存的にシュートで発現が変動する遺伝子群を RNA-seq により解析した。その結果、根粒菌の接種によってシュートで HAR1 依存的に変動する約 200 の遺伝子を同定した。 ○根粒共生、菌根共生における TML の標的経路の同定 AON の根-作用因子である TML F-box タンパク質はシュート由来シグナルの下流で根粒及び菌根の形成を抑制する。TML が根粒と菌根共生に共通して制御する因子を同定するために、<i>tml</i> 変異体を用いて、根粒菌、AM 菌の接種後に TML に依存して発現が変動する遺伝子群を RNA-seq によって探索する予定であったが、実験材料を培養していた研究員の異動があり、本課題を進めることができなかった。一方、ヒメハギ科の草本カスミヒメハギについては、広宿主域の根粒菌を感染させ、マメ科植物と異なり根粒を形成しないことを確認した。 ○<i>Rhizophagus clarus</i> HR1 を用いた、アーバスキュラー菌根 (AM) 菌ゲノムの種間比較 愛知県西尾市で単離された AM 菌株である <i>R. clarus</i> HR1 株は、<i>R. irregularis</i> と同属の AM 菌でありながら、in vitro での増殖効率に顕著な違いが認められる。これまで <i>R. clarus</i> HR1 株より十分な量のゲノム DNA を集めることができなかったが、今年度は十分量のゲノム DNA を集めることができた。PubBio シーケンスにより <i>R. clarus</i> の高精度ゲノム解読に成功した (N50 = 1.3 Mbp)。
----------------	--

研究成果発表 等の予定	AM 菌 <i>R. clarus</i> HR1 株の高精度ゲノム解読に成功したので、すでに報告した <i>R. irregularis</i> DAOM 株との比較ゲノム解析を行い、論文として報告する予定である。他の研究課題については、恙無く進めたい。
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 4 月 19 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：自然科学研究機構基礎生物学研究所
氏名：新美 輝幸

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	昆虫新奇形質の形成メカニズムの解明		
課題番号	18-433		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	助教	安藤 俊哉
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	技術職員	水谷 健
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	NIBB リサーチフェロー	森田 慎一
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	学振 PD	酒井 弘貴
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	大学院生	千頭 康彦

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究は、極めて多様性に富む角や翅など昆虫が獲得した新奇形質に着目する。さらに、昆虫が獲得した性特異的な選択スプライシングによる性決定メカニズムや鱗翅目昆虫が獲得した二型精子形成などにも着目する。既にゲノムを解読し、角や斑紋形成に関与する遺伝子を多数同定したカブトム、ナミテントウとその近縁種、さらに性決定遺伝子 <i>Sex-lethal (Sxl)</i> の二型精子形成における新規機能が示唆されるカイコなどを用い、角や翅、性決定、二型精子形成の遺伝子制御ネットワークを解明する。得られた結果をもとに、新奇形質の獲得と多様化の鍵を握る各種昆虫との比較解析を行うことにより、新奇形質をもたらす遺伝子制御ネットワークの獲得と多様化のメカニズム、類似した新奇形質が独立に獲得されるメカニズムを解明することを目標とする。 テントウムシの野外集団には、前翅の斑紋に多型が存在し、各多型と連鎖する遺伝子座が存在することが知られる。Chromium Controller を利用した仮想的なロングリード解析を進めることで、これまでショートリード配列を元にアセンブルを行ってきたゲノムのアセンブリを改善した。また、これまでに解読したドラフトゲノム配列をリファレンス配列として flexible-RADseq 法を用いた連鎖解析を行い、斑紋多型に関与する斑紋形成遺伝子座の候補領域の絞り込みを進めた。今後は、責任遺伝子座周辺に存在する遺伝子を標的とした larval RNAi スクリーニングを行い、斑紋形成遺伝子を機能同定する予定である。
研究成果発表等の予定	論文投稿に必要な結果が全て揃った段階で論文の内容を検討し、よりインパクトの高い雑誌に投稿する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 2018 年度）

2019 年 4 月 26 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：生理学研究所・心循環シグナル
氏名： 西田 基宏

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	G 蛋白質共役型受容体の自発活性化能の生理的・病態生理的意義の解明		
課題番号	18-434		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	九州大学大学院・薬学研究院	講師	西村 明幸
	生理学研究所・心循環シグナル	大学院生	下田 翔

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	申請者らはこれまでに、GPCR 1 遺伝子（GPR-X）を発現させた非興奮性心筋由来細胞株がシリコンチャンバー培養条件下で自発活性化能を獲得することを見出している。シリコンはガラスやプラスチックとは基質の硬さに大きな違いがあることから、この GPR-X 発現細胞は細胞外の硬さを感知している可能性がある。そこで共同研究の目的は、硬さの異なるアガロースゲル状で細胞を培養した場合の自発活性化能を評価することである。これまでに、カルシウムハンドリングタンパク質とは異なる GPR-X を発現させた横紋筋由来細胞を柔らかい基質（シリコン製のストレッチチャンバー）上で培養すると、カルシウムオシレーションが観測されることを見出している。この現象は、ガラスディッシュやプラスチックディッシュ上で培養した場合には観察されていない。 GPR-X 発現細胞において自発活性依存的に変動する遺伝子発現を RNAseq で解析するため、サンプル調整をすすめている。しかし試行回によって細胞が自発活性をもつ割合にバラツキがあり、現段階で RNAseq 解析を行うことは難しいと考えられた。そこでより安定性のある系を探索するため、GPR-X と同じファミリーに属する他の GPCR の発現によっても自発活性化能を獲得するか、スクリーニングを行なった。その結果、いくつかのファミリー分子の発現によって、GPR-X と同様のカルシウムオシレーションが観測された。今後はこれらの分子において、RNAseq 解析にたえうるか、再現性を含めた検討を行なう予定である。
研究成果発表等の予定	いまだ萌芽的な研究段階であり、現段階での研究成果発表の予定はありません。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 2018 年度）

2019 年 4 月 23 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：豊橋技術科学大学応用化学・生命工学系
氏名： 広瀬 侑

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ショートリードシーケンサーによる解析が困難な藻類のゲノム解析		
課題番号	18-435		
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	東京大学大学院総合文化研究科	教授	池内 昌彦
	筑波大学生命環境系	助教	蓑田 歩

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	■<i>Cyanophora paradoxa</i> Pacbio シークエンサーに加え、MinION データも新たに追加で取得し、シーケンスを行った。ribosome 除去および polyA 精製のライブラリを調整して RNA-Seq を行い、アセンブルしたゲノム塩基配列にマッピングした。さらに、BRAKER1 を用いて遺伝子予測を行った。ゲノムのデータを精査し、論文を執筆中である。 ■<i>Galdieria sulphuraria</i> Pacbio シークエンサーを用いてランを実施し、アセンブルを行ったところ、アセンブルソフトによって得られる結果が異なっていた。細胞をシングルクローン化してゲノム DNA を再調整し、MinION を使用して 100kbp 以上のリードを含む、高品質な長鎖リードデータを取得しなおした。アセンブルパラメータを詳細に検討し、収束した結果が得られた。筑波大の蓑田先生より異なる培養条件から抽出した RNA の送付を待っている状況である。 ■<i>Synechocystis</i> および <i>Arthrospira</i> Pacbio シークエンサーのデータをアセンブルし、<i>Arthrospira</i> については、ギャップの無い 6.8Mbp の1本の環状染色体の配列を構築できた。<i>Synechocystis</i> についても、ギャップの無い環状染色体の配列を構築でき、参照ゲノムにはないリボソームオペロンの逆位や 12 カ所の新たな SNP を見出した。プラスミド個数については過去の文献の実験結果と異なる結果が得られ、プラスミドの融合の可能性が示唆された。
研究成果発表等の予定	<i>Synechocystis</i> と <i>Arthrospira</i> と <i>Cyanophora paradoxa</i> については論文をまとめ、早急に投稿を行う。<i>Galdieria sulphuraria</i> については異なる培養条件から抽出した RNA の送付を待っている状況である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 4 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：奈良先端科学技術大学院大学
氏名： 高塚大知

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	DNA 倍加誘導に関わるエピゲノム制御機構の解明		
課題番号	18-436		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治 准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス領域	教授	梅田正明
	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス領域	博士研究員	安喜史織

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本申請の目標は、オーキシンという植物ホルモンの下流でエピジェネティック制御に重要な働きを持つ可能性が示唆されているヒストン脱アセチル化酵素 HDA がシロイヌナズナのゲノムのどの領域のヒストン脱アセチル化を制御しているかを明らかにすることである。 2018 年度は、次世代シーケンス解析に供する <i>hda</i> 変異体の選定を行った。その結果、HDA の機能が欠損した変異体を 2 アリル得ることができた。そこで、この変異体 2 アリルと野生型の花芽を用いてクロマチン免疫沈降実験を行い、次世代シーケンスにかけるに相応しい ChIP DNA を得ることができた。この ChIP DNA を用いて基礎生物学研究所の重信秀治准教授の指導の下、次世代シーケンス用ライブラリの作製を行い、現在、次世代シーケンス解析の準備を進めている段階である。 2019 年度も本共同利用への継続申請を採択していただいたので、得られた次世代シーケンスデータの解析に進みたいと考えている。重信准教授、山口技術職員と協同し、<i>hda</i> 変異の影響がゲノムのどの領域で出ているかを明確にし、オーキシンが HDA を介してどのようにシロイヌナズナのクロマチン動態を制御しているかを明らかにしていきたいと考えている。また、論文化に向けてプロジェクトの方針をより具体化する中で、再度 ChIP-seq 解析を行い、オーキシン処理下でのヒストンアセチル化の変化を明らかにしていく必要が生じることも視野に入れている。
研究成果発表等の予定	2019 年度に得られる解析結果を中心にした学術論文の投稿準備を行う予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018年度）

2019年4月12日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪府立大学生命環境科学研究科
氏名：青木 考

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	茎寄生植物アメリカネナシカズラと宿主植物間でのsmall RNA移行の解析		
課題番号	18-437		
研究期間	2018年4月1日 ～ 2019年3月31日		
所内対応者	重信 秀治 教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	大阪府立大学・生命環境科学研究科	教授	青木 考
	大阪府立大学・生命環境科学研究科	博士後期課程2年	Bera Subhankar

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	2018 年度は、前年度に本共同利用研究によって取得したアメリカネナシカズラ・シロイヌナズナ寄生系の small RNA-Seq リードの解析を行なった。アメリカネナシカズラ・シロイヌナズナ寄生系、ならびにネナシカズラ・ダイズ寄生系から small RNA-Seq リードのマッピングにより、寄生植物と宿主植物間で長距離移行している sRNA を候補化した。さらに寄生植物と宿主植物の相互作用に重要な移行性 sRNA を選抜するために、アメリカネナシカズラ・シロイヌナズナ寄生系ならびにネナシカズラ・ダイズ寄生系で、共通する転写物から生成される sRNA と、共通する標的転写物をもつ sRNA を選抜した。それらの sRNA が実際に相手方の植物に見いだされるかどうかをステム・ループ PCR 法によって確認した。この結果、宿主植物の <i>NIMA-3</i>、<i>SurE</i>、<i>PFT1</i> 等を標的とする sRNA が二つの系で寄生植物から宿主植物に移行していること、寄生植物の <i>ABC Transporter</i>、<i>Pectin Acetyltransferase</i> 等を標的とする sRNA が二つの系で宿主植物から寄生植物に移行していることが明らかとなった。このうち <i>NIMA-3</i>、<i>SurE</i>、<i>PFT1</i> は標的転写物の蓄積量が、寄生状態において非寄生状態よりも減少しており、植物間移行した sRNA により転写物蓄積量が制御されている可能性が示唆された。 本研究の成果は、以下の二つの国際学会において口頭発表した。 ・ Bera S (2018) Long-Distance Movement of Naturally Occurring Small RNAs in a Host-Parasite Plant Complex. PAG ASIA 2018, May 30 –June 1, Seoul, South Korea. ・ Bera S (2018) Mobile small RNA: Implication for common function during interaction between different host-parasitic plant complexes. 8th World Congress on Plant Genomics, August 10-11, Osaka, Japan. (Invited talk)
研究成果発表等の予定	Bera S et al. Long-distance movement of naturally occurring small RNAs in a host-parasite plant complex.(仮題) として国外英文誌に投稿準備中。 Plant Vascular Biology Conference 2019 (Asilomar, USA, June 2019)で発表予定。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：関西学院大学 理工学部
氏名：北條 賢

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	オミクス解析を用いたシジミチョウーアリ共生系の分子基盤研究		
課題番号	18-438		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	関西学院大学 理工学部	助教	下地 博之

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	シジミチョウとアリの相利共生系を用いて、アリ脳のトランスクリプトーム解析を行い、協力行動関連遺伝子の網羅的探索を試みた。アリの様々なカーストから得た totalRNA を用いて RNAseq を行い、de novo assembly による reference 配列を得た。アリのみで飼育した「未経験アリ」・シジミチョウ幼虫と飼育した「経験アリ」・蜜腺を塞いだシジミチョウ幼虫と飼育した「無報酬アリ」の 3 つの処理区を作成し、アリ脳に発現する遺伝子を次世代シーケンサによる RNAseq で網羅的に解析した。今年度は各処理区のサンプル数を増やすとともに、処理区間で遺伝子の発現量を比較し、経験アリ処理区のみで有意に発現が異なる遺伝子を絞り込む。
研究成果発表等の予定	特になし
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：兵庫県立大学大学院生命理学研究科
氏名：二階堂昌孝

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	発生時・分化後に腸神経サブタイプを特異化する遺伝子コードのトランスクリプトームによる解明		
課題番号	18-439		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	兵庫県立大学大学院生命理学研究科	教授	八田公平
	基礎生物学研究所形態形成研究部門	教授	上野直人

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究では、各腸神経細胞の分化を制御する転写因子や、それらを特徴付ける神経伝達物質あるいはその合成酵素の単離と機能解析を目的として、ゼブラフィッシュ成体と5日幼生の腸を対象に RNA-seq を行った。前年度までに特定した5日幼生期の腸に発現する18種類の転写因子について in situ hybridization で発現部位を解析したところ、それらのうち4つについては、消化管の部位特異的な発現を示すことを新たに発見した。また伝達物質については、5日幼生期の腸に興奮性伝達物質のタキキニンが発現することがわかった。 一方で、神経細胞ないしはその前駆細胞での発現を示唆する転写因子は得られなかったため、次に腸神経細胞とその前駆細胞に対する RNA-seq を行うことを試みた。当該細胞に蛍光タンパク質が発現する遺伝子導入魚を用い、ソーティング後 RNA を抽出して cDNA ライブラリーの作成を行った。NGS 解析の結果が出次第、前駆細胞に発現する転写因子等を検索し、発現部位の解析に移る予定である。
研究成果発表等の予定	主目的である腸神経細胞の分化に関わる転写因子については、現在シーケンス解析中の腸神経細胞とその前駆細胞に対する RNA-seq の結果を踏まえて、論文発表を検討する。 一方腸全体に対する RNA-seq では、発生期（5日幼生）の腸を構成する外・中・内胚葉に発現する遺伝子リストを得た。腸神経系の発生、機能には外胚葉以外の構成要素の関与も重要であり、このリストを参考に、今回得た内胚葉性の転写因子の他にも、特に中・内胚葉に発現する遺伝子群の発現の解析を行い、論文発表を検討する。
備考	特になし。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 2 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京理科大学
氏名：宮川信一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	爬虫類における温度依存型性決定のメカニズム解析		
課題番号	18-440		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東京理科大学・基礎工学部	博士研究員	赤司寛志
	神奈川大学・理学部	博士研究員	豊田賢治
	和歌山県立医科大学 先端医学研究所	大学院生	平野優

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本共同研究は、クサガメ (<i>Chinemys/Mauremys reevesii</i>) を温度依存型性決定のモデル生物として実施している。クサガメは、胚発生期に 26 度で孵卵するとオス化、31 度で孵卵するとメス化することが知られている。また、生殖腺の性決定期も発生ステージ 16 からステージ 18-19 に至る約 10 日間と報告されている(温度感受性期)。本共同研究はこの温度感受性期に着目し、雌雄を誘導可能な温度条件と複数の発生ステージにおける生殖腺でのトランスクリプトーム解析を行った。 前年度までの解析で、De novo assembly から DEG 解析、gene ontology や KEGG のエンリッチメント解析、R の EBSeqHMM パッケージ(Leng and Kendzior, 2015) を用いた雄性化温度の発生時系列依存的に発現量が上昇/減少している遺伝子のリスト化、そして以前我々が実施したアリゲーターの RNAseq データ (Yatsu et al., BMC Genomics 2015) との比較解析を実施した。 本年度は上記のデータをもとに得られた候補遺伝子等の生物学的な解釈を検討することに多くの時間を費やし、複数の興味深い遺伝子を見出した。今回得られた候補遺伝子の中には、本年度実施したメタボローム解析の結果と高い整合性が見られたものもあり、今シーズン以降にカメ卵を用いた機能解析を進めていく予定である。
研究成果発表等の予定	クサガメの発生時系列 RNAseq データに関しては、来年度中の論文投稿を予定している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 18 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 鳥取大学農学部

氏名： 上中 弘典

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ラン科植物シランを用いた寄生的菌根共生システムの解明		
課題番号	18-441		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治・教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所・共生システム研究部門	教授	川口 正代司
	基礎生物学研究所・生物機能解析センター	技術職員	山口 勝司
	千葉大学・教育学部	准教授	大和 政秀
	瑞穂町郷土資料館・けやき館	学芸員	谷亀 高広
	鳥取大学・農学部	JSPS 特別研究員	三浦 千裕
	鳥取大学・大学院持続性社会創生科学研究科	大学院生(修士)	本城 真也
	鳥取大学・大学院持続性社会創生科学研究科	大学院生(修士)	富永 貴哉

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	植物の寄生的菌根共生システムの解明を目的に、共生菌を用いてラン科植物のシラン（紫蘭：<i>Bletilla striata</i>）を共生発芽させたサンプルについて、これまでに RNA-seq を行った。植物ホルモン処理や経時的なサンプリングを行ったサンプルのデータについては DEG を同定し、GO enrichment 解析を継続して行った。その結果、共生に関連する遺伝子を含む多く遺伝子が、共生菌を用いずに発芽させた場合でも共通して変動することが明らかになった。これまでの生理学的な研究成果と併せて考えると、発芽に菌類との共生が必須なラン科植物では、共生の制御経路を用いて発芽が起こることが明らかになった。これまでに得られた RNA-seq のデータを一部利用して執筆した以下の論文が、今年度出版された。 Miura, C. et al.: The mycoheterotrophic symbiosis between orchids and mycorrhizal fungi possesses major components shared with mutualistic plant-mycorrhizal symbioses. <i>Mol. Plant Microbe Interact.</i>, 31, 1032-1047 (2018) また、ゲノム配列については、昨年度実施した 10x genomics chromium でのシーケンスライブラリーを用いたシーケンスデータも含めて再度アセンブルを行い、アノテーションの付加や比較解析を行った。他のラン科植物のゲノムデータとの比較を行った結果、ラン科植物特有の重複遺伝子群が存在することが明らかになった。 シランにおける独自の実験系を用いたトランスクリプトーム解析の結果、寄生的菌根共生システムの全体像がかなりの部分明らかになった。今後は、既に得られたトランスクリプトームとゲノムのデータ解析を完了し、学術論文として報告する予定である。
研究成果発表等の予定	既に得られたトランスクリプトームとゲノムのデータ解析を完了し、トランスクリプトームのデータについては生理学的な解析データと合わせて、ゲノム解析とはそれぞれ別の論文を執筆し、今年度中には論文を投稿する予定としている。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：川崎医科大学 解剖学教室
氏名： 嶋 雄一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	哺乳類におけるライディッヒ細胞の分化転換機構の解明		
課題番号	18-442		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	生物機能情報分析室 重信秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	ライディッヒ細胞で EGFP を発現するトランスジェニックマウス (<i>StAR-EGFP</i> マウス, Sasaki G, <i>et al.</i>, <i>Mol Endocrinol</i> 2008) を用いて、胎仔期 (胎齢 18.5 日)、および成獣期 (8~12 週齢) の精巣から胎仔型ライディッヒ細胞と成獣型ライディッヒ細胞をそれぞれ分取した (それぞれ n=3)。分取した細胞から total RNA を抽出し、quality check を行った結果、6 サンプル全てで良好な結果であったため、それぞれ 100 ng の total RNA を用いてライブラリを作成し、mRNA-sequence を行った。シーケンスデータを解析した結果から、胎仔ライディッヒ細胞と成獣ライディッヒ細胞で発現量に差のある遺伝子群を抽出した。 ATAC-sequence に関しては、培養細胞 (HEK293 細胞) および成獣ライディッヒ細胞を用いて、ライブラリ作成の予備実験を行った。その結果、DNA のサイズと分布のパターンを見る限り良好なライブラリが作成できたと考えられた。今後、胎仔ライディッヒ細胞と成獣ライディッヒ細胞 (n=3) をそれぞれ分取し、ATAC-sequence 解析を行いデータを取得する予定である。
研究成果発表等の予定	mRNA-sequence データの解析、および ATAC-sequence データの解析が全て終了した後に、結果を取りまとめて研究成果発表する予定であり、現時点では具体的な発表の予定はない。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30年度）

2019年4月23日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：九州大学・大学院理学研究院

氏名：矢原 徹一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	送粉適応した花形質の進化：夜咲きの遺伝子基盤と進化過程の解明		
課題番号	18-443		
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月31日		
所内対応者	重信秀治 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	東京大学・大学院総合文化研究科	学術研究員	新田 梢
	金沢大学・学際化学実験センター	助教	西山 智明
	九州大学・大学院システム生命科学府	大学院生	三木 望

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	送粉適応した花形質が、ハマカンゾウのような昼咲きのアゲハチョウ媒の状態からキスゲの夜咲きのスズメガ媒の状態へと進化する機構を解明するために研究を行った。 1) F2 雑種集団 RNA-seq からの花色・花香遺伝子発現の解析 HiSeq2000(Illumina) による RNA-seq から得られたハマカンゾウとキスゲのライブラリと、HiSeq2500(Illumina)を用いた RNA-seq の F2 雑種についての read データの解析を継続した。特に、アントシアニン色素の生合成経路について、<i>R2R3MYB family</i> である <i>Anthocyanin</i> 2 様遺伝子の遺伝子配列の種間比較を行った。今後は、表現型と遺伝子発現との関連解析を行い、花色・花香の違いに関する遺伝子を特定する。 2) 開花時刻の違いに関与する遺伝子の探索 2 種のつばみから開花開始までの過程の花組織を 6 時間間隔で採集した total RNA から、HiSeq2500(Illumina)を用いて RNA-seq を行った。2 種のライブラリに、得た read データをマッピングし、各発現遺伝子のカウントを行った。今後は、ハマカンゾウとキスゲで時計遺伝子群の発現パターンが同じなのか、違うのかを明らかにし、時計遺伝子群と開花現象の関連を解明していく。 3) ゲノムサイズの解析 ハマカンゾウとキスゲについて、フローサイトメーターによってゲノムサイズを推定するため、予備実験を行った。今後、より正確に推定するため、複数種でのコントロールを加え、実験を行う。
研究成果発表等の予定	1) F2 雑種集団 RNA-seq からの花色・花香遺伝子発現の解析 アントシアニン色素に関する成果を論文にまとめる。 2) 開花時刻の違いに関与する遺伝子の探索 日本生態学会で以下の発表を行った。2019 年度は、成果を論文にまとめる。三木望, 新田梢, 重信秀治, 矢原徹一*「ワスレグサ属の昼咲き種と夜咲き種における時計遺伝子の発現と開花制御」第 66 回日本生態学会神戸大会, 口頭発表, 2019 年 3 月 3) ゲノムサイズの解析 ゲノムサイズ推定の実験を完了し、成果を学会や論文で発表する。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

31 年 4 月 23 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：九州大学大学院農学研究院
氏名：吉国 通庸

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	棘皮動物ウミユリ綱・クモヒトデ綱動物の NGS 解析		
課題番号	18-444		
研究期間	30 年 4 月 1 日 ～ 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所	助教	大野 薫
	九州大学農学研究院	助教	栗田喜久
	東京大学三崎臨海実験所	准教授	近藤真理子
	新潟大学佐渡臨海実験所	助教	大森紹仁

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	インスリンスーパーファミリーに属するリラキシン様ペプチドは、棘皮動物門ヒトデ綱において産卵誘発ホルモンとして作用する。同ホルモンは、無脊椎動物で初めて解明された産卵誘発ホルモンである（2009, PNAS, 基生研との共同研究成果）。同様のペプチドは、ウニ綱、ナマコ綱においても高度に保存されている（基生研・九大、投稿準備中）。このことから、リラキシン様ペプチドは棘皮動物門全体にわたって生殖機能制御に重要な働きを持つ可能性が示唆される。さらに、他の棘皮動物の綱におけるリラキシン遺伝子の同定と生理活性試験を行う為に、国内で入手可能な種としてトゲバネウミシダ、ニホンクモヒトデを選定した。 トゲバネウミシダは昨年度に RNAseq を行い複数のインシュリン族ペプチドと共に、リラキシン遺伝子も同定することに成功している。本年度は、これらに加えて、九州大学が準備したニホンクモヒトデ（<i>Ophioplocous japonicus</i>）とヒガシナメクジウオ（<i>Branchiostoma belcheri</i>）試料を用いて、これらのリラキシン cDNA のクローニングを完了した。ニホンクモヒトデの配列は近縁種 <i>Ohiolepis impressa</i> との相同性も高く（90%）、目的配列が得られたと判断した。<i>O. impressa</i> のリラキシン遺伝子は、大野・加藤が公開 DB から <i>in silico</i> clonin で得た。 吉国・栗田は、水産実験所近海で採取した産卵期個体を用いてナメクジウオの卵成熟誘起実験を試みた。神経管を含む組織の海水抽出液中に卵成熟と見られる卵透明化現象の誘起活性を検出した。また、同実験所付近でのニホンクモヒトデの産卵期が6月下旬から7月中旬であることを特定した。 31年度には、トゲバネウミシダ、のリラキシン遺伝子の再探索とともに、合成リラキシンを用いたヒガシナメクジウオ・ニホンウミシダの卵成熟誘起実験を実施する。
研究成果発表等の予定	29年度に明らかにしたトゲバネウミシダのリラキシン、および、30年度に明らかにしたニホンクモヒトデ、ヒガシナメクジウオのリラキシンを31年度に合成し、それを用いた生理活性試験が完了した後に成果発表を行う予定である。
備考	特になし

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ H30 年度）

2019 年 4 月 9 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：琉球大学農学部

氏名：立田晴記

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	異なる染色体レース間に見られる遺伝構造：サッポロフキバッタを用いた解析		
課題番号	1 8 - 4 4 5		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	琉球大学・研究推進機構・戦略的研究プロジェクトセンター	特命講師	佐藤行人
	琉球大学・研究推進機構・戦略的研究プロジェクトセンター	特命助教	鶴井香織
	琉球大学・農学部	研究補助員	仲原宏美

