

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

2019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	4
個別共同利用研究	10
統合ゲノミクス共同利用研究	139
統合イメージング共同利用研究	284
研究会	335
大型スペクトログラフ共同利用実験	345
生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究	365

重点共同利用研究

19-101 哺乳類冬眠の理解に向けた分子生理機構解析とその種間比較解析
山口 良文 北海道大学低温科学研究所 低温科学研究所

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2020年5月19日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 北海道大学 低温科学研究所
氏名： 山口 良文

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)	<input checked="" type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	哺乳類冬眠の理解に向けた分子生理機構解析とその種間比較解析		
課題番号	19-101		
研究期間	2019年4月1日 ~ 2020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
	基礎生物学研究所	教授	重信 秀治
	基礎生物学研究所	技術職員	山口 勝司
	北海道大学獣医学研究院	准教授	岡松 優子
	理化学研究所	室長	小倉 淳郎
	北里大学	助教	塚本 大輔

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>これまでほぼ情報のないシマリスの遺伝子情報を得るため、シマリスの白色脂肪組織、褐色脂肪組織、骨格筋、肝臓を摘出し、品質の良い totalRNA を得た。これをもとに網羅的 RNA-seq を、基礎生物学研究所の重信教授、山口技術課職員に依頼し、Genewiz でのシーケンスにより一次情報を得た。今後は得られた情報をもとに、解析個体数を増やした qPCR 等により、キー遺伝子の発現を定量しシリアンハムスターとの比較を行う。検討遺伝子群は、山口がこれまで明らかにした脂質代謝系遺伝子である。シリアンハムスターの冬眠期の白色脂肪では、脂質の異化と同化の同時亢進が生じる (Chayama, 2019)。この結果は、餌の枯渇に見舞われる冬眠期の間、蓄積脂肪を燃やすだけでなく、巣穴に貯蔵した餌由来の炭水化物から脂質合成を行うことを示している。先行研究で冬眠動物であるジリスやクマなどでは冬眠期は脂質異化のみの亢進が示唆されており、この結果はこれまでの冬眠研究で得られた知見とは相反する。これは、ジリスやクマは冬眠期には体内に蓄積した大量の脂肪を燃焼するのみで殆ど蓄積しない「脂肪蓄積型冬眠動物」なのに対し、ハムスターは巣穴に餌を蓄積する「餌貯蔵型冬眠動物」なためである可能性がある。そこで同じく餌貯蔵型冬眠動物であるシマリスにおいて、分担者の塚本 (北里大学)、岡松 (北大獣医学部) らと検討を行っていく。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本年度中に成果を論文としてまとめ投稿まで持っていくべく計画しているが、Covid-19 の感染状況とその社会的対応次第では遅延が生じる可能性がある。</p>
<p>備考</p>	<p>提出が遅くなってしまいすみませんでした。</p>

※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

19-202 求愛行動の進化をもたらす神経基盤を解明するためのプラットフォーム
の構築

石川 由希 名古屋大学大学院理学研究科 大学院理学研究科

19-203 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 医学部

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2020年 4月 30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： 石川由希

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	求愛行動の進化をもたらす神経基盤を解明するためのプラットフォームの構築		
課題番号	19-202		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	名古屋大学 大学院理学研究科	教授	上川内あづさ
	名古屋大学 大学院理学研究科	助教	田中良弥

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では求愛行動の進化をもたらす神経基盤を解明するために、<i>Drosophila subobscura</i>、カザリショウジョウバエ、ヒトスジシマカに遺伝学的ツールを導入し、求愛行動の進化をもたらす神経機構を理解するためのモデル系を確立した。</p> <p>婚姻贈呈を示す <i>D. subobscura</i> において、piggyBac ベクターを用いて attP 系統を作製することに成功した。さらに、この attP 系統を用いることで UAS-dTRPA1 や UAS-csChrimson_mVenus 系統の作製に成功した。これらの系統を用いることで熱や光によって神経活動を操作することが可能となる。今後はこれらを用いることで婚姻贈呈に関わるニューロン群を探索する。</p> <p>カザリショウジョウバエにおいても、piggyBac ベクターを用いて attP 系統を作成することに成功した。また、本種に特有のテリトリー行動を定量するため、深層学習を用いた自動解析系を構築した。今後これらを用いて、テリトリー行動に関与する神経機構を解明する。</p> <p>ヒトスジシマカを含むいくつかの蚊種には、attP 系統がすでに存在している (Labbé et al, 2010)。ただし、この albopictus 系統はトランスポゾンを経た形質転換によって生成されたため、その挿入部位はランダムであり遺伝子発現効率は悪い (Häcker & Schetelig, 2018)。そこで本計画では、CRISPR / Cas (Liu et al, 2019) を利用し、より高品質の attP 系統の作出を試みた。まずは近縁種であるネッタシマカを用いて、CRISPR / Cas による遺伝子変異体を作成した。その結果、胚への CRISPR コンストラクトの注入を介して機械感覚遺伝子 KO 変異株を生成することに成功した。そこで今後はこの技術をヒトスジシマカに適用する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p><i>D. subobscura</i> に関しては作製した系統を用いて、<i>D. subobscura</i> に特異的な求愛行動である婚姻贈呈に関わるニューロン群を同定した後、学術誌に発表する。また、2020 年度日本進化学会での発表を予定している。</p> <p>カザリショウジョウバエに関しては、テリトリー行動に関する神経機構を解明した後、学術誌に発表する。また 2020 年度日本進化学会での発表を予定している。</p> <p>ヒトスジシマカに関しては、現在論文を執筆中である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月29日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 広島大学
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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、イペリアトゲイモリの研究基盤の開発		
課題番号	19-203		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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	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	准教授	野中 茂紀
	基礎生物学研究所	助教	内山 郁夫
	琉球大学	助教	松波 雅俊
	産業技術総合研究所	主任研究員	原本 悦和
別紙に続く			

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>有尾両生類のイモリは脊椎動物の中で際立って強い再生能力をもち、器官再生機構の優れた研究モデルである。本研究では大量繁殖が容易なイベリアトゲイモリを導入して、モデル生物化を行ってきた。</p> <p>今年度は、イベリアトゲイモリのトランスクリプトームの解析と遺伝子モデルに関する論文を DNA Research 誌に発表したデータをもとに、イベリアトゲイモリ研究ポータルサイト "iNewt" の情報の充実化を行った。特に、本共同利用研究で作製したイベリアトゲイモリの遺伝子モデルを BLAST 検索できるページは、多くの研究者からのアクセスを受けている。</p> <p>また、改良したマイクロインジェクションプロトコルの報告 (Hayashi et al., 2019) などによりユーザーも増加しており、過去3年間におけるイモリの配布件数は約 100 件となった。このほか、イモリの皮膚再生に関する総説も発表した (Abe et al., 2019)。</p> <p>モデル生物としての有用性を高めるためにはゲノム情報の整備が不可欠であるが、約 20 Gb という巨大なゲノムサイズを持つイモリでは効率的な情報整備には、HiFi-seq 法を用いた 10kb 程度のゲノム断片の配列収集が有効であることがわかった。現在は、イモリのゲノムDNAに対する HiFi-seq の条件検討を行っており、来年度には実際のシーケンスを行う計画である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020 年も引き続き研究を継続し、得られた成果は速やかに国際科学雑誌等に発表する。</p>
<p>備考</p>	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

別紙（分担者続き）

分担者（研究会 は参加者）	所属	職名	氏名
（※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。）	鳥取大学	教授	竹内 隆
	中央大学	教授	福井 彰雅
	岡山大学	准教授	佐藤 伸
	学習院大学	助教	井上 武

個別共同利用研究

- 19-301 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 基幹研究院
- 19-302 植物ステロール合成制御機構の解明
島田 貴士 千葉大学大学院園芸学研究科 大学院園芸学研究科
- 19-303 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 国際基督教大学自然科学デパートメント 自然科学デパートメント
- 19-304 ゼニゴケにおけるクローン繁殖の制御機構
石崎 公庸 神戸大学大学院理学研究科 大学院理学研究科
- 19-305 ARFGAP タンパク質の制御する新規小胞輸送経路の解明
竹内 雅宜 東京大学大学院理学系研究科 大学院理学系研究科
- 19-306 細胞分裂時の植物ステロール生合成マシナリーの動態解析
太田 大策 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 大学院生命環境科学研究科
- 19-307 The role of polr1c in regulating endodermal cells in Type 3 Treacher Collins syndrome
謝 家暉 九州大学農学研究院 農学研究院
- 19-308 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 医学部
- 19-309 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 九州大学農学研究院 農学研究院
- 19-310 ゼニゴケの細胞分化関連変異体の 3 次元形態観察
近藤 侑貴 東京大学大学院理学系研究科 大学院理学系研究科
- 19-311 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 基礎工学部

- 19-312 周期的一斉開花植物コダチスズムシソウの進化と6年を測る生物時計機構の解明
柿嶋 聡 国立科学博物館分子生物多様性研究資料センター 分子生物多様性研究資料センター
- 19-313 Mechanism of DNA damage inducing stem cell formation in the moss *Physcomitrella patens*
Chunli CHEN Huazhong Agricultural University Life Sciences and Technology Life Sciences and Technology
- 19-314 ヒメツリガネゴケの受精決定因子及び胚発生因子の解析
榊原 恵子 立教大学理学部 理学部
- 19-315 D14L/KAI2 経路で働く新規アーバスキュラー菌根共生シグナル分子の探索と受容機構の解明
亀岡 啓 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 大学院生命環境科学研究科
- 19-316 ミヤコグサ種内の一年生・多年生の分化プロセスの解明
若林 智美 奈良女子大学理系女性教育開発共同機構 理系女性教育開発共同機構
- 19-317 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 農学部
- 19-318 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 理工学部
- 19-319 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 農学部
- 19-320 女王アリの長期間にわたる大量の精子貯蔵メカニズムの解明
後藤 彩子 甲南大学理工学部 理工学部
- 19-321 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 大学院薬学研究院
- 19-322 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 (第2期)
酒巻和弘 京都大学大学院生命科学研究科 大学院生命科学研究科

- 19-323 メダカ属内における心臓再生能の比較評価
 ディディエ スタニエル Max Planck Institute for Heart and Lung
 ResearchDepartment of Developmental Genetics Department of
 Developmental Genetics
- 19-324 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 教育・総合科学学術院
- 19-325 異体類変態関連遺伝子のモデル生物を用いた機能解析
 横井 勇人 東北大学大学院農学研究科 大学院農学研究科
- 19-326 メダカを用いたリラキシン遺伝子の機能解析
 日下部 誠 静岡大学理学部 理学部
- 19-327 メダカ近縁種における性決定機構の解明
 竹花 佑介 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部 バイオサイエンス学部
- 19-328 頭索動物ナメクジウオの生殖ホルモンの研究
 吉国 通庸 九州大学大学院農学研究院 大学院農学研究院
- 19-329 イネ内在性トランスポゾン nDART の挿入隣接ゲノム配列の同定
 野々村 賢一 国立遺伝学研究所実験圃場 実験圃場
- 19-330 花卉の老化過程におけるオートファジーの重要性
 吉本 光希 明治大学農学部 農学部
- 19-331 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 資源植物科学研究所
- 19-332 単細胞藻類の微小環境応答と「共生遺伝学」創成に向けた研究基盤の構築
 丸山 真一郎 東北大学大学院生命科学研究科 大学院生命科学研究科
- 19-333 マウス胚ノド細胞のカルシウム動態観察
 水野 克俊 理化学研究所生命機能科学研究センター 生命機能科学研究セ
 ンター
- 19-334 アブラムシの新奇形質・角状管にみられる関節構造形成とその進化
 小川 浩太 九州大学比較社会文化研究院 比較社会文化研究院

- 19-335 シロアリの高度な社会システムの進化を促した分子機構の解明
前川 清人 富山大学大学院理工学研究部 (理学) 大学院理工学研究部 (理学)
- 19-336 シロアリの社会性進化に伴うゲノム変異の同定
林 良信 慶應義塾大学生物学教室 生物学教室
- 19-337 キノコ栽培を行うシロアリの栽培共生系におけるシロアリ社会行動制御の分子機構
北條 優 琉球大学研究推進機構 研究推進機構
- 19-338 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的研究
服部 充 長崎大学水産・環境科学総合研究科 水産・環境科学総合研究科
- 19-339 遺伝子発現レポーターアッセイ多検体・並列解析系の構築：時間的解像度と多点観察のバランスが取れたレポーター系の確立
佐藤 昌直 北海道大学大学院農学研究院 大学院農学研究院
- 19-340 メダカを用いた味覚情報入力・出力に関わる脳神経経路の可視化
藍原 祥子 神戸大学大学院農学研究科 大学院農学研究科
- 19-341 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 大阪府立大学総合リハビリテーション学類 総合リハビリテーション学類
- 19-342 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 生物機能開発利用研究センター
- 19-343 タンパク質架橋化酵素とその関連タンパク質に関する創薬科学的研究
人見 清隆 名古屋大学大学院創薬科学研究科 大学院創薬科学研究科
- 19-344 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 分子遺伝部門
- 19-345 雌性配偶体特異的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 理学部

- 19-346 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探索
広井 賀子 山口東京理科大学薬学部 薬学部
- 19-347 メダカの顔認知に関わる神経基盤の解明
竹内 秀明 岡山大学大学院自然科学研究科 大学院自然科学研究科
- 19-348 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 両生類研究センター
- 19-349 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 大学院医学研究科
- 19-350 半策動物ギボシムシの遺伝情報と表現型情報の整備およびそのゲノム編集系の確立
川島 武士 国立遺伝学研究所生命情報研究センター 生命情報研究センター
- 19-351 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 農学府
- 19-352 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 大学院生命機能研究科
- 19-353 イネと宿主域根粒菌とのエンドファイト共生の成立機構の解明
内海 俊樹 鹿児島大学大学院理工学研究科 大学院理工学研究科
- 19-354 アブラムシの共生器官特異的抗菌活性ペプチドの機能の解明
内海 俊樹 鹿児島大学大学院理工学研究科 大学院理工学研究科
- 19-355 細胞骨格付随タンパク質の機能解析
小田 祥久 国立遺伝学研究所遺伝形質研究系 遺伝形質研究系
- 19-356 食性テントウムシにおいて種分化に関わる嗅覚受容体遺伝子の特定と機能解析
松林 圭 九州大学基幹教育院 基幹教育院
- 19-357 有用海産甲殻類の幼生変態を司る内分泌動態の解明
豊田 賢治 神奈川大学理学部 理学部

- 19-358 基部陸上植物における精子走化性の分子機構
大和 勝幸 近畿大学生物理工学部 生物理工学部
- 19-359 Functional investigation of ApoD gene family in fishes
Yang Liu Sun Yat-sen University School of Life Sciences, Department
of Ecology School of Life Sciences, Department of Ecology
- 19-360 ライブイメージングと数理モデリングによる糖感知機構の解析
佐野 浩子 久留米大学分子生命科学研究so遺伝情報研究部門 分子生命科
学研究so遺伝情報研究部門

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（ 2019 年度）

2020 年 4 月 30 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-301		
研究期間	2019 年 4 月 1 日 ~ 2020 年 3 月 31 日		
所内対応者	上田 貴志		
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	中村五十鈴
	お茶の水女子大学大学院ライフサイエンス専攻	博士前期課程 1 年	伊藤舞花

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。昨年度からの継続した実験により、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行なった。野生型と比較して、表現型に明確な特徴が認められなかったため、二重変異体の作出を開始している。並行して、大腸菌を用いてこれらのメチルトランスフェラーゼの組換え型酵素を発現させ、<i>in vitro</i> で活性を測定する準備を進めている。今後は、メチルトランスフェラーゼのメチル基を受容する基質の探索を行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021 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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月3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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植物ステロール合成制御機構の解明		
課題番号	19-302		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	上田 貴志		
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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ステロールは植物にとって重要な生体物質であるため、ステロールを常に適切な量に維持する必要がある。しかし、植物のステロール量を制御するメカニズムは、どのような分子機構によって支えられているかについては未解明の部分が多い。本研究では、植物がステロール量を適切に保つための分子メカニズムを解き明かすことを目的とした。私は、ステロール合成を負に制御する因子 HISE1 タンパク質について、その結合因子 4 つに着目し、細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡により観察した。うち 2 つの因子について、HISE1 と同じく、小胞体に局在することを明らかにした。BiFC 法による HISE1 との結合観察については、現在、ベクターコンストラクトを作製中である。また、HISE1 は、ステロール合成の律速酵素である HMG-CoA reductase (HMGR) の量を低く保つ働きを持つ。シロイヌナズナ HMGR1 の細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡により観察したところ、小胞体に局在することが明らかになった。また、現在、野生型植物において、HMGR タンパク質量が増加するストレス条件を探索している。</p> <p>今後は、HISE1 タンパク質に結合する因子と、HMGR タンパク質について、細胞内動態をより詳細に観察していく予定である。これらを通して、本研究の目的である「ステロール量制御機構」の分子機構の解明を目指していく。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>研究成果は以下の論文にておいて発表した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Takashi L. Shimada, Shigeyuki Betsuyaku, Noriko Inada, Kazuo Ebine, Masaru Fujimoto, Tomohiro Uemura, Yoshitaka Takano, Hiroo Fukuda, Akihiko Nakano and Takashi Ueda, 'Enrichment of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate in the extra-invasive hyphal membrane promotes Colletotrichum infection of <i>Arabidopsis thaliana</i>', <i>Plant & cell physiology</i>, 7, 1514-1524 (2019) ● <u>Takashi L. Shimada*</u>, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Hiro Takahashi, Masataka Murase, Shuichi Fukuyoshi, Ikuko Hara-Nishimura, 'Excess sterols disrupt plant cellular activity by inducing stress-responsive gene expression', <i>Journal of Plant Research</i>, (in press) <p>また、2020 年度植物脂質シンポジウムにおいて、研究成果を発表する予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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 のエフェクターを介した機能実行機構の研究		
課題番号	19-303		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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	特任助教	伊藤瑛海
	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>低分子量 GTPase RAB5 は真核生物に広く保存された膜交通制御因子のひとつである一方で、陸上植物と一部の緑色藻類は、保存型に加えて植物固有型 RAB5 をもつ。これらの機能発現を担う RAB5 機能実行因子（エフェクター）として、申請者らは、維管束組織特異的に発現する <u>PH domain-containing Effector of Arabidopsis RAB5 2</u> (PEAR2) と PEAR3 を同定した。</p> <p>本共同利用研究では、申請者の所属機関が保有していない全反射顕微鏡システムを用いて、細胞内における REAP2 および REAP3 と、オルガネラマーカールとの局在比較を行った。解析の結果、REAP2 と REAP3 は初期エンドサイトーシス制御に関わるオルガネラに局在することが明らかになった。</p> <p>今後、<i>reap2</i> および <i>reap3</i> 変異体背景でエンドサイトーシス経路の積荷を可視化する形質転換体を作成し、観察することで、初期エンドサイトーシスにおける REAP2 と REAP3 のはたらきを明らかにする。</p> <p>2019 年度は、この結果と今後の展望について、受入教員の上田教授・海老根助教と綿密なディスカッションを行い、REAP2 と REAP3 の細胞内機能に関する研究成果をまとめた論文発表の方向性を定めた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2019 年度に得られた研究成果について、第 61 回日本植物生理学会（大阪：2020 年 3 月 19～21 日）にて発表を行った。また、国内外の科学雑誌を通じた論文発表に向けて、準備を進めている。</p>
<p>備考</p>	<p>特になし</p>

※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： 神戸大学大学院理学研究科
氏名： 石崎 公庸

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ゼニゴケにおけるクローン繁殖の制御機構		
課題番号	19 - 304		
研究期間	2019年4月1日 ~ 2020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
	神戸大学 大学院理学研究科	博士後期課程 大学院生	樋渡 琢真
	神戸大学 大学院理学研究科	学術研究員	加藤 大貴
	京都大学 大学院生命科学研 究科	助教	安居 佑季子

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ゼニゴケのクローン個体である無性芽は、杯状体底部表皮層の1細胞が非対称分裂し無性芽始原細胞を生み出すことから発生が始まる。ゼニゴケのROP活性化因子RopGEFをコードするKARAPPO (KAR) 遺伝子の機能欠損変異体では、杯状体の形成は正常であるが、杯状体底部表皮層において無性芽始原細胞が全く形成されない。この結果から、ゼニゴケの杯状体の底部表皮細胞において、RopGEF/KARによるROPの活性化が起こり、無性芽始原細胞を生み出す非対称分裂が進行するという仮説を立てた。今年度、KARの無性芽形成における機能を明らかにするため、杯状体底部表皮細胞におけるKARの細胞内局在と、野生株とkar変異体の杯状体底部におけるROPの細胞内局在を観察した。その結果、KARとROPはともに細胞膜付近と細胞質に局在することが明らかになった。細胞膜への局在を決定するには更なる解析が必要であるが、KARが細胞膜に局在するROPを活性化し、細胞極性やその後の非対称分裂を制御する可能性を支持する結果と解釈している。</p> <p>今後はkar変異体における細胞骨格や核のダイナミクスを観察することで、無性芽発生開始におけるKARの機能を明らかにしたい。またKAR上流の制御機構を明らかにするため、KAR相互作用因子の探索も計画している。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本年度の研究成果は、2019年度に以下の論文として出版された。</p> <p>Hiwatashi, T., Goh, H., Yasui, Y., Koh, L.Q., Takami, H., Kajikawa, M., Kirita, H., Kanazawa, T., Minamino, N., Togawa, T., Sato, M., Wakazaki, M., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., Fukaki, H., Mimura, T., Toyooka, K., Sawa, S., Yamato, K.T., Ueda, T., Urano, D., Kohchi, T., and Ishizaki, K. The RopGEF KARAPPO is essential for the initiation of vegetative reproduction in <i>Marchantia polymorpha</i>. Current Biology 29: 3525-3531 (2019)</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京大学大学院理学系研究科
氏名：竹内雅宜