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	〔成果〕 核型が異なる複数集団からサンプリングしたサッポロフキバッタ165個体分からテンプレート DNA を抽出し、ライブラリ調整をおこなったのち、ペアエンド法による Flexible RADseq 解析を実施することで、切断部位両末端の配列情報を取得した。取得された配列から集団解析に用いる1塩基多型 (SNPs)情報を抽出するため、STACKS ソフトウェアを使った解析パイプラインを作成し、集団遺伝構造解析を実施した。異なる核型が隣接する2地域を対象にした解析を実施したところ、核型レベルでは交雑集団と認められない地域でも、異なる集団に由来する交雑集団の存在が SNPs 解析から新たに判明した。また核型解析からはわからなかった、周辺地域からの遺伝子浸透の痕跡も確認できた。 〔考察及び展望〕 解析対象個体群をさらに増やし、解析を進める。また異なる染色体レースの接触帯(contact zone)から更に密なサンプリングを実施し、細かい地理的スケールでの遺伝子浸透の実態に迫る。追加分析の際、解析プロトコルの事前打ち合わせを実施する。まずは2018年度に採集されたデータを解析し、これまで取得した結果と合わせて解析をおこない、投稿論文作成に着手する。
研究成果発表等の予定	現在サッポロフキバッタのゲノムサイズ推定に関する原著論文を執筆中で、可能な限り早めに投稿する。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018年度）

2019年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： IST Austria

氏名： 重本隆一

下記のとおり実施しましたので報告します。

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	脳の左右を決める遺伝子の同定		
課題番号	18-446		
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	IST Austria	ポスドク	Matthew Case
	IST Austria	大学院生	David Kleindienst

研究成果の概要及び今後の展望	海馬神経回路における、入力側依存性左右差について両側ともが右側のフェノタイプを持つ iv mutant mouse (Kawakami et al. 2008)、および新規に見出した両側ともが左側のフェノタイプを持つ iv2 mutant mouse を用いて、左右を決める遺伝子のスクリーニングを次世代シーケンスによって行った。その結果、数種の有望な遺伝子を同定し、スクリーニングに用いたものとは別の 20 匹以上の iv mutant mouse と iv2 mutant mouse で確認を行ったところ、いずれの遺伝子変異も 100%フェノタイプと一致することが分かった。これらの変異は極めて近接した位置にあるため、どの遺伝子が本当に左右を決めている遺伝子はまだ不明である。このため、現在はこの変異が causal であるのかを決定するために、C57BL6 マウスに iv 変異とこれらの候補遺伝子の変異を導入して、フェノタイプを調べている。次年度中には最終的な責任遺伝子を同定し投稿の予定である。
研究成果発表等の予定	次年度中には成果を論文発表したい。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

Research Report
Collaborative Research in the National Institute for Basic Biology (NIBB)
Fiscal year ____

Date (13/05/2019)

To Director General of NIBB

Principal Investigator

Name : Huai-Jen Tsai

Institution :

(1) Institute of Biomedical Sciences (Mackay Medical College)

(2) Institute of Molecular and Cellular Biology (National Taiwan University)

1. Category (Please select one)

- ☐ Priority collaborative research projects
- ☐ Collaborative research projects for model organism and technology development
- ☐ Individual collaborative research projects
- ☒ Collaborative research projects for integrative genomics
- ☐ Collaborative research projects for integrative bioimaging
- ☐ NIBB workshops
- ☐ Collaborative experiments using the Large Spectrograph
- ☐ Support for NIBB training courses
- ☐ Collaborative research projects for bioresource preservation technology development

2. Research project title

The transcriptomic analyses of specific cell-types that contribute to the neuronal regeneration of zebrafish after spinal cord injury

3. Project number

18-447

4. Project term (Day/Month/Year) – (Day/Month/Year)

1/4/2018 – 31/3/2019

5. Host researcher

Syuji Shigenobu

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name
Liver Disease Prevention & Treatment Research Foundation	Postdoctoral	Chih-Wei Zeng
National Institute for Basic Biology	Specially appointed Associate Professor	Shuji Shigenobu
National Institute for Basic Biology	Specially appointed Associate Professor	Yasuhiro Kamei
National Institute for Basic Biology	Technical Staff	Takahiro Bino

7. Outline of research results and future prospects*

Zeng *et al.* (2016) in Tsai's lab, Taiwan, reported that, when the embryos derived from this zebrafish transgenic *huORFZ* are exposed to hypoxia and followed by oxygen recovery (OR), GFP reporter gene was exclusively expressed in the central nervous system (CNS) of zebrafish embryos. After hypoxia, unlike GFP-negative neurons, only GFP(+)-Neural stem/progenitor cells and GFP(+)-radial glial cells proliferated, migrated, and differentiated into functional neurons during OR. Being collaborated with Dr. Kamei of NIBB, Zeng *et al.* (2016) employed IR-LEGO, and uncovered that when some hypoxia responsive recover cells (HrRCs)-subtypes induced by hypoxia stress are ablated in the spinal cord of *huORFZ* embryos, swimming performance was impaired, suggesting that HrRCs-subtype cell population are involved in neuronal regeneration.

In the continuous study during 2017-2018, we found that when *huORFZ* embryos were treated with spinal cord injury (SCI) through mechanical damage, GFP signal was exclusively present around SCI site. These GFP(+) cells not only were able to differentiate into neurons with extended axons. Being collaborated with Dr. Kamei, Dr. Zeng employed IR-LEGO and uncovered that the swimming performance of GFP(+)-cell-ablated embryos was impaired, suggesting that GFP(+) cells might be involved in neuronal regeneration after SCI. Furthermore, *in vitro* study also demonstrated that the GFP(+) cells were able to differentiate into neurons. Taken together, we suggest that the GFP(+) cells might play a major role in neuronal regeneration after SCI. Next step we want to know what different characteristic between GFP(+)-cells and GFP(-)-cells in the spinal cord. In the cooperative study in 2018-2019, we collected GFP(+) cells and GFP(-) cells separately by using SH800 FACS sorter. After that, we established cDNA library and transferred our cDNA library to Dr. Shuji to help us to perform RNA sequencing. After transcriptomic analysis, we used

some software, FastQC, CLC Genomics Workbench, Gprofiler and MeV, to screen the significant up- and down- regulated genes which maybe involve in neuronal regeneration of zebrafish.

8. Publications or publication plan*

We plan publish one research article and one technical short report.

9. Remarks, if necessary

*Concisely describe contents that will be opened in the NIBB web page.

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 2 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：高知大学理工学部門

氏名：山崎朋人

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	HITS-CLIP 解析による単細胞生物クラミドモナスの microRNA 機能解明		
課題番号	18-448		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	京大・院・理・植物分子遺伝学	助教	西村 芳樹
	基生研・環境光生物学	助教	得津 隆太郎
	基生研・生物機能情報分析室	特任准教授	重信 秀治

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	microRNA (miRNA)はエフェクタータンパク質である Argonaute (AGO)と複合体を形成し、標的 mRNA 安定性や翻訳活性を配列特異的に制御することで多様な生命現象(発生・分化、がん化など)を制御する。単細胞真核生物における miRNA の役割や機能はほとんど解明されていない。本研究ではその役割解明のため、AGO が結合する mRNA を同定するための HITS-CLIP 解析を試みた。254 nm の紫外性を細胞に照射し、AGO/miRNA/mRNA の 3 者複合体をクロスリンクする条件を決定したが、次世代シーケンサー解析に必要な RNA 量を確保するには至らなかった。そこでより効率的なクロスリンクを達成するため、4-チオウリジン(4-SU)を用いた PAR-CLIP 法を試みた。しかしヒト培養細胞に至適な濃度より 10 倍高濃度の 4-SU を含む培地で培養してもクラミドモナスの細胞分裂は全く阻害されず、また 365 nm の紫外性で処理してもクロスリンク産物が全く得られなかったため、PAR-CLIP を行うに至らなかった。 また、単細胞緑藻クラミドモナスの miRNA 機能の分子メカニズムを解明することを目的とし、AGO や miRNA 生合成に必須な 2 本鎖 RNA 結合タンパク質 DUS16 と結合するタンパク質を精製し、それらを生物機能情報分析室の協力を得て質量分析によって同定する事に成功した。
研究成果発表等の予定	AGO や DUS16 と結合していたタンパク質をコードする遺伝子の破壊株を解析することで、クラミドモナス miRNA 機能の分子メカニズムの一端を解明、論文発表する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018年度）

2019年4月19日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：弘前大学農学生命科学部

氏名：横山 仁

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ゼノパスの四肢再生と皮膚再生で発現する遺伝子の網羅的解析		
課題番号	18-449		
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	内山 郁夫		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	弘前大学・大学院農学生命科学研究科	大学院生	蓮潟 里帆
	弘前大学・大学院農学生命科学研究科	大学院生	嶋田 侑莉
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	阿保 健太郎
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	多田 玲美
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	成澤 勇斗
	基礎生物学研究所・生物機能解析センター	特任准教授	重信 秀治

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	ネッタイツメガエルの四肢を対象にして RNA-seq によって幼生と成体の遺伝子発現を網羅的に比較した。Nigerian 系統のネッタイツメガエルを材料にして、st53 (Nieuwkoop & Faber のステージ) の幼生の後肢芽の自脚部領域、st53 で後肢芽を自脚部の付け根で切断して形成された再生芽、変態後まもないカエル (froglet) の前肢の自脚部、froglet の前肢を自脚部よりやや基部で切断して形成された再生芽、の4種類のサンプルについてそれぞれ3つずつの replicate を取って total RNA を抽出した。その上で、イルミナ社の NextSeq PE75 によるシーケンス作業までを前年度に実施した。本年度は得られたシーケンスデータに対するドライ解析を本格的に行った。 ドライ解析は Petra et al. (Nature Protocols 11: 1650-1667) の方法に従って X. tropicalis 4.1 のゲノム配列をリファレンスにして行った。edgeR による統計解析を行い幼生肢芽より幼生再生芽で発現量が多く、かつ froglet の再生芽よりも幼生再生芽で発現量が多い遺伝子を DEG (Differentially expressed genes) としてリスト化した。このリストを基に in situ hybridization 等による遺伝子発現パターンの確認を現在行っている。さらに今後はアフリカツメガエルにおいて四肢と皮膚の再生を RNA-seq により比較する予定である。
研究成果発表等の予定	予定している RNA-seq を実施し、四肢再生と皮膚再生との比較を実施できた段階で、学会や研究会での発表を予定している。その上で、まだ時期は未定であるが、査読のあるジャーナルへ研究成果を投稿する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2018 年 4 月 26 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：ライフサイエンス統合データベースセンター
氏名： 千葉啓和

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	MBGD データベースを利用した微生物ゲノムからの進化的知識発見		
課題番号	18-450		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	内山郁夫		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究は、ドメインレベルでのオーソログ分類を特色とする MBGD データベースを用いて、ドメイン融合を網羅的に解析することにより、微生物の多様性の基盤となる遺伝子の進化を明らかにしようとするものである。29 年度までに、MBGD の特定の微生物ゲノムセットを対象として DomClust 及び DomRefine を用いたドメインレベルのオーソログクラスタリングを行い、解析を行ってきた。申請者らがこれまでに開発してきた、ゲノム情報を入力として、生物系統ごと及び遺伝子機能カテゴリごとに進化的特徴を抽出するプログラムを、解析パイプラインの形で整備した。これにより、入力データセット変えて解析を行い、結果を検証することが容易になった。比較として、MBGD の大規模データセットを用いた解析以外にも、キュレートされた小規模オーソログクラスターセット COG を用いて解析パイプラインを走らせ、結果を検証した。これらの解析結果として、全体としては結果に整合性が見られると同時に、大規模データセットでは細かな分類群ごとに様々な傾向が観察された。小規模データセットに対しての解析結果と、大規模なデータセットについての結果を合わせて一般のおよび詳細な考察を行い、それらをまとめて報告をする予定である。
研究成果発表等の予定	これまでに得られた解析結果に関しては、部分的には、国内の学会で発表済みである。これまで解析を行った複数のデータセットについて、得られた結果を総合して考察をまとめ、論文化する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 18 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 京都大学大学院 生命科学研究科
氏名： 伊福 健太郎

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	実用珪藻キートセラスの比較ゲノム解析とゲノムデータベースの利用		
課題番号	18-451		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	ゲノム情報研究室 内山 郁夫 助教		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	兵庫県立大学・大学院生命科学研究科	准教授	菓子野 康浩
	京都大学・大学院生命科学研究科	教授	福澤 秀哉
	京都大学・大学院生命科学研究科	助教	山野 隆志
	京都大学・大学院生命科学研究科	助教	梶川 昌孝

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	漁業資源として大量培養が行われ、実用化されているツノケイソウ (<i>Chaetoceros gracilis</i>) は、高い環境適応能と高油脂生産性を有し、物質生産のプラットフォームとしての利用が期待されている。また光合成研究などの基礎研究の材料としても有用性が高く、モデル藻類となり得る可能性がある。本共同研究では、我々が取得したゲノム配列を最大限に活用し、またその成果を関連研究者に利用してもらうことを目標に、比較ゲノム解析と公開用のゲノムデータベースの構築を行うことを目的とした。 H27-29 年度、貴研究所共同利用研究に申請、採択いただき、基生研・内山助教の協力により、ツノケイソウドラフトゲノム、及び、そのタンパク質コード領域の表示、BLAST 検索結果、および InterPro のドメイン予測等が表示される WEB サイトを構築した。H29 年度は、新たに RNA-Seq の解析結果に基づく mRNA 発現量の表示機能を追加し、ツノケイソウ遺伝子の機能推定に活用した。その結果、ツノケイソウのゲノム編集技術の確立(投稿準備中)やツノケイソウ光化学系の立体構造解析(投稿、リバイス中)などの成果につながっている。今後はさらなるゲノム情報の精密化に加え、別の培養条件下における RNA-seq による mRNA 発現情報も追加し、より広範囲の研究者に利用してもらえるように、データベースと技術情報の充実と公開の準備を進める。
研究成果発表等の予定	これまでに得られた成果は、すでに一部は論文として投稿中である。その他の成果も論文としてまとめた上で、準備が出来次第、データベースと技術情報の公開を行う予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 30 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 氏名： 鈴木 克周

所属： 広島大学大学院理学研究科

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	<i>Rhizobium radiobacter</i> (syn. <i>Agrobacterium tumefaciens</i>) のゲノム分化ならびに根頭癌腫病原性との相関に関する解析		
課題番号	18-452		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	内山郁夫先生		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	広島大学大学院理学研究科	博士前期 2 年生	姜 秉宇
	広島大学大学院理学研究科	博士前期 1 年生	嘉津 旭人

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	(代表者と分担者の病気等のために研究を実施できなかった。 内山先生にデータベースと解析ツールの利用法を指導頂いたので、今後は御助言を得ながらゲノム比較と変化の特性と病原性相関についての解析を個別に実施する予定である。)
研究成果発表等の予定	
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

令和1年 5月 7日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 東京医科歯科大学
氏名： 鈴木仁美

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	休眠中卵母細胞の健全性維持に必須な酵素 Prmt5 の機能解析		
課題番号	18-453		
研究期間	2018年 5月 18日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	重信 秀治（基礎生物学研究所 生物機能情報分析室 特任准教授）		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究では、アルギニンメチル化酵素 Prmt5 の休眠中卵母細胞における機能を解明するため、Prmt5 欠損による遺伝子発現変化を解析することを目的として行った。手法としては、生後 3・7・10 週齢 c コントロールおよび Prmt5 cKO マウス卵巣より原始卵胞の卵母細胞を FACS でソーティングし、Quartz-seq 法にて cDNA ライブラリを作成、次世代シーケンサーにより発現プロファイルを得た。プロファイルの解析は NIBB ウェブサイト上の資料を参考におこなった。本解析により、コントロールと Prmt5 cKO の卵母細胞において発現プロファイルがどの時期から、どの遺伝子に対して発現するかが明らかとなり、転写調節における Prmt5 の機能を示唆する結果を得ることができた。今回得られた Prmt5 の標的遺伝子の解析を続けていくことで、Prmt5 を中心とした原始卵胞維持機構を解明できると期待される。
研究成果発表等の予定	現在論文投稿中。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018年度）

2019年4月8日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：基礎生物学研究所初期発生研究部門
氏名：藤森俊彦

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	上皮恒常性維持過程における平面内細胞極性の維持機構の解明		
課題番号	18-454		
研究期間	2018年5月18日 ～ 2019年3月31日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	自然科学研究機構・基礎生物学研究所・初期発生研究部門	NIBB リサーチフェロー	新田昌輝

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	平面内細胞極性 (Planar cell polarity; PCP) は上皮細胞が発達させる器官の向きに沿った細胞極性であり、上皮組織の機能を支えている。哺乳類の上皮組織ではダメージを蓄積した細胞が排除され、幹細胞から新たに細胞が供給されることにより組織の恒常性が維持される。このとき、細胞を入れ替えるだけでなく、平面内細胞極性を維持することが上皮組織の機能を保つために重要である。では上皮組織の恒常性維持過程において、新たに供給された細胞 (新生細胞) はどのようにして、器官の軸に沿った極性を獲得するのだろうか。本研究では個体の一生を通じて細胞の入れ替わりが起こるマウスの卵管を実験系とし、平面内細胞極性の恒常性を維持する分子基盤の解明を目指す。 本年度は single cell RNA sequencing の実験設計について、重信秀治博士と検討を進め、さらに、卵管の上皮組織を回収し、一細胞レベルまで解離するプロトコルを確立した。今後は卵管上皮組織から調整した単細胞懸濁液を single cell RNA sequencing で解析し、得られた個々の細胞の遺伝子の発現プロファイルを基に、新生細胞における平面内細胞極性の獲得に寄与する分子の同定を進める。
研究成果発表等の予定	今後も引き続き共同研究を進め、得られた成果は論文として発表する。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 3 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：生命創成探究センター

氏名：東島眞一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	介在ニューロンサブタイプ同定により解き明かす、脊髄運動系神経回路の動作機構		
課題番号	18-455		
研究期間	H30 年 5 月 18 日 ～ H31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所 神経行動学研究部門	総研大生	相岡拓己
	基礎生物学研究所 神経行動学研究部門	総研大生	川野幸平

研究成果の概要及び今後の展望	脊椎動物の脊髄神経の形成においては、いくつかの転写因子が脊髄背腹軸に沿って発現し、神経細胞前駆体領域をドメイン状に分割する。引き続き、それぞれのドメインから、明確に区別することが可能な複数のタイプのニューロン（以後、サブタイプと呼ぶ）が生じる。運動系神経回路の動作様式を明らかにするためには、各ドメインから生じるニューロンサブタイプを考慮に入れて研究を進める必要があるが、それらサブタイプを規定するマーカー（転写因子）はほとんど未知である。本研究では、このドメイン内ニューロンサブタイプを規定する転写因子の探索を目指した。 具体的な研究対象として、V2a ニューロン（転写因子 Chx10 の発現で規定される同側下行性興奮性ニューロン）と V0v ニューロン（転写因子 Evx2 の発現で規定される交差型興奮性ニューロン）の2つのニューロン群を取り上げ、サブタイプ規定に関与する転写因子群を、RNAseq により体系的に同定することを本年度の研究目標とした。Chx10:GFP 魚、および、Evx2:GFP 魚の脊髄から、GFP 陽性細胞を FACS (SONY SH800) により選別した。約 20,000 個の細胞から RNA を抽出し、イルミナ次世代シーケンサー (NextSeq500) により大規模 RNAseq を行った。この作業をそれぞれの系統につき 5 回行い、得られた結果を相互比較した。その結果、V2a ニューロン、および、V0v ニューロンに濃縮している転写因子を複数同定することができた。 今後、同定された転写因子に関して、その陽性細胞をラベルするトランスジェニックフィッシュを作製し、V2a ニューロン、および、V0v ニューロンのサブタイプに発現する転写因子を同定していく。そのうえで、それら転写因子が規定する神経細胞の性質を、解剖学的手法や、電気生理学的手法により明らかにしていく予定である。
研究成果発表等の予定	数年以内の論文発表を目指して研究を進めていく。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 23 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：自然科学研究機構生命創成探究センター
氏名：郷 康広

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	超長鎖 DNA を用いた新規ゲノム配列解析		
課題番号	18-456		
研究期間	2018 年 7 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治 教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	自然科学研究機構生命創成探究センター	特任研究員	辰本 将司
	自然科学研究機構生命創成探究センター	技術支援員	石川 裕恵
	自然科学研究機構生命創成探究センター	技術支援員	白井 千夏

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	参照ゲノム配列が未整備な生物の新規ゲノム配列決定のためには、超長鎖 DNA 調整技術の開発が必要不可欠である。研究申請代表者の研究室では、主に 10xGenomics 社 Chromium システムによる合成ロングリードライブラリ作成と Illumina 型シーケンサーを組み合わせた方法、および Oxford Nanopore 社 MinION を用いた新規ゲノム配列決定を行ってきた。2018 年度は、特に類人猿 7 属の中で最後に残された参照ゲノム配列が未決定なテナガザル 3 属 (<i>Hoolock</i> 属, <i>Hylobates</i> 属, <i>Symphalangus</i> 属) の新規ゲノム配列の決定を行った。<i>Hylobates</i> 属, <i>Symphalangus</i> 属に関しては日本国内の動物園において死亡した個体の組織試料が利用可能であったが、<i>Hoolock</i> 属に関しては、国内の飼育例がなく、野生個体の個体数も近年激減している。今回は、現地（ミャンマー）政府の許可のもと、野生個体から採取した組織から、繊維芽細胞を採取・培養したものをを用いて超長鎖 DNA 抽出技術の開発を行った。当初は、基礎生物学研究所生物機能分析室に導入された Sage Science 社 SageHLS を用いた超長鎖 DNA 調整を行う予定であったが、必要な細胞数を確保するに至らず、マニュアルでの長鎖 DNA 抽出を行うことになった。得られた結果としては、ゲノムのつながりの良さを示す scaffold N50 長が、それぞれ 27.9 Mb, 38.7 Mb, 36.7 Mb という良質なアセンブル結果を得ることができた。 現在、低分子 DNA だけを特異的に除去できるキットなどの検討をはじめている。今後は、それらの技術開発を進めることで、霊長類を中心とした新規ゲノム配列の解読と遺伝子情報の整備をさらに進めていく予定である。
研究成果発表等の予定	2017 年度に主に研究を行ったニホンザルに関しては、論文投稿準備中であり、2019 年度の前半に投稿予定である。また、テナガザル類に関しては霊長類の中でも核型の多様性が非常に高い分類群であり、大規模構造変化・核型進化の観点からも興味深い対象であるため、優先的に解析をすすめ 2019 年度中の論文発表を目指す。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（H30年度）

2019年8月1日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：杏林大学医学部

氏名：大崎 敬子

下記のとおり実施しましたので報告します。

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	一塩基分解能メチローム解読に基づくピロリ菌エピゲノム進化の解析		
課題番号	18-457		
研究期間	2018年 7月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	内山郁夫		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	杏林大学・医学部・感染症学教室（微生物）	非常勤講師	小林一三
	基礎生物学研究所・生物機能解析センター	特任准教授	重信秀治
	国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター	主任研究官	矢原耕史
	東北大学・生命科学研究科	講師	矢野大和
	千葉大学・医学部	助教	福世正樹
	日本大学・医学部	助教	桂有加子
	Pontificia Universidad Javeriana (Columbia)	Graduate student	Andrés Gutiérrez-Escobar
	東京大学・農学生命科学研究科	教授	岸野洋久
	東京大学・農学生命科学研究科	大学院生	吉田伸弥

	國立成功大學 (台灣)	助理教授	小島健司
	中国疾病预防控制中心 (China CDC) (中国)	Assistant Professor	尤元海
	Indian Institute of Science (IISc)	Professor	Desirazu Rao
	Institut Pasteur (France)	Directeur	Hilde de Reuse
	University of Lisbon (Portugal)	Project Assistant Professor	Filipa Vale
	University of Bologna (Italy)	Associate Professor	Alberto Danielli

研究成果の概要及び今後の展望	1. インフォマティクス 1-1. ATGC だけでなく、それらのメチル化状態(m4C, m5C, m6A)及び後者の相補鎖を含めた 10 文字によって、メチロームを表記する手続きを実装した。これによって、私たちが解析してきた日本・東アジアのピロリ菌 115 株のメチローム、NIH 主導の Hp GP の 280 株のメチロームを書き換えた。これは、今後の Hp GP での解析の基盤となる。 1-2. 細菌のゲノム配列と形質を対応させる GWAS (Genome Wide Association Study)を、メチル化状態を含めた 10 文字表記を用いた「EWAS (epigenome-wide association study)」に作り変えた。HpGP 収集の世界の複数のソースからの計 280 の胃がん由来ピロリ菌株と非胃がん由来ピロリ菌株のメチロームについて、この EWAS を行い、胃がんに関連する遺伝子を探索している。Xavier Didelot との共同研究。今後、その産物を小林が解析する。 1-3. 「胃がんと胃炎由来のピロリ菌のゲノムの GWAS」「我が国の十二指腸潰瘍由来ピロリ菌と胃がん由来ピロリ菌のゲノムの GWAS」から得られた遺伝子約 30 について、たんぱく機能を構造レベルで解析し、新しい機構を担うたんぱくの候補、新規病原因子候補を得て、ピロリ菌のホストとの相互作用・病原性との関連を考察した。山岡吉生との共同研究。今後、実験的検証を検討する。 1-4. 東アジア各地のピロリ菌のゲノム 400 から、日本本土、沖縄、福建省、雲南省少数民族、モンゴルなど分集団を特徴付ける SNP を検出した。そのうち 50 について、たんぱく機能を構造レベルで解析し、新しい生物機能を担うたんぱくの候補を得、種内の適応進化機構を推定した。種内進化機構の理解として画期的成果である。 1-5. 上の 10 塩基によるメチローム表記に対して、分子進化学の理論を適用する研究を開始した。塩基変異 10 x 10 の遷移行列を求める形で進行している。 1-6. 家族内進化ピロリ菌について、メチローム進化の下にある「DNA のメチル化モチーフ配列」とそれを認識する「標的認識ドメイン」とを対応づけ、それらの再編進化を明らかにした。これに基づいて、メチロームの遺伝子発現制御ネットワークのミクロ進化を明らかにした。今後、トランスクリプトームとの対応を調べる。今野武津子との共同研究。この方向を他のミクロ進化メチローム、HpGP メチロームにも適用する方向で進む。 2. 実験 2-1. マルチプレックス法の開発。アームにバーコードをつけたライブラリーを用いて、Pacbio で、複数株メチロームの同じセルでの解読を試みたデータについて、メチル化モチーフを検出した。Pacbio 社との共同研究。今後、メチル化酵素側の進化を上記の 1-6 のように解析する。 2-2. 多数 DNA メチル化酵素をハブとした遺伝子発現制御ネットワークの上流で、DNA メチル化酵素の発現を変える遺伝子を探索した。RNA の代謝に関与する RNase J をノックアウトし、Pacbio 解読でメチロームを解読
-----------------------	---