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ARFGAP タンパク質の制御する新規小胞輸送経路の解明		
課題番号	19-305		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020年3月31日		
所内対応者	上田貴志		
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
	基礎生物学研究所細胞動態研究部門	助教	海老根一生

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>私たちは、シロイヌナズナの ARFGAP タンパク質ファミリーの解析途上で、一つの ARFGAP タンパク質が、謎のチューブ状構造体を介した小胞輸送に関与するというユニークな分子特性を持つことを見出している。今回、生物機能情報分析室の MS 解析のシステムを利用し、ARFGAP の新規結合因子の探索を行った。GFP タグの付加された ARFGAP を発現する形質転換シロイヌナズナのライセートから、免疫沈降によって得られる産物を MS 解析し、ARFGAP の新規結合因子候補を同定した。その結果、ARFGAP の結合因子候補は非常に多種多様、多岐にわたりことが分かった。具体例としては、クラスリン系タンパク質、細胞骨格系タンパク質、RNA 結合タンパク質、分泌タンパク質、細胞膜局在タンパク質、小胞輸送系 small GTPase などが挙げられる。これらの結果は、この ARFGAP が、細胞内の複数の小胞形成箇所において、巨大なハブ形成因子としてプラットフォーム形成に機能しており、機能分化が進んだ特殊な機能を担うというよりも、複数の輸送経路において、マルチプルな機能を果たしていると考えられる。今後、BiFC 法ならびに免疫沈降法により、ARFGAP が有するタンパク質結合活性を解析し、真の結合因子を同定していく。そして、共焦点顕微鏡などを用いた、これらの結合因子と ARFGAP のイメージング解析を通して、ARFGAP が形成する各種プラットフォームの一つと考えられる、チューブ状構造体の全体像を解明していく。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>今後、今回得られた、多数の結合因子候補群に対して、ARFGAP タンパク質との結合活性の精査を行い、イメージング解析等と合わせて、ARFGAP が形成する各種プラットフォームの全貌を明らかにして、学会発表、論文発表を行っていく予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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（2020年度）

2020年3月31日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：公立大学法人大阪 大阪府立大学
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	細胞分裂時の植物ステロール生合成マシナリーの動態解析		
課題番号	19-306		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020年3月31日		
所内対応者	細胞動態研究部門 海老根一生		
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
	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科	教授	太田大策
	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科	准教授	稲田のりこ
	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科	修士課程1年	不破綾香

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>植物ステロール組成は、側鎖メチル化レベルの違いにより 24-メチルステロールと 24-エチルステロールに大別される。24-エチルステロールの産生は、多細胞植物特異的に多様化したステロールメチル基転移酵素 (SMT2) に依存する。<i>SMT2</i> 遺伝子を欠損すると 24-エチルステロール生合成能が欠失し、重篤な形態形成異常を呈し最終的には不稔に至る。</p> <p>これまでの研究から、24-エチルステロール生合成能が欠失したシロイヌナズナ <i>SMT2</i> 欠損変異系統 (<i>smt2 smt3</i>) では、正常な細胞分裂が阻害され細胞系譜成立が破綻すること、定常状態では細胞内膜系に遍在する SMT2-mCherry タンパク質が、細胞分裂の進行に伴い細胞分裂面に蓄積することが明らかになった。このことは、24-エチルステロールは細胞分裂面で新規合成され、細胞分裂の正常な進行と完結に関与する未知機能を担うと推察した。</p> <p>そこで、細胞分裂面での 24-エチルステロール新規合成が細胞分裂の進行に必須であるという仮説を検証するための実験を開始した。実験では、SMT2 タンパク質の S-アデノシルメチオニン結合に関与するアミノ酸残基に点変異を導入したドミナントネガティブ SMT2 タンパク質と mCherry の融合タンパク質を <i>SMT2</i> プロモーター制御下で <i>smt2 smt3</i> 植物で発現させた。変異 SMT2 タンパク質は野生型 SMT2 タンパク質と同様に、定常状態の細胞では内膜系に局在し、細胞分裂進行に伴い細胞分裂面に集積したが、<i>smt2 smt3</i> の異常表現型を相補することはできなかった。以上の結果は、これらのドミナントネガティブ SMT2 タンパク質が 24-エチルステロール産生能を失っていること、正常な細胞分裂の進行には細胞分裂面での 24-エチルステロールの新規合成が必須であることを示している。今後、細胞分裂中に細胞分裂面に SMT2 が蓄積するメカニズムの解明、および新規に形成される細胞分裂面の細胞膜上での 24-エチルステロールの役割の解明を目指して研究を継続する。現在、細胞骨格タンパク質や CLASP, またセルロース合成酵素と SMT2 タンパク質の局在性の動態変化の解析を進めている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2019 年度日本植物分子細胞生物学会にて口頭発表した内容を論文発表するための準備中。</p> <p>Directional cell division in Arabidopsis is ensured by the production of β-sitosterol at the division plane Ayaka Fuwa¹, Kazuo Ebine^{2,3}, Takashi Ueda^{2,3}, and Daisaku Ohta¹ 1 Grad. Sch. Life Env. Svi., Osaka Pref. Univ. Div. 2 Div. Cellular Dynamics, NIBB 3 Sch. Life Sci., SOKENDAI</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年3月31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：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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	The role of <i>polr1c</i> in regulating endodermal cells in Type 3 Treacher Collins syndrome		
課題番号	19-307		
研究期間	2019年4月1日 ~ 2020年3月31日		
所内対応者	高田慎治教授		
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
	分子発生学研究部門	教授	高田 慎治
	分子発生学研究部門	助教	矢部 泰二郎

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>We aim to understand the role of <i>polr1c</i> in the facial development in the endodermal aspect by using the zebrafish model in this project. To investigate the endoderm development, the available of the fluoresce transgenic line is important. Thanks for the collaboration, Prof. Takada group could provide us the transgenic line for the necessary studies. We have visited the NIBB for two times in the past year and had fruitful discussion with the group. In the coming year, we will perform the gene knockdown in the transgenic line to observe the possible changes of the endoderm development and localization in the facial structure. Furthermore, the line will be crossed with our <i>polr1c</i> mutant line to generate the experimental model for various functional studies. We will work with the NIBB group closely to share the data and obtain the advice for further research directions.</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>A review paper with the funding acknowledgement is now under revision, and is expected to be published in the year 2020. In addition, we are working on the research parts of the studies. We expect to have one to two research papers during 2021-2022.</p>
<p>備考</p>	<p>N/A</p>

※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）

2020年 4月 30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統合生理学
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-308		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	自治医科大学医学部統合生理学	助教	糟谷 豪

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>HCN4 チャンネルが発現する細胞に青色光で活性化するチャンネルロドプシン (ChRWR) を発現しているトランスジェニックゼブラフィッシュを用いて研究を行った。昨年度までの成果で、HCN4 チャンネルが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ていた。そこで 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脱分極させたところ、逆行性の蠕動運動を引き起こすことが分かった。逆蠕動運動における HCN4 チャンネル発現細胞の役割を明らかにし、大阪医科大学との共同で論文として成果を発表した(Fujii et al. Cell Rep, 2020)。</p> <p>今後は心臓のペースメーカー細胞に発現している HCN4 発現細胞に注目し、心臓に青色光を照射して心拍数を人為的に変化させることで、短期的、長期的な心拍数の調整メカニズムを明らかにすることを目指している。</p> <p>また脳の松果体の一部の細胞に HCN4 の強い発現がみられることがわかった。松果体における HCN4 発現細胞の細胞種同定とその役割について、今後研究を進めていきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>発表済みの関連論文</p> <p>Gastrointestinal Neurons Expressing HCN4 Regulate Retrograde Peristalsis. Fujii K, Nakajo K, Egashira Y, Yamamoto Y, Kitada K, Taniguchi K, Kawai M, Tomiyama H, Kawakami K, Uchiyama K, Ono F. Cell Rep. 2020 Mar 3;30(9):2879-2888</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

2020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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-309		
研究期間	2019年 4月 1日 ~2020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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、アンドロゲン受容体（AR）遺伝子のゲノム重複に伴う重複・新機能獲得と、形態・神経機能における二次性徴形質の多様化との関連性の解明を目的として、メダカ AR 変異体の表現型解析、AR パラログ特異的なアンドロゲン応答ゲノム領域の解析を進めた。</p> <p>AR β に依存し二次性徴を発現する尻鰭組織を標的とした ATACseq 及び RNAseq の複合解析から、二次性徴発現領域特異的に Wnt 関連遺伝子が発現誘導され、クロマチンオープニング領域にアンドロゲン応答配列が存在していることを見出した。一方で予想に反し、アンドロゲン投与によるオープンクロマチン領域の顕著な変動は見られなかった。アンドロゲンエフェクター因子の多くは構成的な発現を示すことから、遺伝子発現に必須のエンハンサー領域はアンドロゲン非存在下でも活性化されていると予想される。これらのエンハンサーに近接したゲノム領域においてアンドロゲン応答配列が獲得されたことで、アンドロゲンの標的と成り得た可能性が考えられる。現在、上記仮説を検証するとともに、AR パラログ特異的なアンドロゲン応答ゲノム領域の詳細解明を目指し、昨年度の個別共同利用を通じて作成したメダカ系統（AR α /AR β 受容体をそれぞれ Flag タグとの融合遺伝子として発現し、AR 発現細胞を mClover3 陽性細胞として検出する（安齋助教との共同研究））を用いた ChIPseq 及び AR 陽性細胞だけを分離した ATACseq について条件検討を進めている。今後さらに、AR α 変異体で表現型がみられる脳組織を標的として同様の解析を進め、AR α 特異的なアンドロゲン応答ゲノム領域についても解析を進める予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>論文発表予定 仮題：Biological significance of Androgen receptor gene duplication for the sex characteristics development in medaka 仮題：The effects of Androgen receptor gene duplication on the evolution of androgen signaling pathway</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月22日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 東京大学大学院理学系研究科
氏名： 近藤 侑貴

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ゼニゴケの細胞分化関連変異体の3次元形態観察		
課題番号	19-310		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	渡辺英治		
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
	東京大学大学院理学系研究科	特任研究員	古谷 朋之
	東京大学大学院理学系研究科	大学院生	山田 舜治

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本申請の共同利用研究者である古谷は、前所属先において、共同利用研究を利用し(平成29年度 統合イメージング共同利用研究 17-526、提案代表者 塚谷裕一)、マイクロCTを用いたゼニゴケ形態記述法の検討を行なってきた。本共同利用研究では、その研究の継続、発展させた。これら共同利用研究の結果として、ゼニゴケの複雑な三次元的な形態的特徴を記述する方法をマイクロCTスキャナーによる三次元データ取得と数理形態学的手法を組み合わせることで構築した。実際に形態異常の変異体を評価し、野生型との違いを数値データとして判別できることを示した。数理形態学的解析は基礎生物学研究所(現 福井県立大)の木森 義隆先生との共同研究により検討し、確立することができた。これらの研究をまとめ、以下に示す論文発表を行なった。今後は、本方法を発展させることでゼニゴケだけでなく様々な生物種の形態記述への応用が期待される。</p> <p>原著論文 Tomoyuki Furuya, Yoshitaka Kimori, Hirokazu Tsukaya “A method for evaluating three-dimensional morphological features: A case study using <i>Marchantia polymorpha</i>”, <i>Frontiers in Plant Science</i>, 10, 01214, 2019</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	
<p>備考</p>	

※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）

2020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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-311		
研究期間	2019年4月1日 ～2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本共同研究は、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る。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。</p> <p>今年度は、ホルモン濃度などの投与条件を増やして解析を行い、昨年度得られたデータと併せることで、外生殖器の雄化や雌化の形成異常の程度を各種パラメータごとに定量化した。同様のホルモン処理を行った胎生期マウス外生殖器の遺伝子発現解析も行い、解析を進めている。今後、本共同研究で得られた外生殖器の表現型のデータと、遺伝子発現データを比較しながら、外生殖器形成に関わる各種パラメータに影響を与える遺伝子の特定を進める予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>今年度に学会発表を行い、国際誌に発表することを目指す。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月4日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立科学博物館 分子生物多様性研究資料センター
氏名：柿嶋 聡

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	周期的一斉開花植物コダチスズムシソウの進化と6年を測る生物時計機構の解明		
課題番号	19-312		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020年 3月 31日		
所内対応者	長谷部光泰		
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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>6年周期で一斉開花枯死するキツネノマゴ科のコダチスズムシソウを材料に、6年を測る生物時計機構とその進化を解明することを目的に研究を行った。野外調査、葉緑体 DNA3 領域および核 DNA1 領域の分子系統解析の結果、コダチスズムシソウの6年周期一斉開花は、毎年開花の複数回繁殖型から、一回繁殖型を経て、進化したことが推定され、論文として報告した (Kakishima et al., 2019)。さらに、RAD-seq を用いた分子系統解析を行い、沖縄島と八重山諸島のコダチスズムシソウが単系統になる一方、台湾のコダチスズムシソウとの間に <i>S. lanyuensis</i> が入ることが明らかとなった。基礎生物学研究所の温室において、2013年より栽培中の <i>S. rankanensis</i> について、2020年2月に開花が確認された。この情報をもとに台湾で野外調査を行ったところ、2012年以來、8年ぶりの一斉開花を確認することができた。今後も引き続き、コダチスズムシソウの6年を測る生物時計の生理メカニズムを解明するため、複数の環境条件下における栽培実験を行う。また、RNA-seq を用いたトランスクリプトーム解析を行い、発芽から開花までの遺伝子発現変動から周期遺伝子をスクリーニングする。さらに、周期植物のコダチスズムシソウと非周期植物のオキナワスズムシソウの F2 雑種を用いた QTL マッピングを行う。ゲノム解読を進め、周期遺伝子候補の情報と QTL 解析の結果を統合することで、6年を測る生物時計を解明していくことを計画している。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Satoshi Kakishima, Yi-shuo Liang, Takuro Ito, T.-Y. Aleck Yang, Pei-Luen Lu, Yudai Okuyama, Mitsuyasu Hasebe, Jin Murata, *Jin Yoshimura. 2019. Evolutionary origin of a periodical mass-flowering plant. <i>Ecology and Evolution</i> 9: 4373–4381.</p>
<p>備考</p>	

※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 ___2019
Date (21/04/2020)

To Director General of NIBB

Principal Investigator Name : CHEN Chunli
Institution : Huazhong Agricultural 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

Mechanism of DNA damage inducing stem cell formation in the moss
Physcomitrella patens

3. Project number

19-313

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

31/3/2020-01/04/2019

5. Host researcher

Professor Mitsuyasu Hasebe

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name
College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University	Associate Professor	CHEN CHUNLI

7. Outline of research results and future prospects*

We found that the transient induction of DNA strand breaks in the moss *Physcomitrella patens* can trigger the reprogramming of differentiated leaf cells into stem cells without cell death. This DNA strand break-induced reprogramming required the DNA damage sensor ATR kinase, but not ATM kinase, together with STEMIN1 and closely related proteins. Our findings indicate that DNA strand breaks, which are usually considered to pose a severe threat to cells, trigger cellular reprogramming towards stem cells via the activity of ATR and STEMINs. It will be interesting to investigate whether DNA strand breaks play a positive role in reprogramming in other organisms and whether natural stresses induce reprogramming in the absence of wounding.

8. Publications or publication plan*

Nan Gu#, Yosuke Tamada#, Akihiro Imai, Gergo Palfalvi, Yukiko Kabeya, Shuji Shigenobu, Masaki Ishikawa, Karel J. Angelis, Chunli Chen*, and Mitsuyasu Hasebe*. DNA damage triggers reprogramming of differentiated cells to stem cells in *Physcomitrella*. *Nature Plants* (2020) (in reviewing)

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）

2020年 4月 20日

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ヒメツリガネゴケの受精決定因子及び胚発生因子の解析		
課題番号	19-314		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020年 3月 31日		
所内対応者	玉田洋介		
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	准教授	榊原 恵子
	基礎生物学研究所生物進化研究部門（現・宇都宮大学工学部）	助教(現・准教授)	玉田洋介
	立教大学理学部	PD（現・助教）	養老瑛美子
	立教大学大学院理学研究科	大学院生	西井秀充

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>私たちはヒメツリガネゴケを用いて受精及び孢子体発生機構の解明を行っており、複数のホメオボックス型転写因子がこの過程に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。本研究ではホメオボックス型転写因子をコードする <i>PpWOX13LC</i> 遺伝子の表現型解析と、別のホメオボックス型転写因子である <i>PpBELL1</i> と <i>MKN2</i> の共通の標的遺伝子を特定し、その作用機作を明らかにすることを目的とした。</p> <p>これまでの研究から、<i>PpWOX13LC</i> 遺伝子破壊株は受精前後で発生を停止することが示されている。2019年度、<i>PpWOX13LC</i> 遺伝子座位に YFP (黄色蛍光タンパク質) 遺伝子を挿入したノックイン株を作出し、これを用いたタイムラプス観察により、<i>PpWOX13LC</i> 遺伝子の受精前後の発現の特定を試みたところ、シグナルが弱かったため、GUS 遺伝子をレポーター遺伝子として用いたノックイン株を作製し、発現解析を行った。その結果、<i>PpWOX13LC</i> 遺伝子は造精器の発生過程で、精細胞がプロトプラスト化する時に発現することがわかった。</p> <p>一方で、孢子体の頂端細胞及び分裂組織の形成維持に機能する <i>MKN2</i> タンパク質は <i>PpBELL</i> タンパク質と複合体を形成して作用すると考えられており、gDB シークエンス解析により共通の標的遺伝子候補として細胞周期を制御するサイクリン B1 が浮上している。<i>MKN2-GFP</i> ノックイン株と抗 GFP 抗体を用いた ChIP-PCR によりサイクリン B1 遺伝子が直接の標的であることの確認を試みたが、解析に用いた若い孢子体組織は微細であることもあり、明確な結果を得ることができなかった。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p><i>PpWOX13LC</i> 遺伝子の解析については <i>PpWOX13LC</i> 遺伝子破壊株の精子の表現型を解析して遺伝子機能を特定し、論文として成果発表を行う予定である。</p> <p>サイクリン B1 遺伝子が <i>MKN2</i> の直接の標的であるかの確認は <i>MKN2-GFP</i> のエストロジェン誘導株を作成済みのため、これと抗 GFP 抗体を用いて ChIP-PCR を実施して確認した後、論文として成果発表を行う予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 8日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪府立大学
氏名：亀岡啓

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	D14L/KAI2経路で働く新規アーバスキュラー菌根共生シグナル分子の探索と受容機構の解明		
課題番号	19-315		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2019年 3月 21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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究ではストリゴラクトン受容体パラログである D14L/KAI2 に受容される未同定植物ホルモンや AM 菌由来シグナル分子の単離と受容紀行の解明を目指している。</p> <p>研究開始当初は、申請者が確立したイネを用いたアッセイ系によって、川口研で培養されているニンジン毛状根-AM 菌共培養プレートから活性物質の精製を行っていた。最終的に一つの化合物を単離したが、それによりこれまで検出できていた活性は偽陽性であることが判明した。</p> <p>そこで、アッセイ系を再検討し、ミヤコグサを用いたアッセイ系を確立した。この系では同様の偽陽性が出ないことも確認した。また、抽出ソースも再検討した。川口研で培養されている AM 菌 <i>R. clarus</i> などを含む様々な植物、AM 菌を検討した結果、活性物質を高濃度を含むソースを発見した。現在はミヤコグサのアッセイ系を用いてこのソースから活性物質の精製を進めている。</p> <p>また、当初は活性物質の単離ができた場合に受容体 D14L/KAI2 と活性物質の相互作用を検証することを計画していたが、本年度中には単離に至らなかったため実施しなかった。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究で得られた成果は、植物化学調節学会第 54 回大会（カリキン様物質を検出する高感度バイオアッセイ系の確立 亀岡啓、秋山康紀）、第 61 回日本植物生理学会年会（カリキン様物質を検出する高感度バイオアッセイ系の確立 亀岡啓、秋山康紀）、The 23th International Conference on Plant Growth Substances (Exploration of novel arbuscular mycorrhizal symbiosis signals transduced by D14L/KAI2 pathway. Kameoka H, Kobae Y, Kyozuka J, Kawaguchi M, Akiyama K.)で発表された。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 28日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：奈良女子大学理系女性教育開発共同機構
氏名： 若林 智美

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ミヤコグサ種内の一年生・多年生の分化プロセスの解明		
課題番号	19-316		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	東北大学大学院生命科学研究科	准教授	佐藤 修正
	京都大学大学院地球環境学堂	教授	瀬戸口 浩彰

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>マメ科の多年生植物として知られるミヤコグサについて、これまでの野外調査により野生集団で一年生として振る舞うエコタイプを発見した。一年生・多年生の違いは被子植物が生殖成長へ移行するタイミングと密接に関連し、繁殖成功度に大きく関わる要素である。本研究では、以下の2つの方法により、この表現型の違いに関連する環境要素および責任遺伝子の同定を目的とした。</p> <p>1) ゲノム網羅的な関連遺伝子の探索</p> <p>沖縄県糸満市での共通圃場実験により、72系統の組換え自殖系統の一年生・多年生の表現型を記録した。Aarhus大学のStig Andersen准教授のご協力のもと、このデータを用いてQTL解析を行い、6番染色体上に関連領域を検出した。検出した領域をさらに絞り込む必要があり、現在、対象領域に組換えを持つ系統を追加しての共通圃場実験を行っている。今後は追加データの取得と、系統数を増やしてのQTL解析を予定している。</p> <p>2) 人工気象器を用いた関連する環境要素の推定</p> <p>一年生・多年生の実験系統を用いて、人工気象器における制御環境下での栽培を行い、一年生・多年生の表現型の違いが見られるかを検証した。一年生エコタイプが枯死する時期の現地環境を参考に、まず温度を30°Cの高温に設定して栽培を行った。結果、一年生エコタイプに地上部の生育不良は観察されたが、枯死までには至らなかった。この結果を受けて、現在は80%の高湿度条件下による栽培を開始しており、得られた結果から関連する環境要素の分析や、追加の環境設定を検討する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年度の研究成果を受けて論文執筆および学会発表等を行う予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月28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	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	共生窒素固定の強化に関するマメ科宿主植物遺伝子の解析		
課題番号	19-317		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	佐賀大学農学部	教授	鈴木章弘
	佐賀大学大学院農学研究科	修士1年	草場郁子