	し、一つのメチル化モチーフの変化を検出し、それらの標的遺伝子群をリストした。Hilde de Reuse との共同研究。
研究成果発表等の予定	1-1、1-2：2019 年 8 月に NIH で開かれる HpGP インフォマティクス作戦会議で紹介し、HpGP の枠組みでのトップジャーナルでの論文刊行について協議する。 1-3：上とも相談して、インパクトのある形で刊行したい。 1-4：中国 CDC と相談して、早めに刊行したい。 1-5：じっくりと理論を作る。 1-6：EHMSG2019 で口頭発表に採択されている。トランスクリプトーム解析と合わせて、ミクロ進化のメチロームレベルでの解析という先端研究として刊行予定。
備考	NIBB 中心の共同研究の中から、種内多数のゲノム・メチロームによる進化機構の解明に、画期的な進展が見られた。これを国際的なプロジェクトの枠組みでどう活かしていくかが、次の段階の課題である。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30年度）

2019年4月25日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 水産大学校生物生産学科
氏名： 山崎 康裕

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	有害赤潮原因種ヘテロカプサの毒性発現機構の解明		
課題番号	18-458		
研究期間	平成30年8月1日 ～ 平成30年3月31日		
所内対応者	内山 郁夫 助教		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	国立研究開発法人水産研究・教育機構 瀬戸内海区水産研究所	主任研究員	紫加田 知幸

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	有害赤潮の原因種である渦鞭毛藻 <i>Heterocapsa circularisquama</i> (以降、ヘテロカプサ) は、貝類に極めて強い毒性を発現する種として知られている。先行の生化学的な研究により、ヘテロカプサの毒素は膜タンパク質であると推定されたが、短時間で速やかに失活するため、毒素の精製が不可能である。そこで本研究では、毒性の異なるヘテロカプサ細胞の各種遺伝子発現量を比較して毒性発現に関わる遺伝子群を見出し、毒素本体の一次構造、および本種赤潮による貝類のへい死機構の解明を目的とした。 無菌化したヘテロカプサ強毒株と弱毒株のトランスクリプトーム解析を実施した結果、膜貫通領域を有し、かつ、強毒株で有意に (FDR < 0.01) 高く発現している 214 個の膜タンパク質関連の遺伝子群を見出すことに成功した。また、これらのうちヘテロカプサ強毒株が有する溶血活性に関連する可能性のある複数の遺伝子群を確認することができた。しかし、本年度は強毒株と弱毒株をそれぞれ 1 株しか解析できなかったため、毒素候補遺伝子を特定するには至らなかった。 今後さらに毒素候補遺伝子を絞り込むために、次年度は複数の強毒株および弱毒株を対象として RNA-seq 解析を実施する予定である。また、毒素候補タンパク質の一次構造からエピトープを人工合成・免疫してポリクローナル抗体を作製し、ヘテロカプサ細胞における毒素の局在部位や毒素の作用メカニズムについて検討を進める予定である。
研究成果発表等の予定	<学会発表 (ポスター)> 亀尾辰砂, 山崎康裕, 山内香澄, 中山奈津子, 紫加田知幸: 簡易毒性試験による渦鞭毛藻 <i>Heterocapsa circularisquama</i> の毒性評価. 平成 31 年度日本水産学会春季大会, 品川 (2019) なお、毒素の構造や作用メカニズムが明らかになった際には、論文や学会発表等で成果発表を行う予定である。
備考	特になし。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 5 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪大学大学院工学研究科
氏名： 渡邊 肇

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	オオミジンコのエピゲノム解析		
課題番号	18-459		
研究期間	2018 年 7 月 24 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	大阪大学・工学研究科	助教	加藤 泰彦
	大阪大学・工学研究科	大学院生	NGUYEN DUC NHAN

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	オオミジンコにおける DNA メチル化によるエピジェネティックな影響を解析するために、DNA メチル化転移酵素 DNMT1,DNMT3a 及び DNMT3b のノックアウトミジンコを遺伝子編集により作成した。 これらを解析したところ、飢餓状態における個体群動態に差がみられることが明らかになりつつある。 現在、RNA-seq によるデータを含めて、解析をすすめている。 今後、共同研究によるゲノムワイドなメチル化パターンの解析結果がえられれば、総合的な解析が可能になり、環境応答に関するエピジェネティックな機能の意義を明らかにできると思われる。
研究成果発表等の予定	共同研究による解析結果が出次第、早急にディスカッションを行い、研究成果を発表する。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 26 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：水産研究教育機構 瀬戸内海区水産研究所
氏名：紫加田 知幸

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	トランスクリプトーム解析による有害赤潮プランクトンのスーパーオキシド産出機構の解明		
課題番号	18-460		
研究期間	2018 年 8 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	内山 郁夫		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	埼玉大学大学院 理工学研究科生命科学部門	教授	西山 佳孝
	埼玉大学大学院 理工学研究科生命科学部門	博士課程 1 年	湯浅 光貴
	立命館大学生命科学部	講師	高橋 文雄
	瀬戸内海区水産研究所	主任研究員	坂本 節子
	瀬戸内海区水産研究所	研究員	北辻 さほ

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	本研究では、スーパーオキシド (O_2^-) 産生能の異なる有害赤潮ラフィド藻 <i>Chattonella</i> 培養株を用いて、O_2^-の放出機構を解明するための基礎情報を収集した。まず、O_2^-産生能の異なる4株についてRNA-seq解析を行った。その結果、O_2^-高産生株で光合成や細胞分裂に関連する遺伝子の発現量が有意に高いことが分かった。また、O_2^-産生酵素 (NADPH オキシダーゼ : NOX) 遺伝子は7つ見出されたが、発現レベルが O_2^-産生レベルの高低と相関するのは1つだけだった。次に、O_2^-高産生株を異なる光強度下で培養し、O_2^-産生レベルおよび光合成活性を計測した結果、O_2^-産生レベルは $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$以上の強光条件で高く、$10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$以下の弱光条件で極めて低かった。また、暗培養した <i>Chattonella</i> を $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$の強光環境下へ移し、$O_2^-$産生レベルを経時的に測定したところ、光照射3時間後に O_2^-産生レベルが上昇した。また、培養液に DCMU を添加すると、O_2^-産生レベルが低下し、グリコールアルデヒドによって炭酸固定を阻害すると、O_2^-産生レベルは著しく上昇した。以上の結果から、<i>C. antiqua</i> における O_2^-産生は光環境によって変動し、その活性化に光合成が関与することが示唆された。さらに、NADPH を消費する炭酸固定の阻害によって O_2^-産生が上昇したことから、光合成による NADPH の供給が O_2^-産生に重要であることが示唆された。今後、異なる光強度下で培養した <i>Chattonella</i> 細胞について、RNA-seq 解析を実施するなどして、光合成と O_2^-産生の関係をより詳細に明らかにする予定である。
研究成果発表等の予定	【平成31年度日本水産学会春季大会口頭発表, 平成31年3月29日】 ・紫加田ほか, 赤潮藻 <i>Chattonella</i> の魚毒性に関する研究Ⅱ: 魚毒性の株間差異, ・紫加田ほか, 新奇有害藻 <i>Alexandrium leei</i> に関する生理生態学的研究Ⅱ: 発生環境, 増殖特性 (水温・光), 魚毒性 ・湯浅ほか 有害赤潮藻類 <i>Chattonella antiqua</i> の活性酸素産生と光合成の関係 【今後】赤潮藻 <i>Chattonella</i> の RNA-seq 解析について1報論文を投稿した。さらに、データ解析を行いながら論文化を進めている。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 10 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京大学定量生命科学研究所
氏名：堀越 正美

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	新しい進化指標を用いての数十億年前の生体システムの仕組みの解析		
課題番号	18-461		
研究期間	2018 年（平成 30）8 月 28 日～2019 年（平成 31）年 3 月 31 日		
所内対応者	内山郁夫（ゲノム情報研究室・情報管理解析室）		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

研究成果の概要及び今後の展望	今年度は、これまでに開発した新しい進化指標を、より広範な遺伝子に適用することを目指した開発を行った。 まず、真核生物と古細菌に保存され、かつ direct repeat を持つような遺伝子ファミリーを、微生物比較ゲノムデータベース MBGD および相同ドメインデータベース Pfam を用いて探索したところ、10 個のファミリーが見つかった。これは、これまでの先行研究で用いた TBP と TFIIB、および同様の条件の別の方法で見いだしていた解析可能な他の生体反応因子 4 種類のうち 3 種類を含んでいた。この解析を高等生物に拡張するため、抽出されたファミリーのアライメントを元にプロファイルを作成したところ、8 個のファミリーについて検出力の高いプロファイルが作成できた。これを用いて、高等生物を含めた最新の真核生物の 900 種のゲノム情報に対して検索を行い、抽出された配列を加えてアライメントを作成し、系統解析を実施した。今後は系統解析結果を基にオーソログな遺伝子セットを抽出し、それら各遺伝子の系統樹内における diversity と、遺伝子内の direct repeat 間の diversity とを計算し、転写開始因子を対象として行われた先行研究の結果と比較して、それぞれの因子が関与するシステム及びその仕組みの進化的変遷の特徴づけを行う予定である。
研究成果発表等の予定	現在進行中の研究により新しい成果が生まれてきたので、上述の今後の展望に記したことが、解析を通して得られた場合には、学会での発表、論文としての発表を行う予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 18 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：生理学研究所・細胞構造研究部門
氏名： 古瀬 幹夫

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	クローデイン完全欠失上皮細胞の作製による細胞間隙輸送の再構成		
課題番号	18-462		
研究期間	2018 年 8 月 15 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者			
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	生理学研究所・細胞構造研究部門	助教	大谷 哲久

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	イヌ腎臓由来の上皮細胞である MDCK II 細胞を用いて、タイトジャンクションの構造と機能の両方において中心的機能を担うクロードインファミリー遺伝子をゲノム編集により不活化させることにより、クロードインを発現せずタイトジャンクションを形成しない培養上皮細胞（クロードイン欠失細胞）を樹立し、その表現型解析を進めた。さらに、このクロードイン完全欠失上皮細胞に様々なクロードインファミリー遺伝子を発現することによりタイトジャンクションを再構成し、個別のクロードインの機能的特性やクロードイン遺伝子の発現の組み合わせの生理的意義を解明するために、いくつかのクロードイン遺伝子を再発現したような細胞株を樹立した。 この統合ゲノミクス共同利用研究においては RNAseq を用いて MDCK II 細胞に発現するクロードイン遺伝子を網羅的に同定すると共に、クロードイン完全欠失細胞においてどのような遺伝子発現変化が生じているのかを解析する。今年度は、RNAseq 解析に向けた打ち合わせを 2018 年 10 月に行い、共同研究の進め方について議論した。このミーティングを受けて、MDCK II 細胞、クロードイン欠失細胞からの total RNA の調整を行った。 今後、RNAseq 解析を進めることにより、発現が残存するクロードイン遺伝子の有無について検討し、クロードイン完全欠失細胞を樹立し、様々な再構成実験を進めていく予定である。
研究成果発表等の予定	クロードイン欠失上皮細胞の表現型解析に関する論文を現在投稿中である。また、様々なファミリー遺伝子を再発現した細胞の表現型解析についても、現在論文の投稿準備中である。
備考	2018 年度内に予定していた研究が終了しなかったため、2019 年度に継続する予定である。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

平成31年 4月 23日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京大学大学院総合文化研究科
氏名： 植松 圭吾

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	社会性アブラムシにおける比較ソシオゲノミクス		
課題番号	18-463		
研究期間	平成30年 8月 15日 ～ 平成31年 3月 31日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	平成30年度は、ボタンヅルワタムシ属の社会性アブラムシ3種（兵隊の形態的特殊化が進んだボタンヅルワタムシとクサボタンワタムシ、兵隊の形態的特殊化があまり見られないセンニンソウワタムシ）を採集することができ、得られた虫体サンプルから、ゲノム抽出・10xGenomic社のChromiumを用いたライブラリー調製・Illuminaシーケンサーでの配列解析が進行中である。上記の成果を踏まえ、次年度以降は重信教授のアドバイスを得ながら遺伝子アノテーションやゲノム比較による遺伝子重複の推定などのデータ解析を行うことによって、アブラムシの社会進化をもたらす遺伝的要因の理解が大きく進むことが期待される。
研究成果発表等の予定	
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 30 年度）

31 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：基礎生物学研究所

氏名：梅根一夫

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	DNA トランスポゾンを用いた逆遺伝学的手法によるイネ遺伝子破壊系統の構築		
課題番号	18-464		
研究期間	2018 年 10 月 17 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	岡山大学・資源植物科学研究所	教授	前川 雅彦
	国立遺伝学研究所・実験圃場	准教授	野々村 賢一

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	イネの活性な DNA トランスポゾン nDart を用いた遺伝子破壊系統(タギングライン)は、優性変異を示す変異体も分離できるので、およそ 3 万あるイネの遺伝子機能を解析するツールとして極めて有用である。その挿入領域の同定は、AFLP 法を改変した Dart-トランスポゾンディスプレイ法を用いる事によって、効率良く行うことができたが、NGS を用いてトランスポゾンの挿入領域を網羅的に同定して逆遺伝学を行なえる NGS-Dart トランスポゾンディスプレイ法を開発し基盤作りを行う事を目指した。しかしながら、以前に試験的に行った NGS-Dart トランスポゾンディスプレイ法の解析結果は、ゲノム中の同じ場所ばかりが検出されていた。本年度は新たな方法を視野に入れつつ、従来の方法もステップ毎に確認しながら、上手く行かなかった問題点を明らかにした。その結果、ライブラリーの作成過程における 2 回の PCR のうち、2 回目の PCR のステップに問題があることが判明し、全ての試薬を検討したところ、タグ付けをおこなうための長鎖プライマーの濃度に問題があった。プライマーの濃度を変更した増幅産物を確認したところ、ポジティブコントロールが検出できることが明らかになった。本手法と類似しているアンプリコンシーケンス法は高いアニーリング温度と少ない PCR サイクルが報告されているが、Dart-トランスポゾンディスプレイ法は、低いアニーリング温度と多い PCR サイクルを用いてきたので、条件を検討したところ、低いアニーリング温度であればポジティブコントロールが検出できることが分かった。現在 2018 年に育生したタギングラインを用いて、96 サンプルをミックスしたライブラリーと 1 サンプルのライブラリーを作成しており、近日中に Mi-seq にかけて、ライブラリー作成条件の評価を行う予定である。
g 研究成果発表等の予定	本手法について、日本育種学会において発表することを目指す。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 8 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：基礎生物学研究所オルガネラ制御研究室
氏名：真野 昌二

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	脂肪性種子植物における脂質合成機構の解明		
課題番号	18-465		
研究期間	平成 30 年 10 月 17 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所・オルガネラ制御研究室	研究員	金井 雅武
	基礎生物学研究所・生物機能解析センター	特任准教授	重信 秀治
	基礎生物学研究所・生物機能解析センター	技術職員	山口 勝司

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本共同利用研究は、ヒマ、チャ、カヤの種子における脂質合成に関わる遺伝子を、RNA-seq 解析により同定し、その制御機構を明らかにすることを目的としている。平成 30 年度 10 月に採択されたため、年度途中からの開始となった。打ち合わせを 12 月に行い、本年度はチャとヒマの RNA-seq 用ライブラリーの作製を行った。チャとヒマ種子の経時サンプルを用意し、RNA を抽出後、ライブラリー作製に供した。チャ種子は野生で自生している植物体から、2018 年 9 月、10 月、11 月、12 月、および 2019 年 1 月にサンプリングした。ヒマは人工気象室で生育させているものから、登熟状態の異なる種子を回収した。全てにおいて 3 反復分のサンプルを用意し、ライブラリー作製を行った。 今後は作製したライブラリーを用いて RNA-seq 解析を進め、経時変化に伴う遺伝子発現パターンを明らかにし、脂質合成に関わる因子を同定してバイオマーカーを設定する。2019 年度には、施肥条件を変えたチャ種子を準備し、同様に RNA-seq 解析を進め、施肥条件の違いによるバイオマーカーの変動を明らかにする。 ヒマはリシノール酸という水酸基をもつ特殊な脂質を蓄積する。RNA-seq のデータからその生合成に関与する遺伝子を抽出する。 カヤもシアドン酸という特殊な脂質を蓄積するユニークな植物であるが、その生合成機構は明らかにされていないため、2019 年度に器官の異なる RNA を準備し、種子特異的な発現を示す遺伝子を同定し、その生合成機構を明らかにする。
研究成果発表等の予定	チャとヒマは民間企業との共同研究にもなっているため、特許申請のタイミングにもよるが、できるだけ早く学会発表と論文発表を行いたい。
備考	民間企業との共同研究が含まれるため、特許の関係上、即時公開は控えていただきたい。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 8 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 新潟大学自然科学系（農学部）
氏名： 深井 英吾

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ミヤコグサの異変異性ならびに新規草型変異体の原因遺伝子同定		
課題番号	18-466		
研究期間	2018 年 12 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	新潟大学大学院自然科学研究科	大学院生	大崎 香歩理
	基礎生物学研究所	教授	川口 正代司
	東北大学大学院生命科学研究所	准教授	佐藤 修正
	日本大学 生物資源科学部	教授	青木 俊夫

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	ミヤコグサ (<i>Lotus japonicus</i>) は日本在来のマメ科植物であり、根圏における微生物との共生や、マメ科作物のモデルとしてなど、様々な研究用途で使用されている。ミヤコグサではリファレンスゲノムが整備され、複数の実験系統が利用可能である。加えて、内在のレトロトランスポゾンによる挿入変異集団が構築され、遺伝子機能解析も比較的容易である。一方で、匍匐性で面積あたり栽培個体数に限りがあること、現在使われているトランスポゾンがもつ挿入特異性により、機能欠損変異が得られない遺伝子がある、などの問題がある。 本研究ではこれらミヤコグサのモデル植物としての課題を解決するために、栽培しやすい草型の変異体とその原因遺伝子の同定、またミヤコグサ内在で転移する新たなトランスポゾンの同定を目指している。2018年度は、ゲノム解析に供する植物材料の同定とそれらからのDNA抽出を行った。
研究成果発表等の予定	今後成果が得られ次第、論文や学会、プレスリリース等で成果を発表する予定である。
備考	本課題は 2019 年度に継続予定である。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：基礎生物学研究（環境光生物学）
氏名：高橋俊一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	刺胞動物と褐虫藻の共生破綻に関与する遺伝子の探索		
課題番号	18-467		
研究期間	2018 年 11 月 16 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信秀治教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所 環境光生物学研究部門	総研大・博士課程	岸本 真理子

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	近年の海水温の上昇によるサンゴの白化を主な原因としてサンゴ礁が減少し、大きな問題となっている。白化とは、高温ストレスによりサンゴとその細胞内に共生する褐虫藻が共生破綻し、褐虫藻が放出される現象である。しかし、この現象を分子メカニズムで説明した例はまだない。そこで、イソギンチャク(<i>Aiptasia</i>)モデル系を用いて、高温下での刺胞動物細胞および共生する褐虫藻の遺伝子発現変化を解析し、白化に関与する遺伝子を探索することを目的とした。現状の共通理解と、今後の研究の進め方に関して、重信教授を交えてディスカッションを行った。イソギンチャクからシングルセルを単離する方法を確立後、遺伝子発現解析を行うことが良いとの結論に至った。現在、シングルセルを単離する方法の確立を進めており、その方法が確立次第、遺伝子発現解析に移る予定である。
研究成果発表等の予定	なし
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 2018 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 東京大学
氏名： 丸山 潤一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☒ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> の比較ゲノムによる多様性創出機構の解明		
課題番号	18-468		
研究期間	2018 年 12 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	重信 秀治 准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東京大学大学院・農学生命科学研究科	特任助教	片山琢也

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> は、日本の伝統的醸造食品である日本酒・味噌・醤油などの製造において千年以上にわたって利用されている、日本人の生活にとって重要な微生物である。近年のゲノム解析の結果、<i>A. oryzae</i> は植物病原菌である <i>Aspergillus flavus</i> のある系統から家畜化されて進化したと考えられている。 本課題では、<i>A. oryzae</i> 種内の異なる株間でのゲノム進化を明らかにすることを目標とする。<i>A. oryzae</i> は醸造の歴史の過程で、日本酒・味噌・醤油それぞれの醸造食品に適した多様な性質をもつ様々な株が人為的に選抜されてきた。本共同利用研究では、これらの株のゲノム解読および比較ゲノム解析を行う。これらの比較ゲノム解析によって、<i>A. oryzae</i> の多様性の創出機構がゲノムレベルで明らかになることが期待される。 本共同利用研究は、2018 年 11 月に追加採択により開始したものであり、現在までに <i>A. oryzae</i> のゲノム DNA の調製の最適化を行っている。2019 年度にも本研究を継続し、上記で述べた <i>A. oryzae</i> 各株のゲノム解読と比較ゲノム解析を行う予定である。
研究成果発表等の予定	共同利用研究が始まって間もないため、現時点での成果発表の予定はないが、2019 年度に継続する本研究課題において成果を得て、学会発表や論文発表を行うように進めていきたいと考えている。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

統合イメージング共同利用研究

- 18-501 Light-sheet 顕微鏡によるゼブラフィッシュ胚における初期形態形成過程の
ライブイメージング解析
木村 英二（岩手医科大学医学部 准教授）
- 18-502 T 細胞分化過程における免疫シナプス形成の役割
久富 理（山梨大学大学院総合研究部医学域 助教）
- 18-503 細胞形状から解明する原生生物の行動様式
市川 正敏（京都大学大学院理学研究科 講師）
- 18-504 アフリカツメガエルの四肢再生の研究に対する IR-LEGO の適用
横山 仁（弘前大学農学生命科学部 准教授）
- 18-505 ゼブラフィッシュのヒレ発生における時期組織特異的な機能解析
阿部 玄武（東北大学大学院生命科学研究科 助教）
- 18-506 R-Avr 認識後の細胞間防御応答シグナルの解析
別役 重之（筑波大学生命環境系 准教授）
- 18-507 IR-LEGO 光照射を用いた小脳機能的区画の形成メカニズムの解析
津田 佐知子（埼玉大学研究機構研究企画推進室 助教）
- 18-508 棘皮動物の五放射相称器官形成の可視化の試み
近藤 真理子（東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所 准教授）
- 18-509 赤外レーザーによる温度操作に基づいた細胞走化性能制御法の構築
広井 賀子（山口東京理科大学薬学部 教授）
- 18-510 難病遺伝子 SAMD9 の機能解析：IR-LEGO による組織特異的過剰発現メダカを用
いて
木下 政人（京都大学大学院農学研究科 助教）
- 18-511 組織特異的小胞体ストレスセンサー3 重変異体の機能解析
石川 時郎（京都大学大学院理学研究科 助教）
- 18-512 肢芽再生過程の細胞系譜追跡を長期かつマクロレベルで行うための IR-LEGO 実
験系の開発
森下 喜弘（理化学研究所生命システム研究センター ユニットリーダー）

- 18-513 メダカの生後脳発達の分子神経基盤の解析
竹内 秀明（岡山大学大学院自然科学研究科 准教授）
- 18-514 レトロウイルスを用いたメキシコサラマンダーにおける強制発現系の開発
佐藤 伸（岡山大学異分野融合先端研究コア 准教授）
- 18-516 イベリアトゲイモリの四肢再生における作用機序と分子機構の解明
鈴木 賢一（広島大学大学院理学研究科 特任准教授）
- 18-517 IR-LEGO による遺伝子発現誘導系を用いたシロイヌナズナ極核融合機構の解析
西川 周一（新潟大学理学部 教授）
- 18-518 Identification of Subtype-Specific Cells and Their Biological function after Spinal Cord Injury in Zebrafish Embryos --- Part II
TSAI, Huai-jen (Mackay Medical College Institute of Biomedical Sciences Visiting Professor)
- 18-519 Quantitative pattern analysis of cytoskeletal components in 3D cylindrical cellular surface
PHNG, Li-kun (理化学研究所多細胞システム形成研究センター チームリーダー)
- 18-522 自閉症病態モデル動物大脳皮質ニューロン樹状突起構造の異常の調査
佐々木 哲也（筑波大学医学医療系 助教）
- 18-523 花粉エキシンの形成過程で現れる多糖性微細構造の観察
石黒 澄衛（名古屋大学大学院生命農学研究科 准教授）
- 18-524 糖尿病合併アルツハイマー病モデルマウスにおける大脳皮質および海馬神経細胞イメージング
里 直行（国立長寿医療研究センター分子基盤研究部 部長）
- 18-525 Single-cell labeling to trace single neuronal precursors in embryonic brain
KUAN, Yung-shu (National Taiwan University Inst. of Biochemical Sciences 准教授)
- 18-526 Evolutionary morphology of Crustacea, in the light of State-of-the-art microscopy
A. RICHARD, Palmer (University of Alberta 教授)

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30年度）

H31年 4月 9日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 岩手医科大学 解剖学講座
氏名： 木村 英二

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Light-sheet 顕微鏡によるゼブラフィッシュ胚における初期形態形成過程のライブイメージング解析		
課題番号	18-501		
研究期間	H30年 4月 1日 ～ H31年 3月 31日		
所内対応者	時空間制御研究室 野中 茂紀 准教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	我々は、小型魚類のゼブラフィッシュ (<i>Danio rerio</i>) を用いて、初期の脳血管系がいかにして構築され、そののち どのようにして脊髄の血管系と統合されるか、その全容を明らかにすることに成功した。そこで本研究では、脳血管系の初期形態がどのような制御メカニズムによって形成されるのかを明らかにすることを目的とし、平成 30 年度には、大きく以下の 2 つの解析を行った。CRISPR/Cas9 法による遺伝子破壊体の解析では、<i>gene Xa</i>、<i>gene Xb</i> の二重遺伝子破壊体の表現型解析を行い、中脳-後脳境界 (MHB) が消失すること、さらにこの際 MHB に一致して形成される中大脳静脈 (MCeV) の形成が阻害されることを明らかにした。今後は、正常発生での MHB と MCeV の形成過程をタイムラプス・イメージング法で詳細に解析し、また二重遺伝子破壊体でのイメージングも進めていく。さらに関連遺伝子を用いたレスキュー実験も行い、MHB と MCeV の形成メカニズムの相関関係を詳細に明らかにしていく。一方、レポーター遺伝子を用いたタイムラプス・イメージングによる解析では、核移行シグナルを付加した EGFP を血管特異的に発現させた <i>Tg(flk1:nls-EGFP)k9</i> の胚子をライトシート顕微鏡で撮影し解析した。その結果、初期の脳血管系を構成する各血管の起源を詳細に明らかにすることに成功し、現在詳細な解析を進めている。得られたデータからは、脳血管系が、段階的に形成されている可能性が示唆されている。すなわち、1) 動脈性・静脈性の血管床の形成、2) それぞれの血管床からの血管新生と初期の循環形態の樹立、3) 静脈からの血管新生と一部血管での動脈への転換、という段階的に血管形態が形成される流れが見えてきた。今後は、この仮説を検証するために、血流を停止した状態でのタイムラプス・イメージングやアクチン凝集素を可視化する lifeact-EGFP の系統でのイメージングを行い、この仮説の検証を進めていく。
研究成果発表等の予定	本研究で得られた所見は、データがまとまり次第 英語論文としてまとめて英文雑誌へ投稿し発表する。また一部の結果は、2019 年 3 月 27-29 日に新潟で開催された第 124 回日本解剖学会総会・全国学術集会のシンポジウムで『脳脊髄血管系をつなぐ内皮細胞の起源』として発表した。今後も、分子生物学会、血管生物学会、解剖学会などで適宜発表していく。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：山梨大学大学院総合研究部医学域
解剖学講座細胞生物学教室

氏名：久富 理

下記のとおり実施しましたので報告します。

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	T 細胞分化過程における免疫シナプス形成の役割		
課題番号	18-502		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	自然科学研究機構 生命創成探究センター (ExCELLS) 創成探究領域 生命時空間制御グループ 准教授 野中 茂紀		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	山梨大学大学院総合研究部医学域解剖学講座細胞生物学教室	教授	竹田 扇

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	T 細胞は抗原提示細胞やウイルスなどの標的と接触して免疫応答を開始する際、免疫シナプスと呼ばれるリング構造を形成することが知られている。本研究では、T 細胞分化過程に免疫シナプスの役割を明らかにすることを目的として、胸腺内において胸腺上皮細胞と未分化 T 細胞との間で同様の構造が形成されるか否かを検証した。 培養したマウス胸腺組織を用いた免疫染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡 (TCS SP8, ライカマイクロシステムズ) で観察したところ、胸腺上皮細胞にて発現する細胞接着因子 ICAM1 によるリング状の局在が見られ、その中央に中心体が局在する様子が観察された。この像はこれまで知られている免疫シナプスの構造と対応していた。また、中心体は細胞質ダイニンによって運ばれる。そこで、この機能を阻害する <i>ciliobrevin D</i> で未分化の T 細胞を処理したところ、ICAM1 によるリング構造の中央に中心体が局在しない様子が観察された。 同時に、フローサイトメトリー解析を通じて、<i>ciliobrevin D</i> 処理により T 細胞分化が阻害されることがわかった。これと上記の結果をあわせて考えると、胸腺において免疫シナプス様構造 (“<i>thymic synapse</i>”と命名) が形成され、その中央に中心体が局在することで、T 細胞分化が進むことが示唆される。したがって、T 細胞の分化機構において、<i>thymic synapse</i> のような胸腺上皮細胞と未分化 T 細胞との細胞間のシグナル伝達を介在する構造が重要である可能性が示された。今後はこの可能性をさらに検証するため、<i>thymic synapse</i> を構成する他の分子の同定や、<i>siRNA</i> による機能阻害を行い、<i>thymic synapse</i> の形成と T 細胞分化に及ぼす影響を調べることを計画している。
研究成果発表等の予定	上記の成果は、これまでに国内の学会・研究会において、発表している。今後も引き続き学会発表を行うとともに、論文発表を行う予定である。
備考	特になし。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

2019 年 4 月 27 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：京都大学大学院理学研究科
氏名：市川 正敏

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	細胞形状から解明する原生生物の行動様式		
課題番号	18-503		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	野中 茂紀		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	北海道大学電子科学研究所	助教	西上 幸範

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	近年、次世代シーケンサーを用いた網羅的解析によって、環境中に存在する真核生物の遺伝子多様性は原生生物によって担われている事が分かってきた。更に、自然界での存在量も我々哺乳類や植物のような目に見える真核多細胞生物に匹敵する程度に存在している事が分かっている。これら微生物は環境中に均等分布するのではなく、不均等に分布し、さらに自らの行動によってその分布は次第に変化していく。このような原生生物の行動はその生息域の環境にも大きな影響を与えることが予想され、地球環境や生態系を本質的に理解するためには原生生物の行動メカニズムを解明することは必須である。我々は、これまでに陸水域での代表的な微生物である繊毛虫テトラヒメナの固液界面への張り付き行動に関して研究を行ってきた。この行動は繊毛虫の捕食と生存にとって重要な生態の一つである。イメージングおよび流体数値計算の結果よりこの行動は、細胞形状と繊毛の固体への接触応答で説明することが出来た(PNAS, 2018)。さらに今年度はこの現象の一般性を確かめるために、古くから繊毛虫のモデル生物として用いられてきたゾウリムシを用いて同様の実験を行った。その結果、ゾウリムシでもテトラヒメナと同様な行動が観察され、そのメカニズムも類似のものであることが分かった。さらにこれら両者は張り付き角度に差があったが、この違いは両者の細胞形状の違いに依存するということが分かった。今後は繊毛の接触応答メカニズムに関して詳細を調べる予定である。
研究成果発表等の予定	本研究内容は、国際誌 <i>Communicative and Integrative Biology</i> に査読原著論文として掲載された。また、2019年7月にイタリア・ローマで開催されるヨーロッパ原生生物学会において発表予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018年度）

2019年4月1日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：弘前大学農学生命科学部

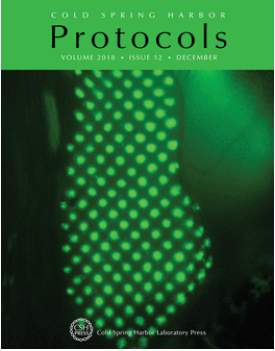
氏名：横山 仁

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	アフリカツメガエルの四肢再生の研究に対する IR-LEGO の適用		
課題番号	18-504		
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日		
所内対応者	亀井 保博		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	弘前大学・大学院農学生命科学研究科	大学院生	蓮潟 里帆
	弘前大学・大学院農学生命科学研究科	大学院生	嶋田 侑莉
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	阿保 健太郎
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	多田 玲美
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	成澤 勇斗
	弘前大学・農学生命科学部	准教授	笹部 美知子
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	細井 俊良

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	アフリカツメガエルにおいて、1 細胞レベルでの発現誘導のプロトコールを示した本共同利用研究の成果を投稿して前年度にアクセプトされていたが (Hasugata et al., Cold Spring Harb Protoc)、本年度本論文が印刷され、本ジャーナル 2018 年 12 月号の表紙に選ばれた。本年度はツメガエルの四肢に加えて、皮膚再生への寄与が予想される皮膚の下（皮下）の組織への遺伝子発現の誘導を IR-LEGO により行った。さらに報告者と同じ機関に所属する笹部美知子准教授と共同で植物のシロイヌナズナに対する IR-LEGO による遺伝子発現誘導も行った。 Hasugata R, Hayashi S, Kawasumi-Kita A, Sakamoto J, Kamei Y, Yokoyama H. (2018) Infrared Laser-Mediated Gene Induction at the Single-Cell Level in the Regenerating Tail of <i>Xenopus laevis</i> Tadpoles. Cold Spring Harb Protoc. Dec 3; 2018 (12): pdb.prot101014. doi: 10.1101/pdb.prot101014. PubMed PMID: 29769391 
研究成果発表等の予定	本研究の成果は 2019 年夏に行われる第 2 回再生学異分野融合研究会での発表を予定している。また皮下の組織への IR-LEGO での発現誘導のデータについては近い将来に査読のあるジャーナルへの投稿を予定している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 20 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東北大学大学院生命科学研究科
氏名：阿部玄武

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ゼブラフィッシュのヒレ発生における時期組織特異的な機能解析		
課題番号	18-505		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井 保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東北大学大学院生命科学研究科	助教	阿部玄武
	東北大学大学院生命科学研究科	大学院生	植本俊明
	東北大学大学院医学系研究科	大学院生	金谷哲平

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	脊椎動物の有対ヒレは顎口類の鍵革新の一つであり、その獲得には、進化的により古い正中ヒレの発生メカニズムを、体側にリクルートする事で獲得されたと考えられている。しかし、元々正中に一つであった構造が、どのように有対になったのかはよくわかっていない。そこで、ゼブラフィッシュの腹側正中ヒレがどのような領域から発生してくるか、有対ヒレ原基との位置関係と比較しながら検討した。 まず、正中ヒレ原基の胚発生過程初期における位置を、ヒレマーカ遺伝子 <i>dlx5a</i> の発現から解析したところ、体幹後方の腹側領域に存在することが明らかになった。さらに、局所的な細胞ラベル技術で、実際にこの領域が正中ヒレに入るかを確認した。次に、尾ヒレが有対化する変異体 <i>ogon</i> を用いて、有対化する正中ヒレの原基の位置を確認したところ、より側方に <i>dlx5a</i> 遺伝子発現が広がる様子が確認でき、細胞追跡実験により、有対尾ヒレにその細胞が入る事も観察された。つまり、この正中ヒレ原基は、発生過程の変異により領域が拡大する事で容易に有対化する事が示唆された。 この領域は有対ヒレ予定領域に隣接するように見える。そこでヒレ誘導因子である <i>fgf10</i> を腹側に強制発現させ、実際に連続するか解析したところ、<i>dlx5a</i> の発現が、正中ヒレから有対ヒレ領域まで発現することが確認できた。したがって、正中ヒレ領域と有対ヒレ領域が同一の発生学的起源を共有することが示唆された。今後は、この領域がより祖先的な動物でどのように広がっているのかを調べ、脊椎動物の有対付属肢進化に正中ヒレ発生過程がどのように変化し関わったのかを具体的に検討する。
研究成果発表等の予定	現在、上記の内容と共に、<i>ogon</i> 胚において正中に楕円形に広がる領域からどのように、左右有対のヒレが出来てくるのかを解析している。それらをまとめ、今年度の動物学会年会において発表予定である。また、今年度中に論文としてまとめ、投稿予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（H30 年度）

2019 年 4 月 17 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 筑波大学生命環境系
氏名： 別役重之

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	R-Avr 認識後の細胞間防御応答シグナルの解析		
課題番号	18-506		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	横浜市立大学 木原生物学研究所	特任助教	爲重才覚
	北海道大学大学院生命科学院自然科学研究生命創成探究センター	博士後期2年	友井拓実

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	これまでの本共同利用研究の成果によって、組織特異的恒常的活性が見られるシロイヌナズナ HSP18.2 プロモーターを改善し、熱処理特異的な活性を持つ新規 HSP18.2 プロモーターを見出し、本プロモーター制御下でグルココルチコイド受容体ドメインを融合した CRE を発現する植物(pHSP18.2ver2-CRE-GR)を作成し、厳密に 1 コピー挿入であることを確認した。本植物は熱ショック特異的に遺伝子発現（導入した Venus タンパク質蛍光を指標として）を示すことを昨年度までに明らかとしたが、本年度は、誘導後の発現にかかる各種指標（誘導後の発現時間、誘導時のエネルギー出力や細胞のサイズなど）に関して調査を行ない、本形質転換植物が植物における一細胞遺伝子発現操作技術として広汎に用いることができる系であることが検証できた。また、本系を用いた国際共同研究の可能性に関しても検討・打ち合わせを行なった。
研究成果発表等の予定	H30 は大きな進捗は無かったが、本実験系の詳細な条件検討を行い、また、同時に 1 遺伝子挿入の第二世代 CRE 形質転換体種子を増やしている。本新規 IR-LEGO 用植物に関する研究成果に関しては、H31 に論文を完成し、投稿する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 23 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 埼玉大学大学院理工学研究科
氏名： 津田 佐知子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	IR-LEGO 光照射を用いた小脳機能的区画の形成メカニズムの解析		
課題番号	18-507		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井 保博 准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	埼玉大学大学院理工学研究科	大学院生	宮澤 碩彬
	埼玉大学大学院理工学研究科	大学院生	日吉 可菜映
	埼玉大学大学院理工学研究科	大学院生	奥村 華乃子

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究では、小脳に見られる機能モジュールの構築メカニズムの理解を目的とし、ゼブラフィッシュ稚魚において光による神経活動の記録と制御を用い、発達中の機能モジュールの同定と詳細観察を行った。その結果、視覚刺激に伴い活動パターンを変える複数の小脳プルキンエ細胞集団を見出し、これらがそれぞれ小脳広域に分布することを明らかにした。これは、発達中の小脳機能モジュールの一つである可能性が高いと考えられる。本研究により、モジュール構築機構の一端の理解が得られたとともに、その解明のための解析システムを確立できたことから、今後、カルシウムイメージング・膜電位イメージングなどを駆使することにより、発達ステージに伴う機能モジュールの形成と変遷の過程を明らかにできると期待される。
研究成果発表等の予定	本研究成果について、今後以下の学会において発表を行うと共に、論文発表に向け準備中である。(第 52 回日本発生生物学会大会：2019 年 5 月、大阪、14th International Zebrafish Conference：2019 年 6 月、中国、第 42 回日本神経科学学会大会：2019 年 7 月、新潟)
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 23 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 山口東京理科大学

氏名： 広井 賀子

下記のとおり実施しましたので報告します。

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	赤外レーザーによる温度操作に基づいた細胞走化性能制御法の構築		
課題番号	18-509		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井 保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	山口東京理科大学	助教	山中 龍
	慶應義塾大学理工学研究科	修士二年	中村 隆行
	慶應義塾大学理工学研究科	修士一年	齊藤 昂哉
	慶應義塾大学理工学部生命情報学科	准教授	舟橋 啓

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	NIHG-3T3 細胞の 2 次元培養系において、1 細胞ごとに IR-LEGO のシステムを用いて赤外レーザーを培養細胞近傍に照射し、細胞がレーザー照射位置へ移動する際の経時変化を追った。 可視光画像より、細胞の仮足領域の伸展が観察された。また、画像解析により細胞の重心を追跡したところ、レーザー照射により、細胞重心の移動距離が伸び、また移動方向がランダムな状態から照射位置へ向かう軌跡に偏るのが観察された。 この時、赤外レーザーで作られている環境の温度計測を行うため、量子ドットを用いて 1 枚の画像を取得するのと同じ時間内で温度計測に必要なデータを取得するための光学系構築を行なった。構築した系を用い、細胞移動中の培養環境の温度分布を推定した。その結果、レーザー照射位置を中心に、50 μm 程度の領域で、推定 15°C の温度差が作られている可能性が示された。 今後、2 次元系の複数の細胞をターゲットに、シリンドリカルレンズなどを応用した方法で赤外レーザー照射を行い、一斉移動を誘導可能か検証する。 そのデータをもとに、傷列に並んだ細胞を移動させる方法を考案する。
研究成果発表等の予定	9 月(PLM14, Cambridge, UK)または 11 月(ICSB2019, Okinawa, Japan)に国際学会発表予定
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30年度）

2019年4月1日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：京都大学農学研究科
氏名： 木下政人

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	難病遺伝子 SAMD9 の機能解析：IR-LEGO による組織特異的過剰発現メダカを用いて		
課題番号	18-510		
研究期間	2018年4月1日 ～ 2019年3月31日		
所内対応者	生物機能解析センター 光学解析室 亀井保博		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	京都大学・農学研究科・応用生物科学専攻	博士課程3年	岸本健太
	京都大学・農学研究科・応用生物科学専攻	博士課程2年	村上 悠
	京都大学・農学研究科・応用生物科学専攻	修士課程2年	中嶋千智
	京都大学・農学研究科・応用生物科学専攻	修士課程2年	柿本貴広

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	本課題は、MIRAGE 症候群を呈する疾患モデルメダカの作出とその原因解明を目的としている。これまでに MIRAGE 症候群の原因遺伝子とされる SAMD9 をメダカで強制発現させたところ、致死になることが明らかになった。そこで flox-GFP-SAMD9 遺伝子を持つトランスジェニックメダカ (flox-SAMD9-medaka) を作製し、Cre recombinase の Conditional な SAMD9 発現を試みた。flox-SAMD9-medaka の作製にあたり、全身で発現誘導する beta-actin promoter あるいは肝臓で発現する Choriogenin H promoter を、また、発現をモニターできるように GFP 遺伝子融合型あるいは 2A peptide で GFP 遺伝子を連結した plasmid を用いた。 それぞれの plasmid を有するメダカ系統をそれぞれ複数系統作製した。これらの F1 あるいは、F2 受精卵に Cre recombinase RNA を導入し、GFP 蛍光による SAMD9 の発現を確認しようとしたところ、いずれの系統においても GFP 蛍光が観察されなかった。そこで、Cre recombinase の作用を確認するために、同胚の gDNA を用いて PCR を行ったところ、Cre recombinase は正常に機能していた。また、RT-PCR により SAMD9 mRNA の検出を試みたが、確認できなかった。 以上の結果から、SAMD9 遺伝子は何らかの原因で特異的に発現抑制を受けていることが示唆された。 今後は、この発現抑制を解除する方法を検討していく。
研究成果発表等の予定	上記の研究中に Conditional な発現誘導系として作製した PA-Cre medaka 系統について、データを精査および追加し、学会発表あるいは、論文発表を行う予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

平成 31 年 4 月 21 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 京都大学大学院・理学研究科
氏名： 石川 時郎

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	組織特異的小胞体ストレスセンサー3 重変異体の機能解析		
課題番号	18-511		
研究期間	30 年 4 月 1 日 ～ 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井 保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	京都大学大学院・理学研究科	D3	陳 炳碩
	京都大学大学院・理学研究科	D2	齊藤 峻介
	京都大学大学院・理学研究科	修士課程 2 回生	池田 知世
	京都大学大学院・理学研究科	修士課程 2 回生	井上 翔太
	京都大学大学院・理学研究科	修士課程 2 回生	安田 裕助
	京都大学大学院・理学研究科	修士課程 2 回生	山崎 鈴花

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	小胞体は様々な分泌タンパク質・膜タンパク質の折り畳みを担う細胞小器官であり、その恒常性維持機構である小胞体ストレス応答は細胞・個体レベルの恒常性維持にも直結する重要な細胞応答である。 小胞体ストレス応答はセンサータンパク質と呼ばれる小胞体膜貫通型タンパク質が小胞体内の以上を感知し、シグナルを伝えることで駆動される。脊椎動物には10種類のセンサータンパク質遺伝子が存在し、これまで申請者により、このうち5種類についてはその生理的な役割がメダカを用いた系によって明らかにされている。 今回、残る5つのうち、特に相同性が高い3つのメダカについてそれぞれのノックアウトメダカを取得し、その表現型を解析した。 興味深いことに、それぞれの単独のノックアウトメダカは一部生存率が下がるものの、成魚まで生育した。一方で、これら3つのうち特定の2つを欠いたダブルノックアウトメダカは成魚まで生育するものはなかった。同様にトリプルノックアウトも致死であった。 この致死の表現型を探るべく、発生過程の観察と稚魚期の生存率を調べたものの、優位な差はみつからなかった。 すなわち、メダカ生育過程で何らかの異常が生じていることが示唆された。 今後は幼魚から若年のメダカを対象とした表現型解析を行う予定である。
研究成果発表等の予定	特になし
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 8 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：理化学研究所生命機能科学研究センター
氏名：森下喜弘

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	肢芽再生過程の細胞系譜追跡を長期かつマクロレベルで行うための IR-LEGO 実験系の開発		
課題番号	18-512		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	光学解析室 亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	理化学研究所生命機能科学研究センター	研究員	川住愛子

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	アフリカツメガエル幼生後肢の発生と再生における形態形成を理解する目的で、後肢全領域について IR-LEGO 法で GFP 発現を局所的に誘導し、ラベルされた数細胞の軌道追跡を行った。軌道データから、発生期の後肢形態形成期における変形動態を明らかにし、結果を以前に発表しているニワトリ胚後肢発生過程の変形動態 [Morishita et al., Development, 2015] と比較解析するための新しい手法を提案し、種を超えて保存された形態形成動態の抽出に成功した。得られた結果を現在論文にまとめており、今年中の投稿を目指している [Kawasumi-Kita et al., in preparation]。 他方で、今後は再生過程における細胞軌道追跡実験データの解析も進め、アフリカツメガエル四肢発生過程と再生過程で、形態形成過程の共通性を明らかにしていきたい。同時に、組織変形動態を他プロジェクトで行っているトランスクリプトームデータと統合することで、形態変化と遺伝子発現の時空間パタンの関係性の解明も目指していきたい。
研究成果発表等の予定	上記の研究内容について、国際会議にて招待講演を行った。 Title: Quantitative and comparative analysis of tissue deformation dynamics during chick and Xenopus limb development 会議名: (EMBO workshop) Limb Development and Regeneration: New Tools for a Classic Model System (Barcelona, Spain), July, 2019 また、この内容に関して現在執筆中の論文の早期投稿に尽力したい。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 30 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：岡山大学大学院自然科学研究科
氏名： 竹内 秀明

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカの生後脳発達の分子神経基盤の解析		
課題番号	18-513		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	岡大・院・医歯薬学総合研究科	助教	細谷 修
	岡大・院・医歯薬学総合研究科	助教	宮地まり
	岡大・院・自然科学研究科	大学院生	上岡史享
	岡大・院・自然科学研究科	学振 PD	勝村啓史
	岡大・院・医歯薬学総合研究科	教授	山下敦子
	岡大・院・自然科学研究科	大学院生	大門将寛

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	メダカ（真骨魚類）の終脳の生後（孵化後）脳発達の構築原理を解明する目的で、新生ニューロンの細胞系譜解析（一つの神経幹細胞から発生した細胞群）を行った。その結果、パリウムでは全ての細胞系譜単位が排他的に配置し、各細胞系譜単位が解剖学的区画（Dm や D1）の中で小区画を構築していた。このことから、外套では新生ニューロンの細胞系譜単位が区画構造を生み出すことを見出した。次にパリウムの細胞系譜解析で特徴的なエピゲノムパターンがあるかどうかを検証する目的で、ビブラトーム切片からラベルされた GFP シグナルを目印に約 30 種類の系譜単位を回収し、ATAC-seq を行った。全ゲノムにおいてオープンクロマチンのピークを比較しクラスターリング解析の結果、オープン・クローズドのクロマチン構造パターンがパリウムの解剖学的領域間で異なることが示唆された。さらにオスの視覚刺激を与えた後に、メダカのメス脳のパリウムにおいて活性化している脳領域を最初期遺伝子の <i>in situ</i> hybridization 法によって検索した結果、細胞系譜単位に対応するパリウム（Dd）の 1 区画で最初期遺伝子の発現が選択的に検出された。真骨魚類ではパリウム D1（背側外側）領域がほ乳類の海馬に対応すると考えられており、網膜で受容された視覚情報は上丘（視蓋）を経由して、パリウム D1 領域に入力するため、当該脳領域は真骨魚類の高次視覚野に対応すると考えられている。霊長類では「顔領域」は海馬体周辺のパリウムの高次視覚中枢に存在する。パリウム（Dd）の区画は D1 領域と近接しており、当該領域はメダカと同種認知（顔認知）に関わる可能性がある。今後は行動実験によるメダカ同種認知の行動発達の検証、当該区画のレーザー破壊によってメダカ同種認知に異常が生じるか否かを検定する。
研究成果発表等の予定	以上の結果は全てを一つの論文にまとめて投稿する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（H30 年度）

2019 年 4 月 21 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 岡山大学 異分野融合先端研究コア
氏名： 佐藤伸

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	レトロウイルスを用いたメキシコサラマンダーにおける強制発現系の開発		
課題番号	18-514		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井 保博		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	岡山大学理学部	学部学生	齋藤奈波
	岡山大学理学部	学部学生	西村公希
	岡山大学理学部	学部学生	兵藤優香

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	有尾両生類のメキシコサラマンダーとイベリアトゲイモリにおいて、計画通り遺伝子改変動物の作出を行った。計画通り個体は作成でき、形態形成異常等これまでのところ観察されていない。メキシコサラマンダーに関しては、人工授精ができない為今のところ3ラウンドしか実験操作を完了できていない。親世代までに育ったものが1個体だけ生存しているため、今後はこの個体からのF1世代の創出に努める。イベリアトゲイモリに関してはF0世代が20匹をこえ、F1個体の創出まで完了しつつある。現状からはin vitroの解析にはイベリアトゲイモリを使う方向性を採る。動物の創出は完了しており、ここから先はイメージングの領域となる。微弱且つ自家蛍光の強い動物で生体内イメージングや細胞内イメージング方法など、複数の専門家の意見を参考にして方策を練りつつある。基生研の亀井先生と実験の状況相談とサンプル送付に関する相談を経て次年度内に予備的な観察を行う。また、亀井先生の持つ温度測定技術が別件の細胞内観察に使用できるかも次年度に検討する予定である。
研究成果発表等の予定	
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（H30 年度）

H31 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：広島大学大学院理学研究科
氏名：鈴木賢一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	イペリアトゲイモリの四肢再生における作用機序と分子機構の解明		
課題番号	18-516		
研究期間	H30 年 4 月 1 日 ～ H31 年 3 月 31 日		
所内対応者	光学解析室 亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	広島大学大学院理学研究科	大学院生 JSPS 特別研究員	鈴木美有紀
	広島大学大学院理学研究科	研究員	秋山遥
	鳥取大学医学部	准教授	林利憲

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本申請課題ではイベリятゲイモリにおける生命科学研究に必要なゲノム編集技術を開発し、さらにこの技術を応用して四肢再生に関与する遺伝子群の機能解析を行い、器官再生メカニズムの全貌解明を目指すことを目的としている。まず、イベリятゲイモリ四肢再生芽を含む各成体組織や様々な発生段階の胚由来のトランスクリプトームデータから、再生芽で特異的に発現する遺伝子を多数同定することに成功した。この中から複数の遺伝子に注目し、ノックアウト個体を作成して四肢再生への影響を解析した。一部のノックアウト個体は、光学解析室にある高性能実体顕微鏡を用いて、四肢再生への影響を形態学的に精査した。その結果、ツールキット遺伝子の再生における新しい役割についての知見を得ることができた。計画では四肢再生遺伝子座への蛍光タンパク質遺伝子のノックイン個体の作出や ECM タンパク質のイメージング解析も行う予定であった。しかしながら、上記の思わぬ成果を展開させることが優先事項となったため、計画の一部は変更となった。今後も基礎生物學研究所光学解析室が保有する高性能イメージング機器をフルに活用して、再生研究における重要なツールや方法論を開発し、得られた知見を元に研究を大きく展開していきたい。
研究成果発表等の予定	現在得られている成果をさらに展開して、論文化を目指したい。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 新潟大学理学部

氏名： 西川周一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	IR-LEGO による遺伝子発現誘導系を用いたシロイヌナズナ極核融合機構の解析		
課題番号	18-517		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	被子植物の雌性配偶体形成過程は、減数分裂の結果生じた大胞子から始まり、3回の核分裂とそれに続く細胞化により8核7細胞の雌性配偶体が形成する。雌性配偶体の中央細胞には2個の核（極核）が存在し、シロイヌナズナなどでは、雌性配偶体形成の最終段階でこれらが融合して中央細胞核（二次核）となる。われわれは、シロイヌナズナでは小胞体の Hsp70 システムが極核の核膜融合過程を制御していることを、変異株の解析などから明らかにしてきた。 本研究では、極核融合因子の新たな機能解析系として、熱ショックによる Cre-loxP 部位特異的組換え誘導と雌性配偶体特異的 ES2 プロモーターを組み合わせて、雌性配偶体特異的な遺伝子発現誘導系を構築した。構築した遺伝子発現誘導系は、花序や雌しべの短時間（1～5分間）の高温（35℃）処理や、IR-LEGO を用いた単離胚珠の熱処理によって効率よく遺伝子発現誘導が可能であることを示した。また、構築した遺伝子発現誘導系を用いて、極核の核膜融合に核内膜の Sun タンパク質の機能が必要であることを示した。Sun タンパク質は外膜の KASH タンパク質とともに LINC 複合体を形成するが、Sun タンパク質と KASH タンパク質との相互作用が核膜融合に必要であることも示した。今後は、Sun タンパク質とともに核膜融合で機能する KASH タンパク質の同定と機能解析を進めていきたい。
研究成果発表等の予定	これまでの成果をまとめた論文を現在投稿中である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

Research Report
Collaborative Research in the National Institute for Basic Biology
(NIBB) Fiscal year 2018

Date (13/05/2019)

To Director General of NIBB

Principal Investigator

Name : Huai-Jen Tsai

Institution :

(1) Institute of Biomedical Sciences (Mackay Medical College)

(2) Institute of Molecular and Cellular Biology (National Taiwan University)

1. Category (Please select one)

- ☐ Priority collaborative research projects
- ☐ Collaborative research projects for model organism and technology development
- ☐ Individual collaborative research projects
- ☐ Collaborative research projects for integrative genomics
- ☒ Collaborative research projects for integrative bioimaging
- ☐ NIBB workshops
- ☐ Collaborative experiments using the Large Spectrograph
- ☐ Support for NIBB training courses
- ☐ Collaborative research projects for bioresource preservation technology development

2. Research project title

Identification of Subtype-Specific Cells and Their Biological function after Spinal Cord Injury in Zebrafish Embryos

3. Project number

18-518

4. Project term (Day/Month/Year) – (Day/Month/Year)

5. Host researcher

Huai-Jen Tsai

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name
Liver Disease Prevention & Treatment Research Foundation	Postdoctoral	Chih-Wei Zeng

7. Outline of research results and future prospects*

Zeng *et al.* (2016) in Tsai's lab reported that when the embryos derived from this zebrafish transgenic *huORFZ* were exposed to hypoxia and followed by oxygen recovery (OR), GFP reporter gene was exclusively expressed in the central nervous system (CNS) of zebrafish embryos. Furthermore, they found that, among these GFP-expressing cells in spinal cord, most were Neuron stem/progenitor cells (NSPCs) and radial glia cells (RGs), along with a few oligodendrocyte progenitor cells (OLPs) and oligodendrocytes (OLs), all termed as hypoxia-responsive recovering cells (HrRCs)-subtypes. After hypoxia, unlike GFP-negative neurons, these GFP(+)-HrRCs did not undergo apoptosis. Among HrRCs-subtypes, only GFP(+)-NSPCs and GFP(+)-RGs proliferated, migrated, and differentiated into functional neurons during OR. Being collaborated with Dr. Yasuhiro Kamei of NIBB, Zeng *et al.* (2016) uncovered that when some HrRCs-subtypes induced by hypoxia stress were ablated in the spinal cord of *huORFZ* embryos, swimming performance was impaired, suggesting that HrRCs-subtypes are involved in neuronal regeneration.