（裏面に続く）

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。これ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。</p> <p>2019年度も CRISPR-cas9 システムを利用して当該遺伝子に変異を導入する実験を継続して行った。具体的には、2018年度中にバイナリーベクターの構築及びアグロバクテリウムへの導入を完了しており、ミヤコグサの B129 と MG20 への遺伝子導入を試みていたため、2019年度もこれを継続した。しかし現在までに形質転換体は得られていない。これは使用した種子が最終的にカビに侵されてしまうことが原因であると考えられたため、所内対応者の川口教授から成功実績のある種子の分譲を受け、現在鋭意形質転換を推進中である。</p> <p>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。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年7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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-318		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	甲南大学 理工学部 生物学科	教授	今井 博之

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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形質転換体の作製を行った。今年度は、前年度に作製した形質転換体の種子を採取した。</p> <p>今後は、得られた形質転換体を使用して、スフィンゴ脂質の分析や表現型の解析を行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	<p>特になし。</p>

※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（2020年度）

2020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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-319		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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

(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および形態観察を行った。

2019 年度に採択された個別共同利用研究において、ナガボナツハゼとマツの根における共通の菌根菌 (*Tomentella* 属, *Cenococcum* 属) が形成する外菌根の特徴を明らかにした。アカマツにおいては茶色の菌根が見られ、皮層細胞間に外菌根の指標であるハルティヒネットが観察された。ナガボナツハゼにおいては黒色 (図.A) と茶色 (図.E) の 2 種類の外菌根が観察された。黒色の菌根はハルティヒネットがなく厚い菌鞘、表皮細胞の変形および皮層細胞内への菌糸の侵入が確認され (図.B, C), 表面が厚く菌糸で覆われていた (図.D). 茶色の菌根はハルティヒネットを有しており典型的な外菌根であると考えられた (図.F). このことから、ナガボナツハゼは一般的なツツジ科植物とは異なり、特殊な菌根共生を行っていることが明らかになった。今後は、ナガボナツハゼとマツ間の菌糸経路で養分の受け渡しについて調査する予定である。

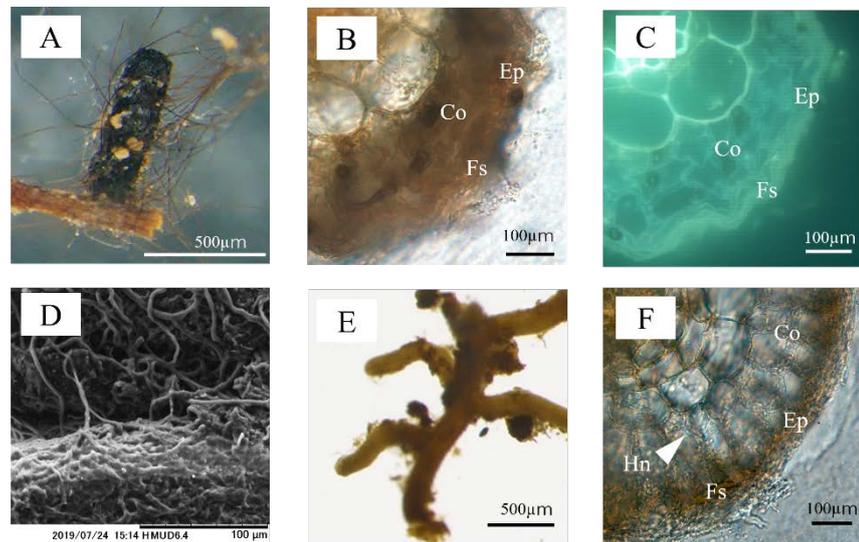


図 ナガボナツハゼの菌根形態
 黒色菌根の外観 (A), 菌根の横断面 (B), UV観察 (C), 電子顕微 (D)
 茶色菌根の外観 (E), 菌根の横断面 (F)
 Hn: ハルティヒネット, Fs: 菌鞘, Ep: 表皮細胞, Co: 皮層細胞

研究成果発表等の予定	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（2019年度）

2020年4月2日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 甲南大学 理工学部 生物学科
氏名： 後藤 彩子

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	女王アリの長期間にわたる大量の精子貯蔵メカニズムの解明		
課題番号	19-320		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	進化発生研究部門 新美輝幸 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
	甲南大学理工学部生物学科	博士研究員	大道裕

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>女王アリは羽化後まもない時期にしか交尾しないため、10年以上にもわたる寿命の間、精子を精子貯蔵器官「受精嚢」に貯蔵する。本研究では、この長期間にわたる精子貯蔵メカニズムを明らかにするために、キイロシリアゲアリ (<i>Crematogaster osakensis</i>)女王を材料として用い、受精嚢で高発現している遺伝子をRNA干渉法によりノックダウンし、精子貯蔵に重要な遺伝子をスクリーニングすることを目的としている。</p> <p>2019年度の共同利用では、受精嚢で高発現し、かつ精子貯蔵に重要だと考えられる25遺伝子およびネガティブコントロール用の遺伝子のdsRNAを作成することができた。また、キイロシリアゲアリにおいて、dsRNAの効率的な導入方法を検討している。</p> <p>今後は、実際にキイロシリアゲアリ女王に対してdsRNAを導入し、q-PCR法により、目的遺伝子をノックダウンできたかを判定する。また、遺伝子のノックダウンをおこなうことで、コントロールと比較して、精子生存率が低下するかどうかを明らかにし、長期間の精子貯蔵に重要な遺伝子を特定する。また、生存以外にも、精子の形状や生理的状态なども詳細に調べる予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>すぐに論文としてまとめることは難しい内容であるため、まだ発表は未定である。</p>
<p>備考</p>	<p>特になし。</p>

※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：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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-321		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	北海道大学大学院薬学研究院	大学院生	井ノ上俊太郎
	北海道大学薬学部	学部学生	長森光紀
	北海道大学薬学部	学部学生	田中豪
	北海道大学薬学部	学部学生	正木佑芽

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>複数の機能性 lncRNA 候補について CRISPR/Cas9 法を用いた全長欠失を試み、ホモ変異個体を得るに至った。中にはタンパク質予測されているものも含まれているため、全長ではなく開始コドン直後付近の配列をターゲットにした gRNA を設計し、フレームシフトによる機能欠失が誘導されるか否かを検証している。こちらはヘテロ個体の作製まで終了している。</p> <p>表現型解析として様々な社会性行動アッセイテストを行っており、不安様行動に異常を示すラインを発見した。しかしながら、当該遺伝子が既知遺伝子の 5'UTR 領域である可能性が考えられていることから、既知遺伝子の発現に異常を与えない程度の遺伝子領域欠失に切り替える必要がある。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>研究の進捗状況について、第21回日本RNA学会年会(2019年7月17日)、The 25th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2019年9月4日)にて学会発表を行った。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年3月19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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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(第2期)		
課題番号	19-322		
研究期間	2019年4月1日 ~ 2020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2年	高木 菜那
	京都大学・生命科学研究科	大学院博士過程1年	DSOUZA, Rhea Sarah

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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、昨年度より継続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。</p> <p>本研究では、ヒト HeLa 培養細胞株を用いて2つの融合遺伝子 [pMag-CASP8-2A-Venus] と [nMag-CASP8-2A-mCherry] を共に導入した後、LED の青色光を細胞に照射することで数時間後に細胞死が起きることを認めた、両融合遺伝子が光依存的に機能すること培養細胞レベルで確認された。次に、CMV プロモーターの代わりにメダカ由来の β アクチン遺伝子のプロモーターを繋いだプラスミドコンストラクト [O1 β Act:pMag-CASP8-2A-Venus] を作製し、これをメダカの受精卵に導入した後、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を調べたところ、全身の組織（特に筋肉）で Venus 陽性の細胞が観察された。また、メダカ由来の神経細胞特異的遺伝子 GAP43 のプロモーターを含むプラスミドコンストラクト [O1GAP43:nMag-CASP8-2A-mCherry] を使ってマイクロインジェクションを行いその後の発生途中の胚を調べたところ、眼の組織において mCherry 陽性の細胞を認めた。さらに、前年度は実験に用いた胚を成魚まで生育させることができなかったが、餌等を改善することにより成魚まで育てることに成功した。2種類のトランスジェニックメダカの樹立と系統化が可能となってきたことから、次は両者の交配でダブルトランスジェニックメダカを作出し、光刺激により神経細胞で細胞死が誘導できるか調べていきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>特になし。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020 年 4 月 12 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-323		
研究期間	2019 年 4 月 1 日 ～ 2020 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(2019年8月まで)	Postdoctoral fellow	亀崎 青沙

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。</p> <p>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て繁殖を試みたが、やはり繁殖に成功しなかった。交尾行動自体がみられなかったことから、環境要因である可能性が考えられた。</p> <p>また、<i>O.latipes</i> も含めて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いため、実験に使用する n 数をただ増やすだけでなく、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。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※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：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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-324		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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	小川 斐女
	早稲田大学大学院先進理工学研究科	修士学生	山岸 遼
	早稲田大学教育学部理学科	学部学生	岩田 美智子
	基礎生物学研究所	特任教授	成瀬 清
	基礎生物学研究所	助教	安齋 賢

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>[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が、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、赤血球造血に影響を与えるのかを解明する。</p> <p>[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。o-ジアニシジン・ギムザ重染色、ミエロペルオキシダーゼ・ヘマトキシリン重染色を行い、赤血球数及び好中球数を計数し、比較した。</p> <p>② 腎臓における造血関連遺伝子の発現量の比較 <i>csf3a1</i> ヘテロ欠損メダカ及び野生型メダカ成魚腎臓由来 cDNA を用いて qPCR 法により、好中球マーカーである MPO, G-CSF 受容体, 赤血球造血因子であるエリスロポエチン（EPO）の遺伝子発現量を比較した。</p> <p>[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。赤血球数は野生型で 5.85×10^{12} 細胞/L であったのに対し、<i>csf3a1</i> ヘテロ欠損メダカでは 2.92×10^{12} 細胞/L であり、減少傾向を認めた。腎臓における MPO と G-CSF 受容体の遺伝子発現量は <i>csf3a1</i> ヘテロ欠損メダカと野生型メダカで有意差は認められなかったが、EPO の遺伝子発現量は <i>csf3a1</i> ヘテロ欠損メダカで有意な減少を認めた。G-CSF が赤血球造血にも関与するというのは哺乳類では報告されておらず、新たな知見を得た。</p> <p>[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、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。加えて、<i>csf3a1</i> 欠損メダカにおける赤血球造血との関連についてもより詳細な遺伝子発現量の解析や細胞培養を行い解析する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020 年 49th 国際実験血液学会（International Society for Experimental Hematology）に演題登録予定。</p> <p>2020 年第 91 回動物学会米子大会に演題登録予定。</p> <p>本課題に関連する成果を国際誌へ論文投稿予定。「Identification and localization of neutrophils and the function of granulocyte colony-stimulating factor in Medaka fish（仮題）」</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 東北大学農学研究科
氏名： 横井 勇人