The above evidence has been concluded based on the hypoxic stress. We intend to continue our study to understand what happened if the spinal cord injury (SCI) is caused by mechanical damage. In this cooperative work we will also took advantage of the transgenic zebrafish line *huORFZ* to fully characterize the specific cell-subtypes population that is able to survive, migrate, differentiate and also involved in neuron regeneration after mechanical SCI in zebrafish embryos. In NIBB, we used IR-LEGO to ablate SCI-induced GFP(+) cells. We found that after ablating those cells, the zebrafish larva swimming performance was impaired, suggesting that SCI-induced GFP(+) cells are involved in

neuronal regeneration. Besides, we also collected and cultured those GFP(+) cells by using SH800 sorter. The results show that those GFP(+) cells can differentiated into functional neurons compare with spinal cord GFP(-) cells. In the future, we want to know that (1) what different between spinal cord GFP(+) cells and GFP(-) cells; and (2) the most important protein gene that maybe involve in neuronal regeneration by using RNA sequencing.

8. Publications or publication plan*

We plan publish one research article and one technical short report.

9. Remarks, if necessary

*Concisely describe contents that will be opened in the NIBB web page.

Research Report
Collaborative Research in the National Institute for Basic Biology
(NIBB) Fiscal year 2018

10/9/2019

To Director General of NIBB

Principal Investigator Name : Li-Kun Phng
 Institution : RIKEN BDR

1. Category (Please select one)

- ☐ Priority collaborative research projects
- ☐ Collaborative research projects for model organism and technology development
- ☐ Individual collaborative research projects
- ☐ Collaborative research projects for integrative genomics
- ☒ Collaborative research projects for integrative bioimaging
- ☐ NIBB workshops
- ☐ Collaborative experiments using the Large Spectrograph
- ☐ Support for NIBB training courses
- ☐ Collaborative research projects for bioresource preservation technology development

2. Research project title

Quantitative analysis of endothelial cortical actin organization in vascular tubes

3. Project number

18-519

4. Project term (Day/Month/Year) – (Day/Month/Year)

01/04/2018 – 31/03/2019

5. Host researcher

Kagayaki Kato

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name

7. Outline of research results and future prospects*

The aim of this project was to determine whether the protein, Marcksl1, can alter the organization of actin cytoskeleton in endothelial cells (ECs). High resolution images of the actin cytoskeleton of wildtype and Marcksl1a-overexpressing ECs of zebrafish embryos were processed and analysed by Dr. Kato. However, no significant differences in organization and density were observed. We therefore next performed additional experiments on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) *in vitro* where we either transfected the cells with plasmids encoding EGFP or MARCKSL1-EGFP. Again, high resolution images of actin cytoskeleton of control and MARCKSL1-overexpressing cells were analysed by Dr. Kato. This time, it was possible to detect a significant change in actin density when ECs were transfected with HUVECs (Figure 1). This result supports the hypothesis that MARCKSL1 has a role in organizing the actin cytoskeleton.

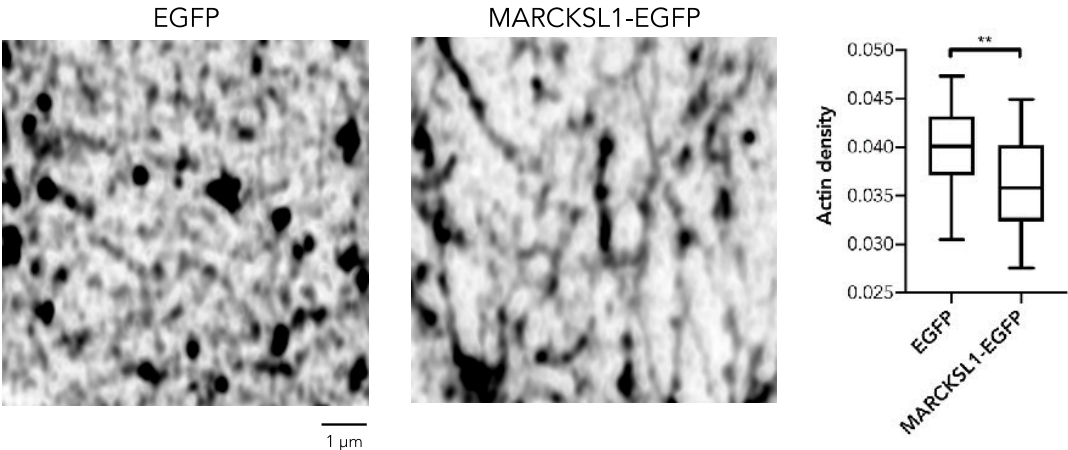


Figure 1. The overexpression of MARCKSL1 in HUVECs reorganizes the actin network in the cell cortex to generate longer bundles of actin while decreasing actin density in its vicinity.

8. Publications or publication plan*

We plan to use data from this collaboration in a manuscript that we plan to submit this year.

9. Remarks, if necessary

*Concisely describe contents that will be opened in the NIBB web page.

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

20019 年 4 月 30 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：筑波大学 医学医療系
氏名：佐々木 哲也

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	自閉症病態モデル動物大脳皮質ニューロン樹状突起構造の異常の調査		
課題番号	18-522		
研究期間	2018 年 5 月 18 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井 保博 准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	筑波大学 医学医療系	教授	武井 陽介

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	前頭連合野(PFC)、側頭連合野(TE)、一次運動野(M1)、一次視覚野(V1)の錐体細胞のスパインの形態を比較した。その結果、PFCとTEのスパインはV1やM1のスパインよりも高密度に存在することがわかった。V1とM1には、マッシュルーム型のスパインが多く観察された。一方、PFCとTEのスパインは大きいHead・長いNeckをもつことがわかった。またスパイン形態の多様性はPFCで最大となることがわかった。PFCの <i>in vivo</i> スパイン動態を二光子顕微鏡で観察し、本研究結果と比較・検討した(Sadakane, Sasaki et al., 2015)。また自閉症モデルマーマーモセットの脳皮質で未成熟型のスパインが増加している様子を観察した。霊長類前頭前皮質領域に強く発現する分子 X の受容体オーソログ遺伝子 Y をマウス脳皮質でノックダウンしたところ、樹状突起スパインの低形成が生じることを見出している。 【考察及び展望】 上記のスパイン形態の特性は、多数の情報を統合する PFC の錐体細胞の生理特性を反映していると考えられる。PFC では未成熟型スパインが多く観察されることから、新しい神経回路を形成する可塑性を維持していることが示唆される。今後は、PFC に特異的発現分子や自閉症関連分子の人為的操作を行い、樹状突起やスパインへの影響を調査することを計画している。
研究成果発表等の予定	霊長類前頭前皮質に特異的に発現する遺伝子の解析 佐々木 哲也、権田裕子、小松 勇介、渡我部 昭哉、山森 哲雄 第 124 回 日本解剖学会総会・全国学術集会 2019 年 3 月 28 日 霊長類前頭前皮質領域に強く発現する分子 X の受容体オーソログ遺伝子 Y をマウス脳皮質でノックダウンし、樹状突起スパインの低形成が生じる観察結果は査読付き論文に 2019 年度中に投稿予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：名古屋大学大学院生命農学研究科
氏名：石黒澄衛

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	花粉エキシンの形成過程で現れる多糖性微細構造の観察		
課題番号	18-523		
研究期間	2018 年 6 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所・光学解析室	技術職員	近藤 真紀
	名古屋大学大学院生命農学研究科	大学院生	土田 航平

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	花粉の表面はエキシンと呼ばれる立体構造で覆われている。シロイヌナズナの場合は3次元的な網目状構造である。細胞膜の外側にこうした種特異的な構造を作るしくみがどうなっているのかは全く知られておらず、その解明を目的に研究を進めている。これまでの解析から、未熟花粉（小孢子）の網の目の中には塊状のキシランやペクチンが存在し、これらが鋳型として働くことがわかっている。しかし、これらの構造は著しく小さく、光学顕微鏡では詳細がわからない。そこで、本共同利用研究として免疫電子顕微鏡観察を実施し、微細構造の観察やキシランとペクチンの分布状態の可視化を試みた。その結果、免疫電子顕微鏡法でも小孢子表面のキシランやペクチンを検出することはできたが、構造の詳細はよくわからなかった。サンプル調製等に条件検討の余地があり、改良を加えることで明瞭な像の観察を目指す。
研究成果発表等の予定	現在、光学顕微鏡観察の結果を中心とした投稿論文を作成中である。明瞭な電子顕微鏡写真が得られればぜひそこに追加したい。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 5 月 17 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立長寿医療研究センター
氏名：里 直行

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	糖尿病合併アルツハイマー病モデルマウスにおける大脳皮質および海馬神経細胞イメージング		
課題番号	18-524		
研究期間	平成 30 年 9 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	時空間制御研究室 野中 茂紀 准教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	国立長寿医療研究センター	流動研究員	鈴木 香

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	提案代表者の所属する国立長寿医療研究センター分子基盤研究部では糖尿病合併アルツハイマー病モデルマウスである APP23⁺-ob/ob マウスを解析するため、マウス透明脳の観察を目的とし、それに先駆け Thy-1 GFP マウス脳を透明化し神経細胞の可視化を試みた。提案代表者は現在までに CUBIC 試薬を用いたマウス脳透明化法を導入し、この透明脳で 2018 年 6 月来所時に共同利用施設であるライトシート顕微鏡を用いて GFP 発現神経細胞の三次元的画像撮影に成功した (図 1)。さらに 2018 年 9 月来所時には対物レンズ 20 倍サンプルフォルダを使用し、より高倍率の撮影によって海馬神経細胞スパインを検出した (図 2)。2018 年 10 月来所時に二光子励起顕微鏡を用いて海馬 CA1 領域の Z 軸スライス画像撮影を試み、背側より腹側へ 187 枚の Slice 画像を取得し FIJI Software で三次元化を行った。2018 年度は共同利用施設で Thy1-GFP マウス透明化脳での神経細胞観察を行ったが、今後は当研究室の主テーマである糖尿病合併アルツハイマー病モデル APP23⁺-ob/ob マウス透明化脳で実際のスパイン変化を解析予定である。提案代表者の所属する国立長寿医療研究センターで WT-Thy-1 GFP マウスと APP23⁺-ob/+および ob/+マウスを交配し WT-Thy-1 GFP、APP23⁺-Thy-1 GFP、ob/ob Thy-1 GFP、APP23⁺-ob/ob Thy-1 GFP マウスを得つつある。今後これらマウスの老化に伴う神経形態変化をそれぞれ比較する。一方提案代表者は現在までに神経スパイン局在タンパクを用いた免疫組織化学法により糖尿病モデル ob/ob マウスおよび糖尿病合併アルツハイマー病モデル APP23⁺-ob/ob マウスで大脳皮質第 II/III 層と海馬 CA1 錐体細胞層でスパインの減少傾向を見出していることから、これらの現象を Thy-1 GFP 糖尿病合併アルツハイマー病モデルマウス透明化脳で再現していくことにより、糖尿病と神経細胞の形態変化との関連をより詳細に解析していく。 (図 1) ライトシート顕微鏡で撮影したThy1-GFPマウス脳海馬神経細胞 (2018年6月29日撮影) (図 2) 対物レンズ20倍サンプルフォルダを使用して撮影したThy1-GFP マウス海馬神経細胞 (2018年9月20日撮影)
研究成果発表等の予定	特になし
備考	なし

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

Research Report
Collaborative Research in the National Institute for Basic Biology (NIBB)
Fiscal year 2018

Date (31/03/2019)

To Director General of NIBB

Principal Investigator Name : Yung-Shu Kuan
Institution : National Taiwan Univ.

1. Category (Please select one)

- ☐ Priority collaborative research projects
- ☐ Collaborative research projects for model organism and technology development
- ☐ Individual collaborative research projects
- ☐ Collaborative research projects for integrative genomics
- ☒ Collaborative research projects for integrative bioimaging
- ☐ NIBB workshops
- ☐ Collaborative experiments using the Large Spectrograph
- ☐ Support for NIBB training courses
- ☐ Collaborative research projects for bioresource preservation technology development

2. Research project title

Deciphering the developmental blueprint of the habenular nuclei in zebrafish embryonic brain

3. Project number

18-525

4. Project term (Day/Month/Year) – (Day/Month/Year)

(01/11/2018) – (31/03/2019)

5. Host researcher

Dr. Yasuhiro Kamei

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name
Inst. of Biochemical Sciences, College of Life Science, National Taiwan University	Associate Prof.	Yung-Shu Kuan

Inst. of Biochemical Sciences, College of Life Science, National Taiwan University	Post-doc	Chun-Shiu Wu

7. Outline of research results and future prospects*

In our visit to NIBB, we used the IR-LEGO system in NIBB again to prove that diencephalic *ngn1* positive precursor neurons will development into HA neurons in the zebrafish embryos. We obtained good images showing what we expected that *ngn1* positive precursor neurons indeed contributed into HA neurons. We plan to finish the last experiment by ectopically expressing *ngn1* mRNAs in the developing diencephalon (using electroporation) to rescue the *ngn1*-loss-caused HA developmental defects found in *wntless* mutants.

8. Publications or publication plan*

We had presented the *ngn1* cell-labeling results using IR-LEGO in JSDB (in Tokyo) of 2017. We also will show newly obtained labeling results in IZFC (in Suzhou) in June 2019. We plan to publish our whole project results in the future after we obtain solid results from *ngn1* mRNA rescuing experiments.

9. Remarks, if necessary

*Concisely describe contents that will be opened in the NIBB web page.

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019 年度）

2019 年 4 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：アルバータ大学

氏名：A. Richard Palmer

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☒ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Evolutionary morphology of Crustacea, in the light of State-of-the-art microscopy		
課題番号	18-526		
研究期間	2019 年 3 月 22 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	野中茂紀 准教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	アルバータ大学	Postdoctoral Fellow	梶 智就

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	本研究は Maeridae（ヨコエビの1分類群）の鋏脚における可動指運動に関わるエネルギー蓄積機構の比較機能形態学的理解を目的としている。今年度の共同利用では、2018年度中に取得していた共焦点顕微鏡を用いたスキャンデータを用い、三次元画像解析ソフト Imaris（Bitplane 社）による解析を行った。当該共同研究に関連した研究内容の一部は Frontier Zoology に投稿しアクセプトされた（備考参照）。今後さらなる解析を継続し、Maeridae におけるエネルギー蓄積機構の多様性と進化を紐解いてゆく。
研究成果発表等の予定	本解析の成果の一部は2019年5月に University of Windsor にて行われる 2019 Annual Meeting of the Canadian Society of Zoologists にて発表される。また、さらなる解析を重ねた上で論文化し2019年度中に国際学術誌にて発表する予定である。
備考	“Evolutionary transformation of mouthparts from particle-feeding to piercing carnivory in Viper copepods: 3D analyses of a key innovation using advanced imaging techniques” Tomonari Kaji, Chihong Song, Kazuyoshi Murata, Shigenori Nonaka, Kota Ogawa, Yusuke Kondo, Susumu Ohtsuka and Richard Palmer. <i>Frontiers in Zoology</i>, in press.

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

研究会

18-601 再生学異分野融合研究会

竹内 隆（鳥取大学医学部 教授）

18-602 バイオサーモロジー研究会 -1℃の違いを知る-

佐藤 良勝（名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 特任准教授）

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2018 年 9 月 6 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：鳥取大学 医学部
氏名：竹内 隆

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☒ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	第 1 回 再生学異分野融合研究会		
課題番号	18-601		
研究期間	2018 年 8 月 30 日 ～ 2018 年 8 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	鳥取大学・医学部	教授	竹内隆
	基礎生物学研究所・生物機能解析センター光学解析室	特任准教授	亀井保博
	兵庫県立大学	教授	梅園良彦
	東北大学	教授	田村宏治
	以上オーガナイザー、他講演者は別紙		

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	研究会開催概要 開催日時: 2018 年 8 月 30-31 日 (2 日間) 開催場所: 自然科学研究機構岡崎カンファレンスセンター (中会議室) 出席者: 87 名 (所外 61 名、所内 26 名) 講演 20 名、ポスター19 題 主催: 基礎生物学研究所共同利用研究「研究会」(18-601) オーガナイザー: 竹内隆 (鳥取大学) (代表者) 梅園良彦 (兵庫県立大学)・田村宏治 (東北大学)・亀井保博 (基生研) 総括 本研究会では、再生の生物学者とゲノム科学、再生医療、様々な生物での先端的研究など異分野の研究者との交流、また、若手研究者の活性化を積極的にはかり、再生の重大問題の解決への道筋と再生研究の今後の方向性を議論することを目的とする。今回の第一回はゲノム科学等の異分野との融合をめざし、再生生物学研究者 10 名、様々な生物に対し、ゲノム科学等を駆使して先端的研究を行う研究者 10 名による計 20 題の講演、およびポスター19 題の発表がなされた。参加者は事前登録者計 80 名、当日参加者 7 名の 87 名であった。一部が再生研究者、残りは再生とは限らない生命現象 (蛍の発光や魚の形態など) の研究者で議論が噛み合わないことを心配したが、まったく杞憂であった。いずれの発表においても互いに新鮮な内容で極めて濃密な議論がなされ、問題意識や解析方法などを理解、共有するという意味での融合ができ、当初の目的を果たした。また、一部で共同研究への展開も開始された。今後はこの成果を基盤に第二回、第三回の研究会が有意義なものになるよう企画していきたい。また、共同研究等を通じて再生学の発展につなげたい。
研究成果発表等の予定	本研究会は基生研 NEWS No. 722 で紹介された。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

別紙

プログラム

DAY 1 8/30

- 12:30- 受付 (OCC 中会議室前)
- 13:00-13:10 開催挨拶 (代表: 竹内隆)
- 13:10-13:35 佐藤伸 (岡山大学)
両生類の再生システムは哺乳類でも共通なのか?
- 13:35-14:00 横山仁 (弘前大学)
器官再生の原理を *Xenopus* から探る - なぜ両生類は皮膚や四肢を再生できるのか?
-
- 14:00-14:25 田村宏治 (東北大学)
四肢・鰭再生における位置記憶
- 14:25-14:50 川上厚志 (東京工業大学)
完全な皮膚再生における上皮細胞の供給メカニズム
- 14:50-15:10 Coffee Break
- 15:10-15:35 尾崎克久 (JT 生命誌研究館)
アゲハチョウの味覚から、本能の変化を読み解く
- 15:35-16:00 重信秀治 (基礎生物学研究所)
NGS 時代の昆虫研究
- 16:00-16:25 國枝武和 (東京大学)
極限環境に耐えるクマムシの耐性戦略に迫る
- 16:25-16:45 Coffee Break
- 16:45-17:10 林利憲 (鳥取大学)
異分野の融合研究を可能にするモデルイモリ、イベリアトゲイモリの紹介
- 17:10-17:35 竹内隆 (鳥取大学)
再生できるできないは何が決めるのか? - 心臓に注目して
- 17:35-18:00 山口智之 (東京大学)
異種動物体内での臓器作製
- 18:00-20:00 懇親会・ポスター発表* (発表者・タイトルは次ページ)

DAY 2 8/31

- 8:40-9:05 長谷部光泰 (基礎生物学研究所)
植物と動物の再生の相違点と類似点
- 9:05-9:30 杉本慶子 (理化学研究所)
植物細胞のリプログラミング - 転写とエピジェネティック制御 -
- 9:30-9:55 立花誠 (徳島大学)
哺乳類の性決定におけるエピゲノム制御の役割
- 9:55-10:15 Coffee Break

- 10:15-10:40 三浦正幸（東京大学）
メチオニン/SAM 代謝によるショウジョウバエ組織再生制御
- 10:40-11:05 二階堂雅人（東京工業大学）
シクリッド（熱帯魚）の唇肥大化に関わる遺伝子メカニズム
- 11:05-11:30 入江直樹（東京大学）
遺伝子の使い回しは進化にとって諸刃の剣か
- 11:30-11:55 亀井保博（基礎生物学研究所）
様々なモデル生物種に応用可能な単一細胞/局所遺伝子発現顕微鏡法の原理と応用
- 11:55-13:00 Lunch 弁当配布（事前予約制）
- 13:00-13:25 牧野能士（東北大学）
高い再生能力を持つ後生動物に特異的な遺伝子の探索
- 13:25-13:50 梅園良彦（兵庫県立大学）
プラナリアの前後軸再生機構の解明
- 13:50-14:15 阿形清和（学習院大学）
プラナリアのゲノム解析から見えてきたこと-苦労のあとには幸はあるのか!?-
- 14:15-14:25 閉会挨拶（次回幹事 田村宏治）

ポスター演題

- P01 Momoko Ikeuchi 1,2、 Keiko Sugimoto1
(1; RIKEN CSRS、2; JSPS)
- P02 市川 麗子 1、豊泉 龍児 2
(1; 神奈川大学大学院 理学研究科、2; 神奈川大学 理学部 生物科学科)
- P03 岩瀬 哲、池内 桃子、Bart Rymen 、杉本 慶子
(理研 環境資源科学研究センター)
- P04 植本 俊明、阿部 玄武、田村 宏治
(東北大学大学院 生命科学研究科)
- P05 大湖 史朗、横田 日菜子、和田 直之
(東京理科大学 理工学部 応用生物科学科)
- P06 角田 瑛、猪鼻 拓也、井上 武、阿形 清和
(学習院大学大学院 自然科学研究科 生命科学専攻)
- P07 樫尾 宗志朗 1、三浦 正幸 1,2
(1; 東京大学大学院 薬学系研究科、2; AMED-CREST, AMED)
- P08 小池 亨 1、市川 智也 2、河端 穂奈美 1、杉田 宇惇 1、鳥山 優 2
(1; 静岡大学 理学部、2; 静岡大学 農学部)
- P09 郡山 和貴、坂上 莉彩、茗荷 あゆみ、林 利憲、竹内 隆
(鳥取大学 医学部 生命科学科)
- P10 坂本 優希 1, 2、杉本 慶子 2, 1
(1; 東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻、2; 理研 環境資源科学研究センター)
- P11 嶋田 侑莉 1、越智 陽城 2、横山 仁 1

- (1: 弘前大 農学生命、2: 山形大 医学部)
- P12 清水 勇氣、上田 悠人、大島 登志男
(早稲田大学大学院 生命医科学研究科)
- P13 多鹿 友喜
(群馬大学大学院 医学系研究科)
- P14 玉田 洋介 1,2、壁谷 幸子 1、長谷部 光泰 1,2
(1; 基礎生物学研究所 生物進化研究部門、2; 総合研究大学院大学 生命科学研究科)
- P15 蓮潟 里帆¹、小林 託也²、越智 陽城³、田村 宏治²、横山 仁¹
(1; 弘前大学 農学生命科学部 農学生命科学研究科、2; 東北大学大学院 生命科学研究科、3; 山形大学 医学部)
- P16 秦野 修 1、磯崎 勝弘 2、竹森 洋 3、西村 裕志 4、竹田 浩之 5、岩崎 哲史 6、大西 健 7
(1; 奈良県立医科大学、2; 京都大学化学研究所、3; 岐阜大学工学部、4; 京都大学生存圏研究所、5; 愛媛大学プロテオサイエンスセンター、6; 神戸大学バイオシグナル研究センター、7; 茨城県立医療大学)
- P17 増子 恵太、根本 和也、布施 直之、倉田 祥一郎
(東北大学大学院 薬学研究科)
- P18 松原 遼、井上 武、角田 瑛、阿形 清和
(学習院大学 理学部 生命科学科)
- P19 森山 侑輝、伊藤 柁、鳥海 夏葉、難波 櫻子、福井 彰雅
(中央大学 理工学部 生命科学科)

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 1 月 7 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：名古屋大学トランスフォーマティブ
生命分子研究所

氏名：佐藤良勝

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☒ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	バイオサーモロジー研究会 -1℃の違いを知る-		
課題番号	18-602		
研究期間	2018 年 12 月 25 日 ～ 2018 年 12 月 26 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所	特任准教授	佐藤良勝
	静岡大学グリーン科学技術研究所	教授	木村浩之
	基礎生物学研究所	特任准教授	亀井保博
	他講演者等は別紙		