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	異体類変態関連遺伝子のモデル生物を用いた機能解析		
課題番号	19-325		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020年3月31日		
所内対応者	バイオリソース研究室 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
	東北大学農学研究科	大学院生	中村 峻也
	東北大学農学研究科	教授	鈴木 徹
	基礎生物学研究所	特任教授	成瀬 清

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究は異体類の変態における左右非対称な色素胞分化の分子基盤を明らかにすることを目的とし、ヒラメの有眼側と無眼側で発現強度の異なる遺伝子群について、メダカをモデルとして機能解析をするため、CRISPR/Cas9により変異体およびGFPノックイン系統の作出を試みた。</p> <p>候補遺伝子のメダカ・オーソログを単離して、発生過程における発現様式を解析し、メダカでもヒラメと相同なパターンであり、実験モデルとして有効であることを確認した。安齋博士の助言に従って、翻訳開始点近傍にgRNAを設計し、minimal promoterとGFP、およびBait配列を含むプラスミドを共導入してGFPノックイン系統を作出した。バイオリソース研究室では、メダカ受精卵に顕微注入するシステムが構築されており、非常に効率的に実験を進めることができた。それぞれの遺伝子について複数のgRNAを検討し、遺伝子発現を反映したGFP蛍光を発するノックイン個体(F0)を得ることができた。現在、東北大の実験室で交配を進めており、系統化に成功している。今度、GFPをレポーターとした発現の解析と、ホモ個体による発生遺伝学的な機能解析を行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>これまでに日本水産学会で発表済みであり、今後は研究成果をまとめて学術雑誌に投稿する。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月6日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 静岡大学理学部
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

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカを用いたリラキシン遺伝子の機能解析		
課題番号	19-326		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	安齋 賢 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
	バイオリソース研究室	助教	安齋 賢

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2019 年秋より CRISPR-Cas9 システムを安齋助教に指導していただくことを計画していたが、安齋助教が基礎生物学研究所から異動することとなり計画を立て直すことになった。2020 年 1 月から CRISPR-Cas9 を開始することを再計画したが、新型コロナウイルスの影響により静岡から岡崎へ出張することが困難になった。このような不測の事態が重なり、2019 年度の共同利用を実施することを断念した。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月3日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：長浜バイオ大学
氏名：竹花 佑介

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカ近縁種における性決定機構の解明		
課題番号	19-327		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、互いに近縁でありながら異なる性決定システム (XY 型および ZW 型) を示すメダカ属 4 種 [ジャワメダカ (ZW 型)、ハウザンメダカ (XY 型)、ハブスメダカ (ZW 型)、タイメダカ (XY 型)] を対象として、ゲノム解析を行うことでそれぞれの性決定遺伝子を同定する。</p> <p>これまでに、上記 4 種すべてについて全ゲノム解析を実施し、性決定領域周辺の塩基配列を決定した。これらのうち、長鎖配列データを用いて高精度の参照配列を構築したジャワメダカについては、すでに原著論文として公表済みである (Takehana et al., 2020, <i>G3: Genes, Genomes, Genetics</i>)。現在は、半数体ゲノム配列を用いた性染色体間の比較や、野生集団を用いた集団遺伝学的解析などから、Y 染色体特異的、あるいは W 染色体特異的領域の検出を試みている。</p> <p>今後はトランスクリプトーム解析を実施することにより、性決定領域に存在し、かつ性決定時期の生殖腺において性特異的に発現する性決定遺伝子候補を特定する。これらの候補遺伝子について機能獲得、および機能喪失実験を行い、真に性決定遺伝子であることを証明する。これらの成果から、どのような遺伝子にどのような変異が生じて、新規性決定遺伝子が進化するのかを明らかにする予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>候補遺伝子が特定できたものについては、機能解析までの実験を含めて随時原著論文として公表する。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 5月 31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 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	頭索動物ナメクジウオの生殖腺ホルモンの研究		
課題番号	19-328		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	基礎生物学研究所	助教	大野 薫
	九州大学	教授	吉国通庸
	九州大学	助教	栗田喜久

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>吉国・栗田が担当したヒガシナメクジウオからの神経ペプチドの抽出実験は、産卵期のナメクジウオ個体の採取数が充分数に至らず、予定した実験の多くが実施出来なかった。限られた数の個体を用いて、神経組織の単離法を検討した。昨年度には氷冷下、脊索を含む体上半部を摘出し 2N 酢酸中でペプチドを抽出したが、多くの夾雑物により、精製を進めるには相当数の個体を用いる必要があると考えられた。今年度は、ナメクジウオを凍結乾燥し、乾燥試料から顕微解剖により脊索と共に上部を走行する神経管を選択的に摘出する方法を検討した。棒状の脊索組織を目印にして効果的に神経管まわりを摘出することができ、入手した個体数が少ない場合の精製試料調製法として有効であると思われる。今後、本法による神経ペプチドの精製を進める予定である。</p> <p>大野は酵母発現系によるリラキシンペプチドの生合成法を検討した。P. pastoris, K. lactis を宿主とし、それぞれ pPICZα, pKLAC2 を発現ベクターとして、複数の生育温度での生合成を試みたが、いずれの組み合わせにおいても、リラキシンペプチドを回収することが出来なかった。分子量が小さく、システインによる架橋が 3 ペア存在するため、目的の立体構造を持つヘテロダイマーペプチドの産生量が十分には得られなかった可能性が考えられる。今後、還元型システインのペプチドを化学合成し、自然酸化による架橋、逆相 HPLC による精製と質量分析器による解析を活用し、目的のヘテロダイマーペプチドを得る事を目指す。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>神経ペプチド抽出試料としての神経管の摘出法については、旧法との生理活性や精製度の比較データを整備した後、発表予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	イネ内在性トランスポゾン nDART の挿入隣接ゲノム配列の同定		
課題番号	19-329		
研究期間	2019年4月1日 ～2020年3月31日		
所内対応者	基礎生物学研究所 助教 榎根 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	助教	津田 勝利
	国立遺伝学研究所	学術研究会 特別研究員	三村 真生

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>イネ nDART ミュータントパネルから、種子不稔が分離する 2 系統を選抜し、梅根博士と共同で不稔形質と連鎖する nDART 隣接ゲノム配列の同定を行なった。それぞれの系統で、不稔形質と連鎖する可能性のあるいくつかの隣接配列が同定できた。しかし残念ながら、不稔形質と完全に連鎖する配列を同定するには至っていない。</p> <p>現在のトランスポゾンディスプレイ法は、正常型と変異型の分離個体をそれぞれバルクして DNA を抽出し、アダプターと nDART 内部配列にプライマーを設定した PCR による増幅、そして増幅産物のアクリルアミドゲル電気泳動像の正常型と変異型の間を比較し、違いのあるバンドを切り出してシーケンスする。ハイスループット化が難しい手法であり、早期に次世代シーケンスによるハイスループットな nDART 隣接配列の同定法の確立が望まれる。</p> <p>今回の共同研究により、サンプリング法は確立するとともに、ハイスループット化にむけたヒントを得ることができた。2020 年度はさらに多くの nDART 不稔分離系統について、次世代シーケンス技術を利用したハイスループットな原因遺伝子の同定を試みる予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>該当なし。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月15日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：明治大学 農学部 生命科学科
氏名：吉本 光希

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	花卉の老化過程におけるオートファジーの重要性		
課題番号	19 - 330		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	星野 敦（多様性生物学研究室）		
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
	明治大学 研究知財戦略機構	法人ポストドクター	吉竹 悠宇志
	明治大学 農学部生命科学科	学生	柳生 真子
	明治大学 農学部 生命科学科	学生	只木 亮哉

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>これまでに、貴研究所において公開されているアサガオのゲノム情報からオートファジー関連遺伝子をいくつか見つけだし、それら配列情報をもとに実験に必要なコンストラクトの作成に取り掛かった。</p> <p>花卉特異的にオートファジー活性を抑制するために、花卉特異的発現プロモーターを RNAi 用 Gateway ベクターに移し、オートファジー関連遺伝子の一部をそのベクターに挿入してオートファジー関連遺伝子ノックダウン用のコンストラクトを完成させた。現在、シーケンスを行い、コンストラクトが完成したか確認中である。</p> <p>目的のコンストラクトが作成できたか確認後、アグロバクテリウム (EHA105) に導入し、それを用いてアサガオの形質転換を実施する予定である。アサガオの形質転換は、多様性生物学研究室の星野助教の指導の下、基礎生物学研究室にて行う。形質転換株を複数取得し、最終的に花卉におけるオートファジー活性が低下しているアサガオを単離し、その株を用いて花卉の老化過程におけるオートファジーの役割を明らかにする予定。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>結果が出次第、学会等で発表予定。</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

令和2年4月30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-331		
研究期間	平成31年 4月 1日 ~ 令和2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
	長岡技術科学大学大学院 工学研究科	准教授	西村 泰介
	岡山大学 資源植物科学研究所	准教授	長岐 清孝
	愛媛大学 大学院農学研究科	准教授	賀屋 秀隆
	長岡技術科学大学大学院 工学研究科	修士課程学生	濱谷 華菜子

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>エピゲノム編集による植物育種法を開発するため、前年度までに、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 dead SaCas9 (dSaCas9) 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。本年度は、これらの Binary vector とターゲット sgRNA を発現するカセットを形質転換したシロイヌナズナにおいて、ターゲット領域の DNA メチル化の解析及び遺伝子発現解析を行い、エピゲノム編集の効果を検討した。エピゲノム編集を試みた植物では、ターゲット領域の遺伝子発現及び DNA メチル化が僅かに変化している傾向がみられている。今後は、エピゲノム編集用のベクターの改良を行い、さらに効果的なエピゲノム編集を目指すとともに、アサガオを含めた他の植物に対象を広げていくことを計画している。なお、本共同研究利用の成果は、The 4th International Conference on "Science of Technology Innovation" 2019 (4th STI-gigaku 2019, 長岡技術科学大学)において発表した。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>今後、成果を学会等で発表する一方、効率的なエピゲノム編集ベクターを確立し、解析データが揃った段階で原著論文を投稿予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

2020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：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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	細胞内共生起源学 -光合成共生体を認識し、取込み、維持するメカニズムを探る-		
課題番号	19-332		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	皆川 純		
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	助教	丸山真一郎
	東北大学	助教	中山卓郎
	東北大学	研究支援員	石井 悠
	基生研	教授	皆川 純
	基生研	准教授	高橋 俊一

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>サンゴ等の刺胞動物類は、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。</p> <p>本研究では、褐虫藻とセイタカイソギンチャクのモデル共生系を用いた遺伝子発現解析を通して、海水温上昇に対する環境応答を遺伝子発現量変動という尺度で定量的に解析した。その結果、サンゴの「白化」など、環境変動により共生が崩壊し、褐虫藻が宿主から失われてしまう過程において、炭素代謝産物の生合成や輸送、リソソームでの代謝などに関わる遺伝子が、環境応答に大きく関わることを示された。こうした解析を通して、「白化」関連候補遺伝子を同定することができ、「白化」に関わる細胞機能を選択的に解析する系を構築することが可能となった。今後は、具体的な遺伝子機能と共生安定性との関係を細胞レベルで検証していく。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究の成果として、下記論文を発表することができた。</p> <p>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. <i>G3: GENES, GENOMES, GENETICS</i> (2019) 9(7): 2337-2347. doi.org/10.1534/g3.118.201012</p> <p>この成果は PNAS 誌にて</p> <p>Inner Workings: A microscopic mystery at the heart of mass-coral bleaching</p> <p>https://www.pnas.org/content/117/5/2232</p> <p>の中で紹介されるなど、国際的にも高い評価を得ている。</p>
<p>備考</p>	<p>なし</p>

※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 (R2 年度)

令和二年 4 月 20 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 理化学研究所
氏名： 水野 克俊

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-333		
研究期間	2019 年 4 月 1 日 ~ 2020 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
	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	研究員	加藤 孝信
	理化学研究所生命機能科学研究センター	国際プログラムアシエイト	Wangkyaw Twan
	理化学研究所生命機能科学研究センター	技術職員	Sai Xiao Rei

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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、ノード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などを作製した (Mizuno <i>et al.</i>, <i>under review</i>)。</p> <p>本年度は、この研究をさらに発展させて、「どのように左右軸が形成されるか」という問題に関して、さらなる生物物理学的なアプローチを行うための、実験系の協議と画像解析に関して協議を行い、予備的な実験を実施した。</p> <p>具体的には、どのような刺激によってノード繊毛内の Ca²⁺上昇が生じるかを明らかにするために、ライトシート顕微鏡を用いた高速撮影が有用であることが明らかになった。</p> <p>来年度以降、必要なデータの継続的な取得を目指す。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在、本研究による成果をまとめて、代表者を筆頭・責任著者とする原著論文を <i>Science Advances</i> 誌に投稿中である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 27日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：九州大学 比較社会文化研究院
氏名：小川 浩太

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	アブラムシの新奇形質・角状管にみられる関節構造形成とその進化		
課題番号	19-334		
研究期間	2019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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>動物の運動性に大きく影響する付属肢は動物の進化において重要であり、数多くの先行研究が行われている。しかしながら、進化的に中間段階の未熟な（完成されていない）関節構造を特定・定義することが難しく、関節の進化プロセスについては議論が続いている。申請者はアブラムシの角状管が関節形成プロセスを議論するのに好適な材料であると考え研究を行っている。角状管は全てのアブラムシ科で見られる共有派生形質であり、関節をもつ可動タイプ（Cylindrical）と関節を持たない非可動タイプ（Conical）の異なる2タイプが存在する、これまでの研究により Cylindrical タイプの角状管を持つエンドウヒゲナガアブラムシ <i>Acyrtosiphon pisum</i> は腹板と角状管を繋ぐ筋肉を持ち、能動的に角状管を動かせることを見出している。今年度の共同研究では、祖先的な Conical タイプ（関節を持たないタイプ）の角状管を持つクリオオアブラムシ <i>Lachnus tropicalis</i> の解析を行った。その結果、角状管は非可動で関節構造をもたないにも関わらず、角状管基部と腹部に付属する筋肉が存在することを確認した。この筋肉が収縮することで分泌腺が圧迫され、角状管からフェロモンが分泌されるものと思われた。この角状管に付属する筋肉が、角状管の関節獲得に伴って関節を可動させる動力源として転用された可能性が高い。今後は進化的段階の異なる種（より祖先的な種と両者の中間的な種）について追加の解析を行い、角状管筋の進化的起源および機能転換プロセスを明らかにする。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本解析結果は、国内学会にて発表予定である。進化学会や動物学会における発表を考えているが、現在、新型コロナ対策で学会の中止・延期が相次いでおり、発表学会は未定である。また、追加の形態解析が完了し次第、論文として発表予定である。</p>
<p>備考</p>	<p>なし</p>

※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）

2020年4月14日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：富山大学学術研究部理学系
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	シロアリの高度な社会システムの進化を促した分子機構の解明		
課題番号	19-335		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本年度はまず、ヤマトシロアリのソシオ遺伝子の詳細な発現解析を行った。昨年度までに行ったゲノムおよび RNA-seq データから、ゲノム上で高度に重複した複数の遺伝子に注目した。カースト間の RNA-seq データから、カースト間での発現差が見られるパラログを選択し、リアルタイム定量 PCR 法を用いて発現パターンを検証した。次に、<i>in situ hybridization</i> 法により発現部位を解析した結果、各パラログが全く異なる部位で発現することが示された。特に、カースト分化を規定する遺伝子として、一昨年に共同研究の成果として発表したリポカリン (Yaguchi et al. 2018) は、兵隊の防衛物質の合成器官 (額腺) の細胞や雌生殖虫の卵巣の付属腺細胞などで、それぞれ強く発現するパラログが見い出された。各リポカリンが、カーストのタスクに関与した機能をもつか否かを検証するために、RNAi 法を用いた機能解析を今後行う予定である。</p> <p>さらに本年度は、シロアリおよび近縁群における化学受容にかかわる遺伝子を取得した。まず、ヤマトシロアリの触角の RNA-seq から <i>de novo</i> アセンブリしたデータを用い、網羅的に受容体遺伝子を探索してリストアップした。現在、他種のコホモログとの詳細な分子系統解析を行い、系統特異的な遺伝子数の増加の有無を調べ、各遺伝子のカースト間の発現パターンを解析している。また、シロアリに近縁なゴキブリ類の RNA-seq データからも各受容体遺伝子を特定し、分子系統解析を進めている。さらに、カースト分化に強く関係するホルモンシグナル遺伝子の発現パターンが、シロアリとゴキブリで異なるか否かを検証している。以上の結果は、複数の論文にまとめる予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>ヤマトシロアリのゲノム論文と複数のコンパニオン論文を作成中である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 27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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	シロアリの社会性進化に伴うゲノム変異の同定		
課題番号	19-336		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、シロアリとシロアリに近縁な昆虫であるゴキブリのゲノム配列を比較することによってシロアリの進化過程でどのようなゲノム改変が生じたのかを明らかにすることを目的とし、キゴキブリ属の一種 <i>Cryptocercus punctulatus</i> の全ゲノム解析を行った。キゴキブリは、シロアリの姉妹分類群であり、シロアリの進化過程を解析するためには不可欠な分類群である。しかし、キゴキブリにおいては、報告者らによりゲノム解読は行われていたが、シロアリとの比較ゲノム解析を行うために必要な、繰り返し配列の同定や遺伝子モデルの構築といった基礎的データ解析が行われていなかった。そこで本研究ではそれらの解析を行った。全ゲノム中に占める繰り返し配列の割合は、<i>C. punctulatus</i> では 65.90%であり、チャバネゴキブリ、ワモンゴキブリ、ネバダオオシロアリ、ダイコクシロアリの一種、ヤマトシロアリ、ナタールオオキノコシロアリにおいても同一の手法で同定したところ、それぞれ 59.50%、64.43%、29.32%、54.82%、43.10%、46.57%であった。この結果から、ゴキブリ類では繰り返し配列の割合が高く、シロアリの進化過程でその割合が少なくなったと考えられる。次に <i>C. punctulatus</i> において、これまでに得られている RNA-seq のデータや既知のアミノ酸配列を用いて遺伝子モデルの構築を行い、約 23000 のタンパク質コード遺伝子を同定することができた。今後は特にそれらのタンパク質コード遺伝子の相同遺伝子群を同定することによってゴキブリとシロアリの遺伝子配列の進化過程を明らかにし、自然選択圧の影響を受けた遺伝子を特定する。また、ゴキブリとシロアリでゲノム配列の比較をすることによって、タンパク質コード遺伝子領域以外のゲノム領域においても、自然選択圧の影響を明らかにする。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>タンパク質コード遺伝子やそれ以外のゲノム領域の自然選択圧の影響を調べた結果を学術論文としてまとめて、国際誌に投稿する予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月14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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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系におけるシロアリ社会行動制御の分子機構		
課題番号	19-337		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>【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機構やオオシロアリタケの子実体発生機構を明らかにすることを目的に研究を行った。</p> <p>【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(台湾シロアリ)が分布している。台湾シロアリの各種カーストを用いて、HiSeq による RNAseq を行なった。得られたリードを用いて de novo アセンブリで遺伝子のカタログを構築し、それらの中から、派生的なシロアリ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)合成酵素のホモログ遺伝子を特定した。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、台湾シロアリでは 3 つの遺伝子の存在が明らかになり、その一つが偽遺伝子化していることを確かめた。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、台湾シロアリでは全てのカースト・組織で発現している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、発現解析の結果をまとめ、現在論文執筆中である。</p> <p>また、日本の台湾シロアリは 2 種のオオシロアリタケ菌を栽培している。これらの菌は子実体の発生様式が大きく異なることが、フィールド調査により明らかになった。</p> <p>【考察及び展望】</p> <p>日本の 2 種のオオシロアリタケは、同じ種のシロアリに栽培されているにもかかわらず、異なる子実体発生様式を示すことから、台湾シロアリのワーカーの行動が子実体発生に影響をおよぼすと考えられた。これら 2 種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や、それぞれの菌を育てる台湾シロアリのワーカーの分業行動解析および比較トランスクリプトーム解析を行うことで、オオシロアリタケの子実体の発生に関わる遺伝子の特定や、子実体発生に与えるシロアリの行動を明らかにできる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Masaru Hojo, Shuji Shigenobu, Kiyoto Maekawa, Toru Miura, Gaku Tokuda (2019) Duplication and soldier-specific expression of geranylgeranyl diphosphate synthase genes in a nasute termite <i>Nasutitermes takasagoensis</i>. <i>Insect Biochemistry and Molecular Biology</i> 111: 103177.</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 27日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：長崎大学総合生産科学域（環境科学系）
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	社会性アブラムシの兵隊カーストに関する生態進化発生学的研究		
課題番号	19-338		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	九州大学比較社会研究院	助教	小川浩太
	長崎大学環境科学部	学生	須藤 啓