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	概要と総括 「生命システムにとっての熱や温度とは何か？」を問う研究が世界的に注目を集める中、2016年に第1回 Biothermology Workshop（生命システムの熱科学ワークショップ）が、2017年に第2回が開催された。これらのワークショップは、細胞内という微小な空間における熱や温度に関わる現象と細胞内分子機構または生体物質の物性との間を結びつけ、新しい生命科学の一端を切り開く目的で開催され、議論された。最新技術の動向を共有し、その知識をもとに様々な生物種における温度応答、温度記憶、温度耐性等の分子機構の解明に向けた研究の講演並びに議論を行い、バイオサーモロジーという学問領域をさらに発展させることを目的として、今回第三回として Biothermology Workshop 2018 を開催し、60名が参加した。 1日目は、線虫、ショウジョウバエ、トンボ、マウス、ニワトリ、カエル、トカゲといった様々な生物種を対象とした最新の研究が紹介された。そして、温度センシング、温度刺激、低温・高温耐性、体温リズム、温度適応進化といった熱や温度に対する生体機構について議論された。また、植物（ゼニゴケ）の光受容体が温度センサーとして機能している可能性なども話し合われた。さらに、温暖化によるサンゴの白化現象に関連する遺伝子（HIBA gene）の発現機構についても最新のデータが示され、海水温とサンゴ-藻類の共生に関する興味深い議論が行われた。2日目は、細胞熱物性や熱伝導、量子センサーに着目した細胞内温度測定、細胞の熱伝導測定、細胞温度イメージングといった解析技術についての講演が行われ、新技術の可能性や発展利用について議論した。また、タンパク質の物性に着目して理想タンパク質構造を推定し、耐熱化を試みる研究が大きく取り上げられ、今後重要な技術として発展することが伺えた。これらの講演を受ける形で「細胞温度イメージング、細胞機能制御、細胞内ナノ環境定量技術」等についての議論も行われた。さらに、生命システムの熱科学における新技術を活用した共同研究の推進についても話し合われた。13件のポスター発表も行われた。そして、生物学、数理学、生物物理学、応用物理学を専門とする若手研究者および学生、大学院生と議論を交えた。特に、熱や温度を情報として利用するセンシング機構や、生物にとっての熱や温度とは何かを実験によって捉える手法についての議論を深めつつ、今後、新たに求められる解析技術についても話し合われた。
研究成果発表等の予定	
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

別紙

2018 年 12 月 25 日(火)

12:00 開場

12:50 挨拶及び会場説明 (佐藤 良勝 名古屋大学ライブイメージングセンター)

12:55 挨拶 (富永 真琴 自然科学研究機構 生命創成探究センター(ExCELLS) 温度生物学研究グループ)

13:00 Session I 生物の温度センシング

1. 久原篤 (甲南大・教授)

「線虫 *C. elegans* の低温耐性における温度センシング機構」

2. 児玉豊 (宇都宮大・准教授)

「植物の温度感知：光受容体フォトトロピンは温度センサーである」

3. 碓井理夫 (京都大学・講師)

「ゲノムワイド関連解析からはじめる高温侵害覚の生理学」

14:30 Coffee Break

14:45 Session II 生物の温度応答

1. 土居雅夫 (京都大学・教授)

「昼寝の体温を制御する脳内中枢時計の分子機構」

2. 神吉智丈 (新潟大学・教授)

「環境温度変化に応答した脂肪組織におけるミトコンドリア分解」

3. 井川武 (広島大学・助教)

「温泉ガエルの発見：リュウキュウカジカガエルの高温耐性メカニズムの解明に向けて」

4. 小川泰 (理化学研究所・研究員)

「核-細胞質間輸送の温度依存性」

16:45 Coffee Break

17:00 Session III 生物の温度応答の進化

1. 河田雅圭 (東北大・教授)

「環境変化に対する温度ニッチの進化」

2. 丸山真一郎 (東北大学・助教)

「サンゴ共生藻と刺胞動物のモデル系を用いた温暖化時代の共生生物学」

3. 杉本亜砂子 (東北大学・教授)

「線虫 *C. elegans* とその姉妹種 *C. inopinata* は適応温度研究のモデル系となる得るか？」

18:30 ポスター発表

19:00 情報交換会

挨拶 (亀井 保博 基礎生物学的研究所生物機能解析センター)

～ 20:45 (21:00 閉場)

2018 年 12 月 26 日(水)

8:35 ポスターセッション

9:00 Session IV ΔT と熱物性・熱伝導

1. 石渡信一（早稲田大学・名誉教授）

「細胞熱物性と細胞機能について」

2. 古賀信康（自然科学研究機構(NINS)・生命創成探究センター(ExCELLS)、総合研究大学院大学(SOKENDAI)

「超安定な理想タンパク質の合理設計と天然タンパク質の累積的耐熱化」

3. 塩見淳一郎（東京大学・教授）

「ナノスケールにおける結晶・非晶質材料の熱伝導」

10:30 Coffee Break

10:45 Session V 細胞内における温度差計測の新技術

1. 五十嵐龍治（量子科学技術研究開発機構・QST 未来ラボ主任研究員）

「量子センサーによる細胞内ナノ環境の定量技術」

2. 新井敏（早稲田大学理工学研究所・講師、AMED PRIME Researcher）

「色素型ナノヒーターを用いたサブセルレベルの機能制御」

3. 大山廣太郎（量子科学技術研究開発機構・量子ビーム科学研究部門主任研究員）

「蛍光温度計シートを用いた細胞温度マッピング」

4. 神谷厚範（岡山大学・教授）

「生きた恒温動物の体内における、細胞温度イメージング解析」

12:45 Closing Remarks (木村浩之 静岡大学グリーン科学技術研究所)

大型スペクトログラフ共同利用実験

- 18-701 可視光曝露による細胞応答に関する研究
山本 博之（日本薬科大学薬学部 准教授）
- 18-702 南極の気生緑藻 *Prasiola crispa* の光合成の波長依存特性
小杉 真貴子（中央大学理工学部 助教）
- 18-703 錐体オプシン欠損メダカにおけるスペクトル感受性の検証
深町 昌司（日本女子大学理学部 准教授）
- 18-704 エダアシクラゲの行動を制御する光刺激に関わる光受容タンパク質の同定
立花 和則（東京工業大学生命理工学院 准教授）
- 18-705 ミドリイシ属サンゴ幼生の遊泳における波長応答性の検証
上野 直人（自然科学研究機構基礎生物学研究所 教授）
- 18-706 海洋微生物の光走性の解明
高橋 俊一（自然科学研究機構基礎生物学研究所 准教授）
- 18-707 紫外線単独、ならびに化学物質共存下での突然変異・DNA 損傷誘起・細胞応答に関する研究
有元 佐賀恵（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授）
- 18-708 光照射が及ぼす渦鞭毛藻類へのウイルス感染の影響評価
中山 奈津子（水産研究・教育機構瀬戸内海区水産研究所 主任研究員）
- 18-709 単色光照明による反射分光スペクトル画像を利用したホールマウント色素濃度計測系の開発
爲重 才覚（横浜市立大学木原生物学研究所 特任助教）

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 日本薬科大学
氏名： 山 本 博 之

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☒ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	可視光曝露による細胞応答に関する研究		
課題番号	18-701		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井 保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

研究成果の概要及び今後の展望	可視領域の波長の曝露により皮膚由来線維芽細胞がトリプシン-2 発現を亢進することを見出している。そこで、可視領域の光線曝露による皮膚線維芽細胞の応答機序について検討した。 正常ヒト由来皮膚線維芽細胞（NHSF 細胞）に発現する光受容体を探索し、一部の光受容体を発現することを見出した。そこで、RNA 干渉法にて光受容体の発現を抑制した NHSF 細胞を用いて線維芽細胞の光応答についてトリプシン-2 の発現変化を検討した。その結果、光受容体の発現を抑制した細胞においても可視光線によりトリプシン-2 発現が亢進されており、トリプシン-2 の発現調節に光受容体は関与していなかった。 つぎに可視光線による細胞内シグナル応答の変化を、光線曝露した細胞中のタンパク質変化を指標にして検討した。細胞から抽出したタンパク質は SDS-PAGE により分離し、変動がみられたタンパク質はペプチドマスフィンガープリンティング法により同定した。その結果、照射された波長によって分子量が変化するタンパク質 A を同定することができた。また、抗タンパク質 A 抗体を用いたウェスタンブロットによっても分子量の変化を確認することができた。これまでの報告から、タンパク質 A はリン酸化や糖付加などの翻訳後修飾されるアミノ酸が複数存在することが知られており、翻訳後修飾による機能調節が調べられている。これらのことから可視領域の波長がタンパク質 A の翻訳後修飾を調節していることが示唆された。今後はタンパク質 A の翻訳後修飾が細胞の機能にどのような変化をもたらすのかについて研究を進めたい。また、特定の波長によって翻訳後修飾が調節されている機序を明らかにしたい。 また、当初は光受容体の活性に不可欠なレチノール代謝に異常がみられる系統のラットから線維芽細胞を単離し、光受容体の応答について検討する予定であったが、単離した線維芽細胞は培養の過程で多核体となり正常な分裂を維持できなかったため照射実験を実施することができなかった。
研究成果発表等の予定	トリプシン-2 発現やタンパク質 A の翻訳後修飾の調節に関わる光線を受容する化合物を決定し、その機能を明らかにして論文投稿を行いたい。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

平成 31 年 4 月 20 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：自然科学研究機構アストロバイオロジーセンター

氏名：小杉 真貴子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☒ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	南極の気生緑藻 <i>Prasiola crispa</i> の光合成の波長依存特性		
課題番号	18-702		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	中央大学 理工学部	教授	小池 裕幸
	秋田県立大学生物生産科学科	准教授	原 光二郎

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	南極の陸上環境は極度の低温、乾燥、強光、紫外線、強風といったストレスに晒される生物にとっての極限環境である。気生緑藻 <i>Prasiola crispa</i> (和名：ナンキョクカワノリ) は南極の露岸域に大きな群落を形成することで知られ、その乾燥耐性、紫外線耐性、強光耐性に着目した生理生態学的研究がなされてきた。本研究では <i>P. crispa</i> が持つ長波長吸収成分について、その発現のメカニズムや生理学的機能を明らかにすることを目指している。長波長成分の発現を誘導する波長依存性を調べるため、320 nm から 750 nm までの 12 波長を用いて培養株に照射を行い、長波長成分の増加量を吸収スペクトルとクロロフィル蛍光測定により分析した。その結果、どの波長においても長波長成分の明確な発現は確認されなかった。LED を用いた照射では特定の波長域で発現が誘導されることが分かっており、大型スペクトログラフによる照射で発現が誘導されなかった原因として、照射時間が十分でない可能性が考えられた。また一方で、アミノ酸シーケンスと LED 照射による発現時の RNA-seq 解析から長波長成分のアミノ酸配列を決定することができた。そこで今後の実験では、ターゲット遺伝子の発現量の波長依存性を RT-PCR で測定することで、より検出感度の高い解析を目指す。
研究成果発表等の予定	
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 30 年 4 月 15 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：日本女子大学
氏名：深町昌司

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☒ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	錐体オプシン欠損メダカにおけるスペクトル感受性の検証		
課題番号	18-703		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	光学解析室 亀井保博 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	日本女子大学	学術研究員	松尾恵
	日本女子大学	学術研究員	内川珠樹
	日本女子大学	学術研究員	原田裕美
	日本女子大学	学士 4 年	佐藤眞優
	日本女子大学	学士 4 年	武江ひとみ
	日本女子大学	学士 4 年	名雲枝里奈

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本年度は主に以下の2点に関する実験を行った。 1. メダカ以外の魚種における赤色光感受性の検証 これまでの共同利用研究によって、メダカを用いた視運動反応試験では、波長 840 nm 程度まで赤色光感受性を検出できた (Homma et al. 2017 BMC Genet; Matsuo et al. 2018 Biol Open)。同じ実験系が他魚種にも適用できるか、ゼブラフィッシュ・グッピー・金魚・シクリッド・トゲウオを用いて調べたところ、いずれも可視光下でメダカ同様に視運動反応を示し、同程度の波長まで赤色光感受性がありそうであった。現在動画を解析中であり、データが確定次第、論文にまとめる予定である。 2. メダカにおける紫色光／青色光感受性の検証方法の検討 ゲノム編集により、紫と青の錐体オプシン (SWS1 と SWS2) をノックアウトした系統が得られている (未発表)。視運動反応によりこれらの紫／青色光の感受性を調べようとする、試験装置から蛍光が発せられるなど、光の混入が問題となることがわかったため、墨汁紙やアルミホイルなどの無蛍光素材で装置を覆う、視運動反応が起こる最弱の光強度を測定する、弱光下でも録画できるように赤外線と同時に照射して赤外線カメラを用いるなど、様々な条件検討を行った。だいたい方針は定まったため、来年度は様々な波長でのデータ取りに移行する予定である。
研究成果発表等の予定	上記1に関しては、来年度中に1本の論文にまとめるつもりである。2に関しては、SWS2の方はデータを追加して投稿予定である。SWS1の方は、まだ視運動反応のデータを収集する必要がある、モノクローナル抗体も完成したため組織観察データを追加し、論文に仕上げたいと考えている。
備考	来年度の大型スペクトログラフ共同利用実験に採択されており、引き続き基生研にて実験を継続させていただく予定である。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

2019年6月25日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 東京工業大学生命理工学院
氏名： 立花和則

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☒ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	エダアシクラゲの行動を制御する光刺激に関わる光受容タンパク質の同定		
課題番号	No18-704		
研究期間	30年 4月 1日 ～ 31年 3月31日		
所内対応者	光学解析室 亀井保博 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東京工業大学	博士2年	星尚仁
	東京工業大学	修士1年	国島拓

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究は、エダアシクラゲをモデルとして、サーカディアンリズムや、それをリセットする光刺激などの要因がどのようにクラゲの行動（特に日周鉛直行動）に影響するかを分子レベルで明らかにすることを目的にして始まった。実際にクラゲに光刺激（白色光、緑や赤などの特定波長の光）を与えてみると、クラゲの行動は同じ光刺激によっても行動が誘起される場合と誘起されない場合があり、光刺激の種類によっても誘起される行動に違いのある傾向が見られた。これは、一日のうちでも特定の時間に光刺激に対して感受性のある時期とそうでない時期があることを示唆している。この発見は非常に面白い研究に発展する可能性があるが、クラゲの行動をどのように定量的に記載して評価するかは難しく、現在、その方法を検討しているところである。 今後はクラゲの行動をビデオに撮り、画像解析を行って定量的に記載して評価するシステムを構築する必要がある。また、光刺激の種類や強度によってもクラゲの行動は大きく変化するので、光の波長、強度を変えた刺激を与える実験を行う必要があり、この実験に関しては、今後も貴実験施設のご協力を得られることが重要であると思われる。
研究成果発表等の予定	もう少しデータを取ってから日本動物学会で発表したい。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2018 年 6 月 21 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：基礎生物学研究所・形態形成
氏名：上野 直人

下記のとおり実施しましたので報告します。

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☒ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ミドリイシ属サンゴ幼生の遊泳における波長応答性の検証		
課題番号	18-705		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	光学解析室 亀井保博 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所	NIBB リサーチフェロー	酒井 祐輔
	James Cook University	大学院生	KUBA, Alyson
	James Cook University	教授	BAIRD, Andrew

研究成果の概要及び今後の展望	ウスエダミドリイシ (<i>Acropora tenuis</i>) の幼生は、光強度の減少に対して遊泳を一時停止させる「ステップダウンの光驚動反応」を示すことが申請者による研究によって明らかになっていた。今回の大型スペクトルグラフ共同利用実験によって、このステップダウンの光驚動反応の詳細な作用スペクトルを取得することができた。それによると、この反応は中心波長約 450 nm の青色光により駆動されていることが明らかとなった。今後は、この光驚動反応をもたらす、光受容体を探索するとともに、サンゴの幼生における青色光を用いた行動様式の変化がサンゴの生態にどのような影響を及ぼすのか明らかにする予定である。
研究成果発表等の予定	日本動物学会第 90 回大阪大会において口頭発表予定 論文執筆中であり、国際誌に発表予定
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（30 年度）

2019 年 4 月 10 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：基礎生物学研究所（環境光生物）

氏名：高橋俊一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☒ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	海洋微生物の光走性の解明		
課題番号	18-706		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	総研大	大学院生	岸本真理子
	総研大	大学院生	谷中綾子

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	前回までの研究で、サンゴの GFP 由来の緑色蛍光が共生する褐虫藻の誘引に働くことが示された。しかし、サンゴは、GFP 以外にも青や赤の蛍光を発する蛍光タンパク質を持っていて、これらの生理的機能に関しては不明である。我々は、それらが、被食者の誘引に働くのではないかという仮説を立てた。この仮説を立証するために、遊泳型の海洋微生物を用い、どの波長の光に対して、正の走光性を示すかを大型スペクトログラフで明らかにすることを目的とした。 実験材料として、サンゴの餌としてしられるコペポダ（動物性プランクトン）を実験飼育の培養装置で飼育した。実験には大量のコペポダが必要で、そのための培養条件を検討した。コペポダの餌となる餌（酵母や緑藻）を定期的に与えることで、大量にコペポダを飼育することに成功した。白、青、緑、赤の LED を用い、簡易的にコペポダの光走性を調べた結果、赤と緑の光に正の走光性を、青い色に負の走光性を示すことが分かった。今後は、さらにコペポダを大量培養して、より細かく走光性を示す波長を特定していく必要がある。
研究成果発表等の予定	未定
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成30年度）

平成31年4月5日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
氏名：有元佐賀恵

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☒ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	紫外線単独、ならびに化学物質共存下での突然変異・DNA 損傷誘起・細胞応答に関する研究		
課題番号	18-707		
研究期間	平成30年 4月 1日 ～ 平成31年 3月 31日		
所内対応者	光学解析室 亀井保博 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	1年	彌久末 晶子
	岡山大学薬学部	学部学生6年	妹尾 詠美
	岡山大学薬学部	学部学生4年	望月 晴菜

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	これまでの研究で、生体内でも検出されている N-ニトロソ化合物が太陽光や UVA により光活性化することを見出したので、N-ニトロソ化合物の光活性化による DNA 障害を解析し、核酸との光反応による付加体形成やヒト由来皮膚培養細胞への遺伝子損傷、光変異原性の波長特性を調べることを目的に研究を行った。 その結果、N-ニトロソプロリン(NPRO)は UVA により活性化し、活性化体は光 OFF ののち 24 時間以上室温で活性を保ち、pH5-8 で安定と分かった。さらに NPRO とデオキシアデノシン(dA)との UVA 反応の結果、dA の 2 位及び 8 位にピロリジル基の付加した付加体（それぞれ P1,P2 および A1,A2）を生成することがわかった。しかし、生成量の波長依存性は 8 位付加体(A1,A2)は NPRO の光吸収曲線に沿っていたが、2 位付加体(P1,P2)の生成曲線は沿わなかったので、反応メカニズムが異なると考えられる。さらに、NPRO の脱炭酸した N-ニトロソピロリジン(NPYR)存在下、UVA 照射したヒト由来皮膚角化細胞株(HaCaT)に小核誘発が起こること、小核誘発率は NPYR の光吸収曲線に沿うことを見出した。また、構造類似の N-ニトロソモルホリン(NMOR)も UVA で光活性化すること、活性化体は室温で 10 日以上安定に活性を保つこと、変異原活性は NMOR の光吸収曲線に沿うことを見出した。 光活性化体が安定とわかったので、皮膚で生成した活性化体が全身循環して遺伝毒性を発揮すると考えられるので、今後、その光毒性メカニズムと反応性をさらに追求する。
研究成果発表等の予定	発表論文 1) Shuhei Aoyama, Chiharu Asahi, Kayoko Sano, Sachiko Kimura, Toshinori Suzuki, Tsutomu Hatano, Sakae Arimoto-Kobayashi (2019) Isolation and identification of photoproducts from UVA-irradiated mixture of N-nitrosoproline with 2'-deoxyadenosine, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 377, 159-166. https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2019.03.016 2) Mariko Takai, Yoichi Kawasaki, Sakae Arimoto, Yusuke Tanimoto, Yoshihisa Kitamura and Toshiaki Sendo (2018) UV-irradiated 2-methyl-4'-(methylthio)-2-morpholinopropiophenone-containing injection solution produced frameshift mutations in the Ames mutagenicity assay, Environmental Science and Pollution Research, 25, (10), pp 10135-10140. https://doi.org/10.1007/s11356-018-1539-8
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 5 月 29 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立研究開発法人 水産研究・教育機構
瀬戸内海区水産研究所

氏名：中山奈津子

下記のとおり実施しましたので報告します。

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☒ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	光照射が及ぼす渦鞭毛藻類へのウイルス感染の影響評価		
課題番号	18-708		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	国立研究開発法人 水産研究・教育機構 瀬戸内海区水産研究所	主任研究員	紫加田知幸

研究成果の概要及び今後の展望	〔目的〕有害渦鞭毛藻類の大増殖による赤潮は、毎年西日本を中心に発生し、養殖魚介類に甚大な被害を与えている。近年、赤潮の終息には、ウイルスが関与していることや、有害渦鞭毛藻類は日周鉛直移動を行い、昼間は比較的表層に定位することが見いだされてきている。また、ウイルスの中には、UV照射や抗生物質処理により細胞崩壊が誘発されるものがあるため、昼間プランクトンが表層に集積し、UV照射によってウイルス感染が誘発され、赤潮の終息に関与するとの仮説を立てた。本共同利用研究では、いくつかの有害藻類とウイルスを用いて、それらの感染と死滅を誘導する作用スペクトルを取得し、実環境中でウイルス感染が赤潮の終息に与える影響について知見を蓄積することを目的とした。 〔方法〕対象生物は、有害渦鞭毛藻類 <i>Karenia mikimotoi</i>（以下、カレニア）とそのウイルス KmV (KmDNAV5) とし、大型スペクトログラフを光源とする単色光を対象生物に鉛直上方向から照射し、カレニアの細胞密度とウイルス密度を測定することにより、死滅への影響を評価した。今年度は、特に、光照射時間を変えて、実験を行った。今回の試験条件は、以下のとおりである。強度・波長：強度は $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とし、波長は UV～可視域 (280～680 nm)、照射時間：一回の照射時間を 1 時間とした。藻類の細胞密度は直接計数、ウイルス密度は MPN 法により算出した。両者の密度変化より、光照射が与えるウイルス感染による藻類死滅への影響を評価した。 〔成果〕カレニアにウイルス KmDNAV5 を接種する区（試験区）および接種しない区（対照区 1）を各 3 区用意し、280～680nm の波長の光を 1 日 1 時間照射した。予備実験の結果をもとに、試験培養容器は 24 穴倍用プレート、カレニア培養液は 800 μL、ウイルス溶液は 100 μL と決定した。本試験では、波長を 320, 360, 440, 600, 通常光のみ、とし、試験を開始したところ、2 日目（1 回照射後）から KmDNAV5 を接種した 320nm 照射区において、顕著にカレニアの細胞密度の減少が認められた。ウイルス非接種区では、ほとんど減少しなかった。 〔考察及び展望〕320nm 照射区において、カレニア細胞が激減したため、ウイルス感染の影響を現在解析中である。今後は、光強度や照射時間を自然状態に近い条件で実施すること、試験時の容量を増やすことを検討中である。得られた結果よりウイルス感染への UV の影響についてさらに評価する。
研究成果発表等の予定	なし
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：横浜市立大学 木原生物学研究所
氏名： 爲重才覚

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☒ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	単色光照明による反射分光スペクトル画像を利用したホールマウント色素濃度計測系の開発		
課題番号	18-709		
研究期間	2018 年 9 月 19 日 ～ 2019 年 3 月 29 日		
所内対応者	光学解析室 亀井保博 特任准教授		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	横浜市立大学	学部 4 年	加藤秀梧

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	野外のコムギ栽培環境において、コムギを RGB カメラで撮影しその RGB 値をもとに、窒素肥料の多寡を評価する指標である葉色の濃淡を評価した。 異なる照明条件で撮影された同じ被写体の画像上での RGB 値は異なるため、複数枚の写真にまたがる被写体の色の比較は問題がある。そこで本研究では、共通の色見本を視野内に置いて撮影し、この色見本の領域の RGB 値が揃うように補正することで、同じ被写体の画像上での RGB 値が近い値になるよう補正法を検討した。その結果一定の天候条件の範囲内であれば、異なる天候条件で撮影された場合にも同じ被写体では非常に近い RGB 値へと補正することができた。 今後さらに補正法の精度向上を目指しながら、撮影時の照明方法を改良して、正確かつ多面的に野外生育植物の画像から葉色を評価する手法の開発を行う。
研究成果発表等の予定	具体的な予定は現在無く、適宜学会等で発表を行う。
備考	なし

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

トレーニングコース実習室

- 18-801 イベリアトゲイモリを用いた生命科学研究のためのトレーニングコース
亀井 保博（自然科学研究機構基礎生物学研究所 特任准教授）

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2018 年 9 月 3 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：自然科学研究機構基礎生物学研究所
生物機能解析センター光学解析室

氏名： 亀井保博

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☒ トレーニングコース実施 ☐ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	イベリアトゲイモリを用いた生命科学研究のためのトレーニングコース		
課題番号	18-801		
研究期間	2018 年 8 月 27 日 ～ 2018 年 8 月 31 日		
所内対応者	亀井保博		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	基礎生物学研究所・光学解析室	特任准教授	亀井 保博
	基礎生物学研究所・新規モデル生物開発センター	特任准教授	鈴木 賢一
	鳥取大学・医学部	准教授	林 利憲
	以上はオーガナイザー 他講師等は別紙		

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	トレーニングコースの概要 <u>期間・場所</u>： 2018 年 8 月 27 日（月）～31 日（金）・基礎生物学研究所地下バイトレ実験室を中心に、顕微鏡室で実施した。また、30・31 日に OCC で開催された再生関連研究会（共同利用研究会）の最新研究発表聴講を講義の一端とした。 <u>参加者</u> 講師・内部講師 5 名、外部講師 4 名（実習/講義）、TA4 名（外部 2 名）、所内支援員等 6 名、受講者 8 名（国内 6 名、海外 2 名）（教員 3 名、大学院生 4、学部学生 1 名）、全参加者 27 名であった。 <u>共催</u>：IBBP、新規モデル生物開発センター、ABiS、鳥取大学医学部、iNewt（コンソーシアム） <u>実施目的</u>： 高い器官再生能力を持つイベリアトゲイモリは、飼育が用意であり性成熟が 1 年以内というモデル実験動物としての優れた利点を有している。遺伝子情報に関しても、鳥取大学が進めていたが、生物機能解析センターの協力によりデータベース化も完了（近日オープン）の予定となっている。トランスジェニック技術、KO 技術も確立されて、モデル動物レベルとして十分に活用できる体制となった。そこで、今後は研究者コミュニティを確立し、有尾両生類モデルとしてイベリアトゲイモリを生命科学の発展に貢献できるようにするために、今回トレーニングコースを通じて、現在の研究技術を普及させるとともに、新規ユーザーに飼育・繁殖法を伝えて実際に研究に使ってもらう契機とする。同時に、新規モデル生物開発センター、IBBP センター、ABiS などの基生研における有機的な研究支援・連携体制があることを知って頂くこと目的とした。
研究成果発表等の予定	
備考	講義ならびに実習内容、総括は別紙

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

別紙 1

〈講師ならびに実習補助者〉

亀井 保博	基礎生物学研究所・光学解析室	特任准教授
鈴木 賢一	基礎生物学研究所・新規モデル生物開発センター	特任准教授
林 利憲	鳥取大学・医学部	准教授
井上 武	学習院大学・理学部	助教
川住 愛子	理化学研究所・生命機能科学研究センター	研究員
鈴木 美有紀	広島大学大学院・理学研究科	DC2
客野 瑞月	鳥取大学大学院・医学系研究科	M2
阿形 清和	学習院大学・理学部	教授
上野 直人	基礎生物学研究所	教授
野中 茂紀	基礎生物学研究所	准教授
谷口 篤史	基礎生物学研究所	研究員
重信 秀治	基礎生物学研究所	特任准教授
坂本 丞	基礎生物学研究所	研究員

〈担当内容〉〈講義ならびに実習内容〉

実習内容は以下の通り。(担当講師/実習担当者名)

- ・動物実験講習 (亀井保博、林利憲)
- ・飼育法/世話の解説と実習 (林利憲、鈴木賢一、客野瑞月)
- ・インフォマティクス解析 (重信秀治)
- ・排卵誘発/人工授精法 (林利憲、鈴木賢一、客野瑞月、鈴木美有紀)
- ・マイクロインジェクション法 (林利憲、鈴木賢一)
- ・CRISPR-Cas9 によるゲノム編集 (鈴木賢一、鈴木美有紀)
- ・再生手術デモンストレーション (川住愛子、井上武、林利憲)
- ・局所遺伝子発現法 (亀井保博、坂本丞、川住愛子、林利憲)
- ・ライトシート顕微鏡法 (谷口篤史、野中茂紀)
- ・ナイトセミナー1 (阿形清和)
- ・ナイトセミナー2 (成瀬清)
- ・先端研究発表聴講：再生異分野融合研究会 (別件研究会報告書参照)

〈総括〉

今回初めてイベリアトゲイモリだけの実習コース (5 日間) を開催した。タイミングとして、同生物種の遺伝子データベース (BLAST 検索なども可能)、コミュニティポータルサイト (iNewt) のオープン時期でもあったため、イベリアトゲイモリを普及させる良い契機となると思われる。トレーニングコースは日本語で実施予定であったが、海外からの受講希望があり、最終的に受講者 8 名中 2 名が外国人 (日本語を解さない) となった。そこで、テキストや講演スライドはできる限り英語で作成したが、講演自体は日本語と多少の英語を交えての実施とした。受講生に留学経験者が居たため同時通訳をして頂けたので、外国人受講生の感想としては、特に問題なかったとのことであった。それ以上にコース内容が新しく、刺激的であったとのことである。日本人学部生・院生にとって、新しい知識や技術の話がすべて英語では理解が進まない部分があるが、今回は 2 か国語を交えて実施したため、その点は回避できたようであった。外国人を含むこと自体は実習生にも好評で、多少なりとも英語でのコミュニケーションの経験となったようである。

講習・実習内容も飼育方法や基礎的な実験手技、そして、最新知見を取り入れた技術もありおおむね好評であった。

生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究

- 18-901 魚類遺伝資源の保存：保存対象の質の評価と凍結保存技術の向上
藤本 貴史（北海道大学大学院水産科学研究院 准教授）
- 18-902 木本植物の超低温保存と越冬機構に関する基礎研究
荒川 圭太（北海道大学大学院農学研究院 准教授）
- 18-903 ラット未受精卵および初期胚における凍結保存法の開発
金子 武人（岩手大学理工学部 准教授）
- 18-904 急速融解による新規ガラス化保存法の開発
関 信輔（秋田大学バイオサイエンス教育・研究サポートセンター 助教）
- 18-905 ガラス化法を用いた植物遺伝資源の効率的超低温保存技術の開発と応用研究
田中 大介（農業・食品産業技術総合研究機構遺伝資源センター 研究員）
- 18-906 アーバスキュラー菌根菌分離株の低温保存技術の開発
大友 量（農業・食品産業技術総合研究機構中央農業研究センター 上級研究員）
- 18-907 真骨魚類に近い形質を示す条鰭類、スポットドガーの遺伝的多様性の保存
神田 真司（東京大学大学院理学系研究科 准教授）
- 18-908 近交系マウス未成熟卵を用いた効率的ガラス化法の確立
伊藤 潤哉（麻布大学獣医学部 准教授）
- 18-909 コケ植物フタバネゼニゴケ、コマチゴケ、ツノゴケの長期保存法の確立
榊原 恵子（立教大学理学部 准教授）
- 18-910 保存困難生物の凍結保存に向けた、ガラス状態安定化作用を持つ新規疎水化両性電解質高分子の開発
松村 和明（北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科 准教授）
- 18-911 サトイモの茎頂凍結保存法の確立と世界中から収穫した2000系統の維持
本橋 令子（静岡大学学術院農学領域 教授）
- 18-912 光周性、概日リズム、代謝研究等に有用なハムスターの生殖細胞の凍結保存法の確立
早坂 直人（名古屋大学環境医学研究所 特任准教授）

- 18-913 過冷却状態下変動磁場作用による魚類の卵子および胚の新しい保存法の開発
内藤 宗和（愛知医科大学医学部 教授）
- 18-914 非モデル昆虫における汎用性の高い新規凍結保存技術の開発
新美 輝幸（自然科学研究機構基礎生物学研究所 教授）
- 18-915 希少霊長類遺伝資源の保存方法の確立
今井 啓雄（京都大学霊長類研究所 教授）
- 18-916 除殻卵胚子を用いたカイコの新規保存方法の開発
伴野 豊（九州大学大学院農学研究院 准教授）
- 18-918 哺乳動物体細胞の凍結乾燥保存技術の実用化に関する研究
松川 和嗣（高知大学教育研究部 准教授）
- 18-919 魚類卵子/卵巣の凍結保存—高浸透圧傷害メカニズムの解明から応用へ—
枝重 圭祐（高知大学教育研究部 教授）

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 11 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：北海道大学大学院水産科学研究院
氏名：藤本 貴史

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	魚類遺伝資源の保存：保存対象の質の評価と凍結保存技術の向上		
課題番号	18-901		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	筑波大学 下田臨海実験センター	教授	稲葉 一男
	筑波大学 下田臨海実験センター	助教	柴 小菊
	北海道大学大学院農学研究院	講師	実山 豊
	北海道大学大学院水産科学院	大学院生	佐々木 一聡
	北海道大学大学院水産科学院	大学院生	小亀 友也

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	1. 精子を対象とした凍結保存法の開発 1-1) サケ科魚類とコイ科魚類の精子凍結保存の検討：両性電解質高分子の凍結保存液における耐凍剤としての効果を検証した。しかしながら、両性電解質高分子を 10% 添加した凍結保存液で希釈した精液では、精子の凝集が観察されるとともに精子の運動が阻害された。また、サケ科魚類で用いられるグルコースとメタノールを用いた凍結保存液のキンギョへの応用では、検討した全ての濃度比において有効な凍結保存効果は見られなかった。 1-2) 精子の凍結保存耐性に関する要因“精子の質”の検討：サケ科魚類精子の超薄切片による膜の微細構造とフリーズレプリカ法を用いて、精子の形態より精子の質の評価法を検討した。しかしながら、精子の超薄切片では完全な細胞膜構造の観察像が得られず、固定における緩衝液の浸透圧を調整する必要性が明らかとなった。フリーズレプリカ法では切断条件を明らかとし、膜内在タンパク質の観察に成功した。今後は凍結保存成績と関連したサンプルを用いて、膜構造と凍結後の運動率との関係を調査する。 2. 精子以外の生殖細胞を対象とした凍結保存法：本研究では凍結保存対象となる生殖細胞を始原生殖細胞として、DMSO, エチレングリコール, プロピレングリコールを混合した数種の新規ガラス化凍結保存液と市販のガラス化保存液を用い、ゼブラフィッシュの各発生段階の胚のガラス化凍結保存を試みた。ガラス化凍結保存液の細胞毒性と凍結保存の評価は、処理後の胚細胞の生存率により行った。その結果、発生初期では細胞毒性が強く胚細胞の生残率が低下した。発生の進行とともに細胞毒性は低下し凍結保存能は向上した。今後は細胞移植による始原生殖細胞の分化能、配偶子形成能について検討する必要がある。
研究成果発表等の予定	サケ科魚類の精子凍結保存については、Cryopreservation Conference や日本水産学会で発表したこれまでの成果は学術論文として投稿予定である。また、平成 30 年度に実施した胚細胞の保存に関する研究成果は、Cryopreservation Conference などの学術研究集会において成果発表を予定している。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 18 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：北海道大学大学院農学研究院
氏名：荒川圭太

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	木本植物の超低温保存と越冬機構に関する基礎研究		
課題番号	18-902		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	北海道大学大学院農学研究院	講師	実山 豊
	森林総研林木育種センター	研究員	遠藤 圭太
	農業・食品産業技術総合研究機構・遺伝資源センター	研究員	田中 大介
	北海道大学大学院農学院	修士 2 年	堀内 玲子

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	本研究では、木本植物の遺伝資源の保存を試みることを主題とし、それと並行して果樹などの耐寒性に関する基礎研究なども行うこととした。 遺伝資源の保存では、材料に交雑ポプラの野生株と形質転換株から切除した茎頂を用い、ガラス化法による超低温保存を試みた。試行錯誤の結果、液体窒素中で保存した茎頂を取り出し、脱ガラス化して再度培養を始めると、生存率は80%近くにまで達した。しかし、そのまま継続して茎頂を培養しても個体への再生率は最大で20%程度にとどまった。あいにく、このように個体再生率が低かった理由はまだわかっていない。さらに、ガラス化条件などをいくつか変更するなどして個体再生率の向上を目指したが、結果は改善しなかった。そこで、液体窒素下での超低温保存後の茎頂の再培養条件について検討したところ、培地へのホルモンなどの添加物の利用によって個体再生率が60%程度にまで向上することを見出した。 現在は、ブドウやチャノキなどの耐寒性に関する基礎研究を開始し、凍結抵抗性の季節変動などの基礎的なデータを集めている段階である。例えば、札幌近郊で栽培されているブドウでは、冬季の耐寒性はカラマツやシラカンバのような樹木と異なり、-40°C以下の厳しい凍結温度での低温処理には耐えられない。そのため、ブドウの耐寒性がこれらの樹木ほど高くない理由やその凍結挙動についての知見はとても興味深い。また、ブドウよりもさらに耐寒性に劣るチャノキについては霜害や凍害による傷害発生機構に関する基礎研究も必要であり、それを継続していく予定である。
研究成果発表等の予定	得られた成果は論文投稿や学会発表によって公開していく予定であるが、海外学術雑誌への投稿にはまだ至っていない。 少なくとも、交雑ポプラの超低温保存方法の確立に関する結果は論文投稿の準備を進める予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 3 月 25 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：岩手大学理工学部

氏名：金子 武人

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ラット未受精卵および初期胚における凍結保存法の開発		
課題番号	18-903		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本研究では、ラット未受精卵および前核期胚の凍結保存後の産子発生率を向上させる新規ガラス化保存法の開発を行うことを目的とした。本年度は、ラット胚の各発生ステージにおけるガラス化保存に対する耐凍性について評価し、その特性について解析した。また、発育時期の異なる前核期胚における耐凍性の評価についても同時に行った。 実験には、ラット前核期胚、2細胞期胚および桑実胚を用いた。それぞれの胚を凍結保存し、一定期間液体窒素で保存した後、融解した。融解後に生存した胚は、体外培養および胚移植を行うことで胚の発生能について評価した。本実験において、ラット胚の耐凍性は発生ステージにより異なり、発生ステージの進行に比例して向上することが示された。また、前核期胚においても初期の発育ステージにある胚よりも後期の発育ステージにある胚の方は耐凍性が向上することが明らかとなった。本年度の研究結果から、ラット前核期胚の凍結保存は、発育ステージの進行した胚で凍結保存することで効率が向上することが示された。これらの結果は、新規ガラス化保存液の開発に極めて有効な情報であり、方法の確立に向けて来年度以降も研究を継続させていく。
研究成果発表等の予定	<u>学術論文</u> Hiroaki Taketsuru, Takehito Kaneko. Tolerance to vitrification of rat embryos at various developmental stages. Cryobiology 84, 1-3, 2018. <u>学会発表</u> 竹鶴 裕亮、金子 武人 ラット前核期胚の発達時期がガラス化保存後の発生に及ぼす影響 第 111 回日本繁殖生物学会大会 平成 30 年 9 月 12 日～16 日 長野 金子武人 ラット胚の凍結保存法の開発と応用 Cryopreservation Conference 2018 平成 30 年 10 月 25 日～26 日 愛知 竹鶴 裕亮、金子 武人 ラット前核期胚の発達時期がガラス化保存後の発生に及ぼす影響 Cryopreservation Conference 2018 平成 30 年 10 月 25 日～26 日 愛知

備考	
----	--

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 3 月 31 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：秋田大学バイオサイエンス

教育・研究サポートセンター

氏名：関 信輔

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	急速融解による新規ガラス化保存法の開発		
課題番号	18-904		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	秋田大学バイオサイエンス教育・研究サポートセンター	技術職員	福田 康義
	自然科学研究機構基礎生物学研究所	特任助教	竹鶴 裕亮
	秋田大学バイオサイエンス教育・研究サポートセンター	准教授	西島 和俊

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	研究目的 細胞を凍結保存するには、細胞を脱水するとともに耐凍剤を透過させることで、凍結融解時に細胞内に氷晶を形成させないことが重要である。我々は、ガラス化法による超低温保存において、冷却が急速ではなくても、ガラス化溶液の耐凍剤濃度が高くななくても、融解さえ急速であればガラス化保存後の生存性が高いことを報告している。融解さえ急速であれば、クライオトップのような高価な消耗品を用いる必要もなく、超急速ガラス化法を実施することが可能であるというアイデアをもとに新規ガラス化保存方法を開発している。本研究では、急速融解に着目し、哺乳類 1 細胞期胚をクライオチューブでガラス化保存することで、微細な装置を用いた超急速ガラス化法と同等の生存性を示すガラス化保存法の開発が可能かどうかを検証する。 研究計画・経過 (マウス 1 細胞期胚の簡易ガラス化保存法の開発) 融解に着目することで、クライオチューブを用いたマウス 1 細胞期胚の簡易ガラス化保存法の開発を目指して実験を実施した。40, 30, 20, 10% (volume/volume) エチレングリコールを含むガラス化溶液 (EFS40, EFS30, EFS20, EFS10) にマウス胚を浸し、胚を含むガラス化溶液 5 μl をクライオチューブに移し、液体窒素に直接浸すことでガラス化保存を行った。そして、25℃あるいは 37℃のスクロース液 1 ml を添加することで融解をおこなった。EFS40 あるいは EFS30 においては、37℃のスクロース液を用いた急速な融解においても、高い生存率は得られなかった。ガラス化溶液が高濃度の耐凍剤液を含むため、胚は耐凍剤毒性による傷害を受けたものと思われる。しかしながら、EFS20 あるいは EFS10 においては、急速な融解により、無処理のコントロール胚と同等の生存率・発生率を示した。さらに、胚移植により、個体まで発生することも確認した。 クライオチューブを用いても、マウス 1 細胞期胚の簡便なガラス化保存法の開発に成功しており、10-20%の低濃度耐凍剤を含む溶液でも凍結可能であることを示した (Seki et al. 2018)。急速な融解により、融解時の細胞内氷晶形成を避けることで、クライオチューブを用いても容易にマウス 1 細胞期胚をガラス化保存することが可能であり、本研究のコンセプトに間違いがないことを確認した。 (ラット・ウサギ 1 細胞期胚のガラス化保存法の開発) ラット・ウサギ 1 細胞期胚についても、同様の戦略でクライオチューブを用いたガラス化保存法を開発している。クライオトップを用いたラット・ウサギ 1 細胞期胚のガラス化保存法は報告されているが、本研究では急速融解に着目し、クライオチューブを用いたガラス化保存法の開発を実施している。すなわち、ラット・ウサギ 1 細胞期を含む微量の培養液 (5 μl) をクライオチューブに移し、低濃度のガラス化溶液 (5 μl) を添加したのちに、液体窒素に直接浸すことで超低温保存し、融解は 37℃あるいは 50℃のスクロース液 1 ml を添加することで急速におこなっている。融解後、体外培養により胚が発生するかどうか、胚移植後に正常な産仔へと発生するかどうかを確認したところ、37℃のスクロース液 1 ml 添加では胚の発生は停止したが、50℃のスクロース液 1 ml 添加により、胚の発生がすすむことが確認された。今後は、実験を繰り返し、実験結果が安定して得られるかどうかを検証する予定である。 研究成果発表 原著論文 1) Seki S. (Correspondence author) , Basaki K, Komatsu Y, Fukuda Y.
----------------	---

	Yano M, Matsuo Y, Obata T, Matsuda Y, <u>Nishijima K</u>, (2018) Vitrification of one-cell mouse embryos in cryotubes, Cryobiology, 81, 132-137. 学会発表 1) <u>関 信輔</u>, 場崎恵太, 小松幸恵, <u>福田康義</u>, 矢野愛美, 松尾悠平, 小畑孝弘, 松田幸久, <u>西島和俊</u> (2018), 急速融解によるマウス1細胞期胚のガラス化保存, 2018年5月16日, 第65回 日本実験動物学会総会, 富山市, 口頭発表. 2) <u>関 信輔</u>, 場崎恵太, <u>福田康義</u>, 矢野愛美, 小畑孝弘, 東谷美沙子, 松田幸久, <u>西島和俊</u> (2018), 急速融解による低濃度耐凍剤液を用いたマウス胚のガラス化保存, 2018年6月10日, 第63回 低温生物工学会年会, 埼玉市, 口頭発表. 3) <u>関 信輔</u>, 場崎恵太, <u>福田康義</u>, 矢野愛美, 小畑孝弘, 東谷美沙子, 松田幸久, <u>西島和俊</u> (2018), クライオチューブを用いた低濃度耐凍剤液でのマウス1細胞期胚のガラス化保存, 2018年10月26日, Cryopreservation Conference 2018, 東岡崎市, 口頭発表.
研究成果発表等の予定	口頭発表予定 Cryo-2019 (Society for Cryobiology, annual meeting 国際低温生物学会)
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 4 月 10 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：農業・食品産業技術総合研究機構
遺伝資源センター

氏名：田中 大介

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ガラス化法を用いた植物遺伝資源の効率的超低温保存技術の開発と応用研究		
課題番号	18-905		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	自然科学研究機構基礎生物学研究所	助教	石川 雅樹
	東北大学農学部	教授	齋藤 雅典
	農業・食品産業技術総合研究機構遺伝資源センター	研究員	埋橋 志穂美
	三重大学大学院生物資源学研究科	准教授	中島 千晴
	岩手大学農学部	准教授	河村 幸男
	自然科学研究機構基礎生物学研究所	教授	長谷部 光泰
	自然科学研究機構基礎生物学研究所	特任専門員	加藤 愛

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	V クライオプレート法を用いて、沖縄（亜熱帯地域）で栽培されるラッキョウ（アリウム属）の超低温保存法を開発した。本実験では培養体を用いて検討したが、再生率 100%の生存が確認され、さらに再生育は保存処理をしていない無処理区と比較して同等であった。アリウム属は世界的に主要な野菜として生産される作物である。今後、本研究成果を基盤にして様々な組織や機関が植物遺伝資源の保存に利用するものと考えられる。 自然界に生息するコケ類の超低温槽保存について検討した。条件検討を行い、生息域外保存のための培養条件・処理、および長期保存できる条件が明らかになりつつある。本研究成果から、多様性を保存できる可能性が示唆された。今後、生物遺伝資源保存の汎用性を検討する。
研究成果発表等の予定	<u>Tanaka D.</u>, Sakuma Y., Yamamoto S., Matsumoto T., Niino T. Development of the V cryo-plate method for cryopreservation of in vitro rakkyo (<i>Allium Chinese</i> G. Don). Acta Horticulturae, 1234, 287-291 <u>Tanaka D.</u>, Niino T., Fujikawa S., Uemura M. Freeze-substitution transmission electron microscopy of gentian shoot tips cryopreserved at ultra low temperatures. Plant Biotechnology 35(4) 335-340 Togawa T., Adachi T., Harada D., Mitani T., <u>Tanaka D.</u>, Ishizaki, K., Kohchi T., Yamato T.K. Cryopreservation of Marchantia polymorpha spermatozoa. Journal of Plant Research 131, 1047-1054 <u>Tanaka D.</u>, Niino T., Uemura M. Cryopreservation of Plant Genetic Resources. Springer, 1081, 355-369
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 9 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：農業・食品産業技術総合研究機構
中央農業研究センター

氏名：大友 量

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	アーバスキュラー菌根菌分離株の低温保存技術の開発		
課題番号	18-906		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	酪農学園大学農食環境学群循環農学類	准教授	小八重 善裕

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	【研究成果の概要】 (1) AM 菌増殖株を低温保存する前の土壌調製（篩がけ等）がその低温保存性に与える影響を検討した。AM 菌 <i>Claroideoglossum etunicatum</i> 株をバヒアグラスに接種し、4 ヶ月間 50mL ポットで栽培・増殖した。1 ヶ月間水やりを停止して枯死した地上部を取り除き、土壌（増殖した AM 菌を含む）をポットのまま、あるいは 2 mm の篩を通して冷凍保存した。3 ヶ月後、ミヤコグサに接種し、その感染力を評価した。供試した菌株は保存前後の篩がけの有無によらず、どの保存温度でも明確な感染ポテンシャルの低下が認められなかった。 (2) 栽培に用いる土の量を減らし、ハイスルーポットに各種 AM 菌増幅や各種分析が行え、将来的な超低温保存、配布等に適した栽培系の構築を行った。土としてアタパルジャイト（粘土鉱物の一種）にクミアイ園芸培土粉末を混合したものを用い、12mL チューブでミヤコグサ等の各種植物を栽培した。植物は良好かつ均一に成長し、栽培から 2 週間以内に AM 菌に感染し良好な共生状態を築いた。 【今後の展望】 今回用いた菌株 (<i>C. etunicatum</i>) は例外的に低温保存性が高い可能性を検討するため、まず複数の菌株を使って低温保存が感染力に与える影響を検討する。感染力の低下が認められた菌株に対し、開発したスモールスケール栽培系を用いて、保存性を高める条件を検討する。現在は宿主植物としてミヤコグサを主に用いているが、より感染の程度が高く、扱いやすく、保存性の良い宿主についても検討する。さらに冷却、常温への復帰が保存性に与える影響についても検討を行う。
研究成果発表等の予定	Cryopreservation Conference における発表、論文発表を行う予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 3 月 21 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京大学大気海洋研究所

海洋生命科学部門 生理学分野

氏名：神田 真司

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	真骨魚類に近い形質を示す条鰭類、スポットドガーの遺伝的多様性の保存		
課題番号	18-907		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	東京大学大気海洋研究所海洋生命科学部門生理学分野	特任研究員	藤森 千加
	北海道大学 水産科学研究院	准教授	井尻 成保

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本年度は、オスのスポッテッドガーを成熟させ、解剖後、精巣を同定することができた。この精巣を懸濁し、蒸留水を滴下することで運動開始を観察することができた。ただし、秋に行ったこの実験の個体では、興味深いことに、1 個体では運動開始が見られたものの、もう 1 個体では見られなかった。スポッテッドガーは、北米原産であり、2 月から 6 月にかけて産卵を行うことが知られている。そのため、低温短日条件に暴露することにより、より成熟が進むことが期待される。低温短日条件への暴露処理を行い、成熟を促し、より状態の良い精子を得る計画を実行中である。スポッテッドガーは最大 50 c m 程度といわれているが、体の成長が極端に遅くなる 30 c m を越えたあたりから、条件によっては繁殖可能になるようであり、実際に申請者が育成し、解剖した 34 c m の個体においては、精子の運動性まで確認できた。今後、30 c m を越えた個体を用いれば運動性のある精子が得られる可能性があることがわかった。 スポッテッドガーの精子に蒸留水を滴下することで運動性を獲得することを明らかにすることができた。したがって、運動性を獲得する前の精巣を凍結保存する試みを今後に行っていく足がかりができたと考えている。運動性を抑えた状態の精子から運動性を獲得するプロセスが実現できたため、今後様々な精子凍結条件を試みることでより最適な凍結保存技術の開発につながることを期待できる。
研究成果発表等の予定	本研究の成果は IBBP センター主催の Cryopreservation Conference 2019 において公表予定である。本研究単体での成果の論文としての公表の予定は現在のところないが、スポッテッドガーを用いた研究全般の論文は近い将来に発表していく予定である。また凍結技術に関しても、もしその他の動物の成果との連携した発表の機会があれば積極的に参画したい。
備考	本研究は、分担者の井尻成保博士（北海道大学）・藤森千加博士（東京大学）、および IBBP 東京大学サテライトの望月由子博士の協力を得て遂行した。

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 3 月 20 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：麻布大学獣医学部

氏名：伊藤 潤哉

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	近交系マウス未成熟卵を用いた効率的ガラス化法の確立		
課題番号	18-908		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	麻布大学大学院獣医学研究科	大学院生	並木 貴文
	麻布大学獣医学部	教授	柏崎 直巳

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	本年度の研究成果には以下が挙げられる。 実験①近交系マウス未成熟卵の効率的な体外成熟培養法の開発 はじめにICRおよびC57BL6マウス未成熟卵をそれぞれ一定時間体外成熟培養後、体外受精を行った。体外受精後、胚発生率を調べた。その結果、新鮮(非ガラス化保存)の未成熟卵を用いた結果では、ICRマウスおよびC57BL6マウスでは一定時間体外成熟培養した卵で体外受精後に最も高い受精率・発生率を示した。このことから、ICRおよびC57BL6マウスそれぞれで至適な体外成熟培養時間が明らかとなった。 実験②近交系マウス未成熟卵を用いた効率的ガラス化法の開発 実験①から得られた知見を用い、ガラス化保存を行った未成熟卵を体外成熟培養に用いた。C57BL6Jマウスから得らえた未成熟卵をCryotopで、エチレングリコールを主な凍害保護物質としてガラス化保存し、加温後体外成熟培養を種々の時間行った。その結果多くの卵が生存しており、極体の放出が認められた。 以上のことからC57BL6マウスの未成熟卵に関して有効なガラス化法が開発できたと考えられる。今後、体外受精を行い、胚発生能の検討や胚移植後の個体への発生能について検討を行う。さらに実験③近交系マウス精子の効率的凍結保存液の開発、および実験④血清成分を用いないガラス化保存液の開発、についても併せて検討を行う。
研究成果発表等の予定	2019 年度中に学会発表を行う予定である。また胚移植試験の結果が揃い次第、学術論文への投稿・発表を行う予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 立教大学 理学部 生命理学科
氏名： 榊原恵子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	コケ植物フタバネゼニゴケ、コマチゴケ、ツノゴケの長期保存法の確立		
課題番号	18-909		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	立教大学 理学部生命理学科	リサーチアシスタント	川井 絢子
	広島大学大学院理学研究科生物科学専攻	准教授	嶋村 正樹
	金沢大学 学際科学実験センター	助教	西山 智明
	名古屋大学 理学系研究科	特任助教	中川 知己
	立教大学 理学部生命理学科	博士研究員	養老 瑛美子
	立教大学大学院 理学部生命理学科	修士1年	無津呂 一輝

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	私たちは陸上植物の多様性をもたらした分子機構解明のために、従来モデルとして用いられてきたコケ植物のタイ類ゼニゴケ <i>Marchantia polyomorpha</i> とセン類ヒメツリガネゴケ <i>Physcomitrella patens</i> 以外のコケ植物であるフタバネゼニゴケ、コマチゴケ、ツノゴケを用いて発生進化研究を実施してきた。これらのコケ植物はいずれも重要なモデルとして概要ゲノムを決定しているが、生きたサンプルの長期保存技術が確立していない。このため、標準株及び遺伝子組換え体の安定的な保存方法として、凍結、低温、常温を含む新規保存技術の開発を試みた。 ゼニゴケの近縁種であるフタバネゼニゴケの長期保存に関してはゼニゴケ同様無性芽が形成されるので、無性芽を用いてゼニゴケの凍結保存法 (Tanaka et al. 2016, Plant Cell Physiol. 57(2):300-306.)、すなわち、ショ糖入りの培地で前培養し、カルシウムアルギン酸ゲルに包埋し、脱水後、液体窒素で凍結させて、-80℃で保存する方法を試みたところ、フタバネゼニゴケの無性芽もこの方法で凍結保存できることがわかった。ツノゴケ類 <i>Anthoceros agrestis</i> の葉状体、およびコマチゴケの茎葉体でも同様の方法で凍結保存を試みたが、成功しなかった。今後、ツノゴケおよび、コマチゴケの長期保存法の確立を目指したい。
研究成果発表等の予定	なし
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 4 月 19 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：北陸先端科学技術大学院大学

先端科学技術研究科

氏名：松村 和明

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	保存困難生物の凍結保存に向けた、ガラス状態安定化作用を持つ新規疎水化両性電解質高分子の開発		
課題番号	18-910		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	農業・食品産業技術総合研究機構遺伝資源センター	研究員	田中 大介
	兵庫県立大学大学院工学研究科	准教授	遊佐 真一
	北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科	博士前期課程	畠山 翔

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	疎水化カルボキシル化ポリリジンや疎水化両性電解質高分子など、新規な合成高分子系凍結保護物質の設計を行い、それぞれの凍結保護活性、氷晶成長抑制効果などの観点から CPA としての化学的構造と性質の関連を調べた。 その結果、PLL に導入するカルボキシル基の疎水性が高いほど氷晶形成が阻害される結果となり、凍結保護効果と相関が見られた。合成の両性電解質高分子に関しても、カチオン部位を 4 級アミン、アニオン部位を硫酸基とした、完全解離型の電解質高分子においてもカルボキシル化ポリリジン（弱酸と弱塩基の電解質ポリマー）と同等の凍結保護効果が得られたため、電解質部位による差は現状見られていない。但し、電荷の分布や分子量など今後変化させることで構造との関連性が見えてくる可能性はあるため、引き続き研究を行う予定としている。 次に、氷晶形成抑制効果ポリリジンに疎水性のカルボキシル基を導入した両性電解質高分子である DMGA-PLL を用い、細胞塊の一種であるスフェロイドのガラス化保存を試みた。その結果、DMGA-PLL の添加により、-150°C というフリーザー温度でのガラス化が可能となり、生存率も 90% を超える結果が得られた。今後は -80°C でのガラス化を目指してさらなる検討を行う予定である。 カルボキシル化ポリリジンを共同研究者らにサンプル提供し、いくつかの生物の凍結保存を試みた。その結果、イネの懸濁培養細胞において、DMSO を用いずの凍結することが可能となった。また、ウシの精子の凍結保存にも成功し、様々な分野での使用に期待出来る結果が得られた。
研究成果発表等の予定	1. 畠山翔、松村和明他、両性電解質高分子を用いたガラス化法による高次細胞構造体の凍結。第 67 回高分子討論会、札幌、2018/9/12-14 2. 畠山翔、松村和明他、細胞構造体の凍結保存を可能にする両性電解質高分子を用いたガラス化液の開発。第 40 回日本バイオマテリアル学会、神戸、2018/11/12-13 3. TERMIS-AP（国際組織工学会アジアパシフィック支部会議）2019 ブリスベン、2019/10/14-17 発表予定
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 4 月 8 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：静岡大学大学院農学領域
氏名：本橋 令子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	サトイモの茎頂凍結保存法の確立と世界中から収穫した 2000 系統の維持		
課題番号	18-911		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	静岡大学大学院農学領域	研究補佐員	岡林 恵美
	進化生物学研究所	研究員	小西 達夫

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	昭和 51 年から中尾、小西らを中心に、東南アジア及び太平洋諸島を中心に 35 か国でサトイモの遺伝資源探索が行われ、約 2000 地点で栽培または野生の状態で生育しているサトイモが農耕・食文化の情報とともに多数収集された。収集されたサトイモは一般財団法人進化生物学研究所に系統維持され、世界的なサトイモの遺伝資源コレクションとなっている（小西、2013）。重要なこれら遺伝資源の保全のために、サトイモ茎頂の凍結保存方法の確立を試みている。 ガラス化法を用いて、サトイモ（土垂品種）のイモから得られた芽より茎頂を単離し凍結保存を試みたが、再生個体は得られなかった。そこで、凍結保存する材料を無菌で栽培した幼苗から単離した茎頂へ変更した結果、再生個体を得ることができたが、再生率は極めて低かった。そのため、凍結処理を行わず、PVS2（ガラス化液）の薬害について調査した結果、生存率は 80～100%を示し、PVS2 の薬害はない事が解った。生存率の高さは単離茎頂のサイズに依存する事が解り、茎頂サイズは 2, 3 枚程度の葉原基を含む 1~2mm 程度のサイズが良い事が解った。次に、アルギン酸ナトリウムビーズに茎頂を包埋し、アルミニウム製クライオプレートにビーズを固着させ、急速冷却、急速昇温により生存率向上を試みた結果、再生個体の割合は 20%程度に向上した。 さらに、アルギン酸ナトリウムビーズ包埋後の風乾時間、供試試料の継代培地におけるショ糖濃度、および PVS2 による処理時間や温度等の諸条件を検討した。その結果、3%ショ糖培地で生育したサトイモ茎頂を用い、PVS2 処理を 0℃2 時間で行った処理区で、8 週間後生存率が 70%以上と高くなることが分かった。この条件下における茎頂の再生育は他の実験条件下に比べ良好であり、4 週間後には 2-3 枚の葉を展開しはじめる個体も見られた。 また、本法を他の品種でも用いた所、1 品種において土垂と同じ生存率を得た。今後、複数の品種において、70%以上の生存率が得られるか検証する予定である。複数系統・品種において高い生存率が得られる方法が確立した場合は、病害抵抗性の高い重要な系統・品種から超低温保存を開始する。
-----------------------	--

研究成果発表 等の予定	CRYOPRESERVATION CONFERENCE 2018 岡林恵美 1, 切岩典子 1, 成瀬清 2,3, 本橋令子 1「サトイモの茎頂超低温保存法の確立」にて発表 CRYOPRESERVATION CONFERENCE 2019 で発表予定 第 37 回日本植物細胞分子生物学会（京都）大会で発表予定
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 4 月 11 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：名古屋大学環境医学研究所
氏名：早坂 直人

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	光周性、概日リズム、代謝研究に有効なハムスターの生殖細胞の凍結保存法の確立		
課題番号	18-912		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	名古屋大学環境医学研究所	助教	小野 大輔

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	外界の明暗環境変化により、動物は様々な応答を示す。特に日長変化により、個体としての生理機能を変化させることで、動物は環境変化に適応している。ハムスターは日長変化に伴い、繁殖能力を劇的に変化させるだけでなく、冬眠をする事が知られている。この光周性と概日時計の関連性は示唆されているものの、どのようなメカニズムで概日時計が光周性を調節しているかは未だ不明である。そこで、本研究では、ハムスターをモデル動物として、概日時計と光周性メカニズムを分子・細胞・ネットワークレベルで明らかにする事を目的とする。 ハムスターを用いた遺伝子改変動物作成を行う為、まずは胚操作の基本的方法を習得した。基生研の成瀬教授のものと竹鶴助教の指導を受け、ラットを用いた胚操作技術の基本を習得した。ラットの受精卵を取り出し、それを卵管に導入する一連の流れを行った。今後は、ハムスターを用いた胚操作を行う為、ラットを用いた胚操作を実際に行う事、ハムスターの飼育を行う環境を整える事、ハムスターを用いた胚操作を行う事を進めていく。さらに遺伝子改変ハムスター作成に向けた Crispr/Cas9 システムの導入を検討し、ノックアウトハムスターやノックインハムスターの作成を行う。
研究成果発表等の予定	現時点では発表の予定はなし。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 1 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：愛知医科大学医学部

氏名：内藤 宗和

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	過冷却状態下変動磁場作用による魚類の卵子および胚の新しい保存法の開発		
課題番号	18-913		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	愛知医科大学医学部	助教	矢倉 富子
	愛知医科大学医学部	助教	福重 香
	愛知医科大学医学部	講師	畑山 直之
	愛知医科大学医学部	助教	横田 紘季
	愛知医科大学医学部	教授(特任)	平井 宗一

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	背景：通常，水は 0℃で液体から固体へ凝固する．しかし，プログラムフリーザーを使用して水温を徐々に下げると，0℃を下回っても液体から固体へ相変化が起こらない過冷却状態が起こる．我々は過去に，0.5mT の変動磁場を印加した過冷却状態では，ショウジョウバエを-2℃で 12 時間，-4℃で 6 時間，-6℃で 1 時間保存した後，それらがコントロール群よりも生き残ることを明らかにした．本研究では，過冷却状態下における変動磁場印加の作用を明らかにするために，ラット心筋細胞を用いた <i>in vitro</i> 試験を行い，変動磁場印加の有無によるミトコンドリア活性の評価を行った． 方法：ラット心臓由来 H9c2 株化細胞を用いて過冷却下変動磁場印加の有無による細胞増殖能変化を評価した．ウシ胎児血清を 10%含む高グルコース型 DMEM 培地を用いた．細胞は 3cm シャーレで培養し，100%confluence となった時点で接着したままプログラムフリーズおよび変動磁場印加を行った．冷却速度を 1℃/min，過冷却維持温度を-6℃に設定し，変動磁場の周波数および磁束密度はそれぞれ 30Hz，0.5mT とした． 結果：control 群に対して変動磁場印加群では，過冷却状態においても死細胞が増加せず，細胞生存率が向上した．control 群と変動磁場印加群において細胞の生存率を定量するために，MTT アッセイを行った．変動磁場印加群は，control 群と比べて細胞生存率が有意に向上した． 考察：本研究では，動物細胞の凍結保存において，過冷却状態下における変動磁場印加の有用性を明らかにした．生体組織の過冷却保存に関する研究に関して，Monzen らは 100Volt および 500Volt の電圧を加えた過冷却状態-4℃で心臓，肝臓および腎臓を保存すると，移植後の臓器の質が向上することを明らかにした．また，Okamoto らは，3000volt の電圧を加えた過冷却状態-2℃で肺を保存すると，再灌流障害が明らかに減少することを報告している．凍結保存における過冷却状態下における変動磁場印加のさらなる応用として、引き続き魚類の卵子および胚の凍結に挑戦していく予定である．
研究成果発表等の予定	現在のところ未定

備考	
----	--

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

2019 年 4 月 19 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：自然科学研究機構基礎生物学研究所
氏名：新美 輝幸

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	非モデル昆虫における汎用性の高い新規凍結保存技術の開発		
課題番号	18-914		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	自然科学研究機構基礎生物学研究所	特任研究員	川口 はるか
	自然科学研究機構基礎生物学研究所	技術職員	水谷 健

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	これまで昆虫の凍結保存法は困難とされてきたが、カイコでは精子や卵巣の凍結保存法が実用化されている。本課題では、カイコでの成功例などを参考に、ナミテントウにおいて生殖巣の凍結保存技術を確立し、非モデル昆虫に応用可能な汎用性の高い凍結保存法の開発を目指す。 昨年度までの本共同利用研究により、幼虫サイズが小さいため、不可能と考えられていたナミテントウ幼虫における卵巣移植法と卵巣凍結保存法の確立に成功し、論文発表した (Kawaguchi, H. and Niimi, T. (2018) A method for cryopreservation of ovaries of the ladybird beetle, <i>Harmonia axyridis</i>. <i>J. Insect Biotechnol. Sericol.</i>, 87, 35-44.)。本研究成果は、NHK や民放の TV ニュース番組、NHK ラジオ、5 社の新聞、海外を含む 13 件の Web ニュースなどで取り上げられ、遺伝資源の凍結保存の重要性を社会に広く発信することができた。 ナミテントウの性染色体は雄が XY、雌が XX であるために、卵巣の凍結保存だけでは雄に由来する Y 染色体の保存が不可能となる。当研究室では、蛍光分子マーカーをもつトランスジーンが Y 染色体に挿入された系統を作出し、胚発生後期から雌雄鑑別が可能な有用な系統を有している。これらのことから、雄の遺伝資源の保存法の確立は重要な課題となっている。今年度は、雄由来の遺伝資源の保存のために、精巣の凍結保存法とその移植法の確立を試みた。ナミテントウの卵巣移植法と凍結保存法を参考に、条件検討を行った。最適であった条件を元に凍結保存した精巣を移植したところ、受精卵および次世代を得ることができ、ナミテントウにおける精巣移植法および精巣凍結保存法の確立に成功した。
研究成果発表等の予定	論文投稿に必要な結果が全て揃った段階で論文の内容を検討し、よりインパクトの高い雑誌に投稿する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 2 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：京都大学霊長類研究所
氏名：今井 啓雄

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	希少霊長類遺伝資源の保存方法の確立		
課題番号	18-915		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	京都大学霊長類研究所	助教	今村 公紀
	広島大学自然科学研究支援開発センター	教授	外丸 祐介
	北海道大学大学院獣医学研究	助教	柳川 洋二郎
	院		
	帯広畜産大学共同獣医学課程	学部学生	黒澤 拓斗
	京都大学霊長類研究所	教授	岡本 宗裕
	京都大学霊長類研究所	修士課程 1 年	井藤 晴香
	京都大学霊長類研究所	修士課程 2 年	岡田 佐和子
	京都大学霊長類研究所	修士課程 2 年	仲井 理沙子

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	ニホンザル等の霊長類の遺伝資源を保存するため、精子、受精卵の凍結方法を検討する（A～D）と共に、培養細胞の作製と凍結保存等（E～G）を実施した。 A. ニホンザルの精液凍結については、ドライアイス上（-80℃）でストローを凍結した場合に運動性が高かったため、長期保存のために液体窒素内に保存するまでの工程を検討した。ドライアイス上で凍結した精液を液体窒素液面上 4cm または 9cm に静置し温度を下げたのち、液体窒素中に投入した。37℃温湯中でストローを融解した後の精子運動性は液面上 4cm のほうが高かったが、液体窒素に投入することで運動性が顕著に低下していた。 B. 凍結精液を人工授精に活用するためにニホンザルの発情同期化を試みた。21 日間合成プロジェステロン剤を雌 20 頭に経口投与したところ投与終了後 4～6 日の 3 日間にすべての個体において月経出血が確認された。 C. ニホンザル受精卵の超低温保存の手段として、8 細胞期で既存の簡易ガラス化法（2M DMSO、1M Acetamide、3M Propylene Glycol）を適用する条件が最善であり、50%程度の生存率が得られることが確認できた。また、短期間の保存を目的として冷蔵保存試験を実施した結果、20%ウシ胎子血清を添加した PBI 液を用いることで、4-6℃で 4 日間の保存後にも高い生存性が得られることが確認できた。 D. 受精卵からの効率的な産子獲得手段として受精卵分離技術の応用に取り組み、昨年度までに二分離した体外受精卵からの健常産子の獲得に成功し、今年度は一卵性双仔の獲得に向けて引き続き移植試験を実施したが、産子を得るには至らなかった。 E. ニホンザルの培養細胞の研究としては、昨年度に安定培養の条件を確立したニホンザル iPS 細胞について各種性状解析を行い、三胚葉分化や神経幹細胞・ニューロンへの選択的な分化誘導を実施した（Nakai et al, 2018）。 F. 所内で発見された自然発症変異ニホンザル個体から皮膚片を採取し、線維芽細胞の初代培養と凍結保存を行った。本変異個体は既に死亡していることから、この初代培養細胞が残存する唯一の生きた試料となる。 G. ニホンザルの精巣試料を用いた精子形成の分子発生生物学解析を行い、精原細胞のサブタイプや分化段階を識別する遺伝子発現プロファイルを明らかにした。
研究成果発表等の予定	上記の研究成果については、第 34 回日本霊長類学会大会、日本進化学会第 20 回大会、The 73rd Annual Conference of the Korean Association of Biological Science、2018 International Conference: Korean Society for Molecular and Cellular Biology、Cryopreservation conference 2018、第 41 回日本分子生物学会年会等にて発表を行った。また、以下の論文を発表した。 Risako Nakai, Mari Ohnuki, Kota Kuroki, Haruka Ito, Hirohisa Hirai, Ryunosuke Kitajima, Toko Fujimoto, Masato Nakagawa, Wolfgang Enard, Masanori Imamura. Derivation of induced pluripotent stem cells in Japanese macaque (<i>Macaca fuscata</i>). <i>Scientific Reports</i> 8(1): 12187, 2018

	ニホンザル iPS 細胞と同時にチンパンジー iPS 細胞に関する研究も進めており、チンパンジー iPS 細胞由来の初期神経発生動態の解析 (Kitajima et al) とナイーブ条件で誘導した初期化細胞の解析 (Lin et al) の論文が投稿準備中である。また、上述のニホンザル精子形成の分子発生生物学解析についても、来年度中の論文投稿に向けて準備を行っていく。さらに凍結精液については論文投稿の準備を行っていく。また発情同期化については日本野生動物医学会で発表を行うと共に投稿論文の準備を進めている。 2019 年度からは A~C に注力し、その他は既存のデータを元に成果発表を中心に進めていく予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 12 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：九州大学 農学研究院
氏名：伴野 豊

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	除殻卵胚子を用いたカイコの新規保存方法の開発		
課題番号	18-916		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	九州大学 農学研究院	学術研究員	福森 寿善

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	カイコ胚子は、卵殻と呼ばれる硬いタンパク質の殻で囲まれており、凍害防止剤や水分を透過しない。そこで、超低温処理を行なう上で障害となる卵殻のみを物理的に除去し、漿液膜のみに包まれた胚子(除殻卵胚子)を用いて超低温処理を試みた。 昆虫胚子のガラス化凍結は 1990 年代にキイロショウジョウバエで成功例が示されている。しかし、その後の報告と実用化は進展していない状況である。まずはキイロショウジョウバエで用いられた方法に準じてカイコの除殻卵胚子に対してガラス化処理を行なった。その結果、完成胚子にかなり近いステージの除殻卵胚子を用いた場合でのみ、孵化幼虫と同様のステージまで発育の進行した胚子が得られた。しかし、その胚子を培地から取り出すと餌である桑を食す前に干からびた状態で死亡した。外見的には完成胚子であるものの内部に異常が見られる可能性があり、ガラス化に用いる溶媒と処理時間の改善が今後の課題と判断している。 また、ガラス化液処理はスムーズに行なう必要があるが、現行のシャーレに回収した除殻卵のスムーズなガラス化液処理は容易ではない。この問題を解決するために、植物のガラス化処理で行なわれているアルミニウムプレートを使用した手法 (V-Cryoplate 法) のカイコ除殻卵胚子への導入を試みた。その結果、V-Cryoplate 法を除殻卵の処理に適するように改良する方法を見出した。 今後は、カイコ除殻卵用に改良した V-Cryoplate 法を用いて各種ガラス化液の胚子への影響を検討する予定である。前述したように、ガラス化処理した胚子は干からびた状態で致死しているので、切片を作製し、障害を受けている部位の特定とその状態の詳細を明らかにすることも計画している。
研究成果発表等の予定	当研究成果を Journal of Insect Biotechnology and Sericology に発表した。 Fukumori, H., Tanaka, D. and Banno, Y. (2018) Application of the V-cryoplate method for the cryopreservation of silkworm embryos. <i>J. Insect Biotechnol. Sericol.</i>, 87, 89-96.
備考	なし

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2018 年度）

2019 年 4 月 22 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：高知大学教育研究部総合科学系生命環境医学部門
氏名：松川 和嗣

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	哺乳動物体細胞の凍結乾燥保存技術の実用化に関する研究		
課題番号	18-918		
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～2019 年 3 月 31 日		
所内対応者	竹鶴 裕亮		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	高知大学教育研究部総合科学系生命環境医学部門	教授	枝重 圭祐
	高知大学大学院総合人間自然科学研究科農学専攻	修士2年	本郷 新
	高知大学農林海洋科学部	学部4年生	井上 陽香

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	【目的】我々は新たな哺乳動物の遺伝資源保存技術を開発するために、凍結乾燥 (Freeze-dry、以下 FD) 技術と核移植 (Nuclear transfer、以下 NT) 技術とを組み合わせた哺乳動物体細胞の保存および個体の生産技術の開発を目指している。これまで、FD 後-30℃で保存した場合のウシ線維芽細胞は、1 年以上保存しても DNA 損傷が少なく核移植後の胚盤胞期胚作出に成功している。しかし、ウシ線維芽細胞を FD 後に常温保存した場合、核移植によって胚盤胞期まで発生しても胚移植後の受胎が認められていない。そこで本研究では、ウシ FD 細胞の常温保存が困難な原因を調査した。さらに、核移植後の前核期卵のヒストン修飾を調査し、核移植胚の受胎に至らない原因を考察した。 【材料と方法】実験 1：100、200、300 mM Tris 溶液、mEGTA (100mM Tris、50 mM EGTA)、300 mM Tris +10mM EGTA、および 300 mM Tris+20mM EGTA をバイアル瓶に入れ、FD 後、カールフィッシャー水分計によって含水率を測定した。実験 2：mEGTA、300 mM Tris+10mM EGTA、および 300 mM Tris+20mM EGTA にウシ線維芽細胞を浮遊させ、FD 直後および 20℃で 1 週間保存した後の DNA 損傷をアルカリコメットアッセイ法によって評価した。また、FD 産物のガラス転移温度を示査走査熱量計によって測定した。実験 3：単為発生胚、雄性発生胚、体外受精胚および FD 体細胞由来核移植胚の前核期胚を供試し、H3K4me3 および H3K27me3 の抗体を用いてヒストン H3 のメチル化状態を調査した。体外培養 14 時間後に 0.2% Triton を含んだパラホルムアルデヒド液で 20 分間固定し、固定後に一次抗体処理および二次抗体処理を行い蛍光顕微鏡により観察した。 【結果】実験 1：FD 産物の含水率は、100、200、300 mM Tris 溶液、mEGTA、300 mM Tris+10mM EGTA、および 300 mM Tris+20mM EGTA でそれぞれ 6%、13%、9%、13%、6%、11%となり、Tris 溶液および 300 mM Tris+10mM EGTA で有意に低い含水率となった ($p<0.05$)。実験 2：FD 直後の DNA 損傷率は mEGTA、300 mM Tris+10mM EGTA、および 300 mM Tris+20mM EGTA でそれぞれ 10、13 および 6%であったが、1 週間後は 53、56 および 72%となり全ての区で DNA 損傷が増加した。ガラス転移温度はそれぞれ-29.1、-30.2、および-32.4℃であった。実験 3：単為発生胚および核移植胚では H3K4me3 と H3K27me3 の発現が認められたが、雄性発生胚では H3K27me3 の発現が抑制された。また、体外受精胚の雌性前核では H3K4me3 と H3K27me3 の発現が認められたが、雄性前核では H3K27me3 の発現が抑制された。 【結論】以上本研究より、FD 後の DNA 保存性には含水率よりもガラス転移温度の影響が大きいことが明らかとなった。さらに、FD 細胞由来核移植胚のヒストン H3 トリメチル化修飾は単為発生胚および体外受精胚中の雌性前核と類似していることが示され、発生初期のエピゲノムの異常が示唆された。 【今後の展望】FD 細胞の常温保存および核移植後の産子生産に成功すると、貴重な哺乳動物遺伝資源を安全安心に保存し温暖化ガスの排出を削減することで持続可能な開発目標 (SDGs) の達成に貢献できる。今後、ガラス転移温度の上昇を目的とした FD 緩衝液の組成の検討によって、FD 細胞の常温保存の可能性が示唆された。また、核移植胚のエピゲノムを改変し正常な発生を促すことで、クローン作出が可能になるかもしれない。
-----------------------	--

研究成果発表 等の予定	論文投稿および国内学会（日本繁殖生物学会）および国際学会（CRYO2019）で成果の発表を予定
備考	

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（平成 30 年度）

平成 31 年 4 月 9 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：高知大学教育研究部

氏名：枝重 圭祐

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	☐ 重点共同利用研究 ☐ モデル生物・技術開発共同利用研究 ☐ 個別共同利用研究 ☐ 統合ゲノミクス共同利用研究 ☐ 統合イメージング共同利用研究 ☐ 研究会 ☐ 大型スペクトログラフ共同利用実験 ☐ トレーニングコース実施 ☒ 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	魚類卵子/卵巣の凍結保存－高浸透圧傷害メカニズムの解明から応用へ－		
課題番号	18-919		
研究期間	平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日		
所内対応者	竹鶴 裕亮		
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	秋田大学バイオサイエンス教育・研究サポートセンター	助教	関 信輔
	北海道大学大学院農学研究科	名誉教授	藤川 清三

（裏面に続く）

研究成果の概要及び今後の展望	魚類未成熟卵子は高浸透圧に対して感受性が極めて高いため、耐凍剤で処理することができない。凍結保存を実現するためには、この傷害を克服する必要がある。魚類未成熟卵子の高浸透圧傷害による細胞死にはネクローシスを含む複数の細胞死経路が関与している。細胞死には様々なプロテアーゼが関与していることが知られていることから、本研究では、魚類未成熟卵子の高浸透圧傷害にどのようなプロテアーゼが関与しているかしらべた。成熟したゼブラフィッシュ卵巣から Stage III 中期卵子を含む卵胞（以下 Stage III 卵子）を 0.5%ウシ血清アルブミン添加 90% Leibovitz's L-15 液（pH 9.0）（以下 90%LM 液）中に回収した。エンドペプチダーゼ阻害剤としてエンドペプチダーゼ阻害剤カクテル（WAKO, 165-26021）、エキソペプチダーゼ阻害剤としてアミノペプチダーゼ阻害剤であるベスタチンあるいはカルボキシペプチダーゼ阻害剤（potato 茎由来）（Sigma Aldrich, C0279）を Stage III 卵子に注入し、25℃の 0.5 M sucrose 添加 90%LM 液で 5 分間高浸透圧処理した。30 分間培養した後に propidium iodide で生死染色した。Stage III 卵子を高浸透圧処理すると、卵子の生存性は著しく低下した。エンドペプチダーゼ阻害剤カクテルをあらかじめ注入しても生存率は向上しなかった。したがって、高浸透圧による卵子の細胞死にはエンドペプチダーゼは関与していないと考えられた。また、アミノペプチダーゼ阻害剤をあらかじめ注入しても生存率は向上しなかった。一方、カルボキシペプチダーゼ阻害剤を注入すると生存率は大幅に向上した。したがって、高浸透圧処理による細胞死には、ある種のカルボキシペプチダーゼの活性化が関与していることが示唆された。これまでに細胞死に直接かかわるカルボキシペプチダーゼは知られていない。したがって、高浸透圧によりどのような経路を経て卵子内のカルボキシペプチダーゼが活性化し、そして活性化によってどのようにして細胞死が引き起こされるのか、今後の研究が必要である。
研究成果発表等の予定	・ 2019 年 7 月 21 日から 25 日にかけて開催される国際低温生物学会（Cryo2019）と、2019 年 9 月 3 日から 5 日にかけて開催される第 112 回日本繁殖生物学会大会で、成果の一部を発表する予定である。 ・ 2019 年度中に成果の一部を論文として投稿する予定である。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。