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>社会性昆虫において労働分業は、形態、行動の高度な分化によって変動する環境に対し適応的にふるまうことを可能にしている。これまで、労働分業を制御するメカニズムは、アリ類やシロアリ類、ハナバチ類を対象に検証されてきた。そのため、これまで明らかになってきた労働分業を制御するメカニズムが、昆虫においてどのように進化してきたかはよくわかっていない。そこで、本研究では、社会性アブラムシのササコナフキツノアブラムシ <i>Ceratovacuna japonica</i> においてどのような生理活性物質によって労働分業が制御されているか明らかにしようと試みた。ササコナフキツノアブラムシの労働分業は、不妊個体による捕食者からのコロニーの防衛に特徴づけられる。そこで、多くの生物において攻撃行動を誘導する生体アミン類であるドーパミンに着目した。</p> <p>本年度は、ドーパミン合成にかかわるチロシン水酸化酵素 (TH) とドーパ脱炭酸酵素 (DDC) をコードする遺伝子の発現量を調べる前段階として、遺伝子発現量を調べるためのプライマー作成を行った。まず、ササコナフキツノアブラムシのゲノム配列からエンドウヒゲナガアブラムシの TH 遺伝子と DDC 遺伝子の相同性検索を行い、得られた配列からプライマーを作成した。</p> <p>その結果、ササコナフキツノアブラムシがエンドウヒゲナガアブラムシの TH 遺伝子配列と相同性の高い遺伝子配列を 1 つ、DDC1 遺伝子配列もしくは DDC2 遺伝子配列と相同性の高い遺伝子配列を 3 つ持っていることが明らかになった。今後は得られた遺伝子配列をプライマーとして使用し、不妊個体と通常個体の間でドーパミン合成にかかわる遺伝子の発現量解析を行う。また、他の社会性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遺伝子発現パターンが見られるかどうかヒエツノアブラムシを用いて検証を予定している。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究で得られた結果は、第 68 回日本生態学会大会において発表予定である。また、社会性アブラムシで不妊個体の防衛行動と生体アミン類の関係を探った研究として昆虫生理学系の国際誌に投稿予定である。</p>

備考	本研究成果は、長崎県生物学会第 49 回大会においてポスター発表「真社会性アブラムシ、ササコナフキツノアブラムシの生理学的研究におけるゲノム配列解析およびプライマーの設計」により一部発表されている。
----	---

※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 (R1 年度)

令和 2 年 4 月 25 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： 佐藤昌直

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	遺伝子発現レポーターアッセイ多検体・並列解析系の構築:時間的解像度と多点観察のバランスが取れたレポーター系の確立		
課題番号	19-339		
研究期間	2019 年 4 月 1 日 ~ 2020 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
	東京大学定量生命科学研究所	講師	深谷 雄志
	北海道大学大学院農学研究院	修士課程	中西登志紀
	北海道大学大学院農学研究院	修士課程	関口真理

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>MS2、PP7 を用いた転写イメージングの系の開発は MCP-GFP 発現量を最適化するのが今年度中に行うのが難しいと判断したため、蛍光タンパク質をウイルス遺伝子プロモーターのレポーターとする系へ切り替えた(用いた Op2IE2 プロモーターでは MCP-GFP 発現量が多すぎ、バックグラウンドが高くなり過ぎていた。適度な発現量のプロモーター探索は時間を要すると判断した)。蛍光タンパク質レポーターウイルスの系として、感染開始期に発現する遺伝子と共に tagBFP2 (BFP)、感染最終期に mScarlet-i (RFP)を発現する組換えウイルスを作製した。この組換えウイルスを用い、</p> <p>(1) ウイルス感染後の 2 遺伝子プロモーター活性について蛍光イメージングを行なった。感染最終期に発現する多角体遺伝子プロモーターからの RFP 発現は感染後約 36 時間から発現を確認でき、ノーザンブロット等で確認された先行研究の結果と一致する結果を得た。感染開始の遺伝子発現 (IE1 遺伝子プロモーター) は蛍光確認に 16 時間ほどを要し、蛍光強度の強い他の蛍光タンパク質との入れ替え (上記 2 プロモーター間での RFP、BFP のスワップ) 等を検討する必要性が明らかになった。</p> <p>(2) 組換えウイルスのベクター部分 (大腸菌での複製起点、抗生物質抵抗性遺伝子等) にプロモーター無しの sfGFP を挿入し、感染後の蛍光発現を観察した。感染後期に GFP 蛍光が確認され、既知のプロモーター配列なしに GFP が発現している事が明らかになった。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>上述(2)については、関連する RNA-seq データを既に取り得しており、これらデータを合わせて 2020 年度内の論文化を目指す。</p> <p>(1) については分子生物学会、蚕糸・昆虫機能機能学術講演会等が 2020 年度に開催されれば、それらでの発表を検討している。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年9月22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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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 31 年度基生研共同利用研究 (19-340)		
研究期間	2019年 4月1日 ~2020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
	基礎生物学研究所 生物機能解 析センター	NIBB フェロー	坂本 丞

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>口腔内に取り込んだ食物の嚥下を決定するのは、口腔内の化学感覚（味覚と体性感覚）による好悪の判断（味情報の嗜好性）であり、生得的に決まっている。もっと食べるか、もう食べたくないかと判断する摂食欲求は、この味情報の嗜好性に加えて身体の状態や記憶などの要素も加味して決定される。さらに、この摂食欲求に連動して味の情報の強弱が変化する。このように、味覚と摂食欲求は双方向に影響していると言えるが、味の情報が、どのような情報との連合を経て摂食行動の制御に至るのかという高次の情報処理については未知の部分が多い。摂食行動の制御は動物にとって最も根源的な生理機能であることから、ヒトを含めた動物全般に共通する脳機能といえる。本研究は、この摂食行動という生物の根源的な生理応答に着目し、シンプルな脳モデルを用いることで、高次脳神経内の味覚の情報伝達・連合の様式を明らかにすることを目指す。</p> <p>本年度は、飼育環境の整備を行った。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在の時点では該当なし</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月15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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-341		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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	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2年	有菌 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	4年	上木 綾乃
	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	4年	伊藤 由佳子
	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	彦坂 悠衣

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。</p> <p>1) 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。この結果は Kyoto-Cab, drR-Tokyo のいずれの系統でも見られ、系統に関係なく再現されることがわかった。現在、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とともに、これまでに我々が歯周病原細菌に対して抗菌活性を見出した物質の処理後にインジェクションした場合に生存率が上昇するか検討している。</p> <p>2) 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。3ヶ月齢の Kyoto-Cab を用いて、通常の餌あるいは高脂肪食を3ヶ月間給餌したのちに、麻酔下で解剖し、肝臓組織の観察と体重に対する比率を測定した。その結果、高脂肪食では、肝臓及び内臓組織全体が白みがっており、肝臓重量/体重の比率も高脂肪食で高い傾向が認められた。また骨粗鬆症モデルとして、<i>tph2</i> 遺伝子ノックアウトメダカの分与を受精卵として譲与していただき、ホモノックアウトの作製を始めた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現時点では発表の予定はない。</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

2020年6月10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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-342		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	名古屋大学大学院生命農学研究科	大学院生	戸田 さくら

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>(1) まず亀井博士等とともに取り組んだ TILLING 法による CSS 変異体と TALEN 法による CSS 欠失体の研究論文については少なくとも 2 報の論文を準備中である。ただし、CSS ノックアウトメダカと 2 種類の CSS 変異体の 1 種類については、論文執筆途上で、さらに重要な表現型が特定の臓器において見出されてきたため、そのデータ解析を進めており、それが終了し次第、投稿する予定である。</p> <p>(2) CSS 遺伝子座に任意の変異体 CSS をノックインさせたメダカを作出する計画をしていたが、その技術の CSS 遺伝子に対する検証研究を先行している。実験者が急遽 4 ヶ月間の海外研修に行ったため、この研究は 2020 年度に引き続き取り組むことになっている。共同研究者の基生研の成瀬博士および亀井博士の指導と助言のもとに遂行している。</p> <p>(3)(2)の技術によって作出したメダカの解析であったが、上述の事情でまだ取り組めていない。</p> <p>(4) また、シアル酸転移酵素 ST については、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を作出した。また、現在、そのダブルノックアウトメダカの作出を計画して成瀬博士と相談しつつ 2020 年度での遂行のための準備を進めた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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、2 報の論文を執筆中である。</p>
<p>備考</p>	<p>新型コロナウイルス感染蔓延のため、当研究機関でも不慣れな種々の対応を迫られ、実施できなかった部分もあることを残念に思い、また、報告が遅れたことをお詫びいたします。</p>

※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）

2020年4月28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

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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とその関連タンパク質に関する創薬科学的研究		
課題番号	19-343		
研究期間	2019年 4月1日 ~ 2020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
	同上	大学院生	鈴木 里沙
	同上	大学院生	Meng Qi
	同上	大学院生	小栗 莉奈

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>【背景】高等動物においては、特定のタンパク質同士が不可逆に架橋される反応があり、トランスグルタミナーゼという酵素ファミリーによってなされる。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、この酵素反応の異常は様々な疾患症状をもたらす。ヒトでは8種類の酵素群が存在するが、メダカにおいて同様の機能分担をする酵素群を同定し解析してきた。各々に相当する遺伝子欠損個体を自身の研究室で取得するとともに、個別共同利用の中でその表現型解析、組織特異的発現のための方法と蛍光タンパク質観察に関する技術習得を目的として共同利用をさせて頂いた。特に2019年度は血液凝固の架橋化酵素をコントロールする酵素(トロンビン)の組織特異的変異体の取得にあたり、その実験操作手技の習得を主目的とした。</p> <p>【結果】新たな変異体の作製やゲノムDNA解析について技術支援を受けるとともに、計画および実験の方針について意見を仰いだ。稚魚のゲノムDNA解析方法を含めた遺伝子変異個体の確立についての実践手法を改めて習得した。また、変異個体(トロンビン)についての系統保存を委託した。</p> <p>導入変異体解析について共同利用でなければ行えないと判断した、蛍光標識タンパク質の発現解析方法を安齋博士および亀井准教授にご助言を頂いた。特に血液型酵素の欠損個体の血液凝固異常、蛍光標識タンパク質を対象にした遺伝子導入法について実験の相談・顕微鏡観察に関する指導を受けた。</p> <p>【考察及び展望】これまでタンパク質架橋酵素の変異個体は全て確立でき、昨年度まで変異個体と遊泳挙動についても論文発表に至る解析を完了した。今後は、遺伝子発現を解析する蛍光蛋白質の検出技術についてアドバイスを頂くと共に、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。</p> <p>・成果論文 Gene disruption of medaka (<i>Oryzias latipes</i>) orthologue for mammalian tissue-type transglutaminase (TG2) causes movement retardation. (2020) Watanabe Y, Okuya K, Takada Y, Kinoshita M, Yokoi S, Chisada S, Kamei Y, Tatsukawa H, Yamamoto N, Abe H, Hashimoto H and Hitomi K. J. Biochem. (in press) DOI: 10.1093/jb/mvaa038</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Establishment of thrombin gene-deficient medaka and its phenotype. (Manuscript in preparation)</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 24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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-344		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	基礎生物額研究所	特任准教授	亀井保博

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2018年度までに、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。また、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。現在までに、メダカインスリン抗体を固相に固定する抗体（二次抗体）以外のハイブリドーマの培養上清濃度、ビオチン標識メダカ合成インスリン濃度等を決定した。今後、二次抗体の種類、濃度、反応時間の決定に努め、抗メダカインスリンモノクローナル抗体による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。具体的な測定系確立後の具体的な予定は、メダカの若年期から老年期（実験室における寿命が2~3年）における血中インスリン濃度の公表である。必要サンプルは既に採取済みである。このような基礎的データは、実験動物の生理的特徴を把握するうえで重要と考える。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>この測定系を用いた研究成果を原著論文として比較内分泌もしくは実験動物に関する学術誌に発表予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

令和2年4月6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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	雌性配偶体特異的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	19-345		
研究期間	令和元年 4月 1日 ~ 令和2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
	新潟大学理学部	教授	西川周一

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>被子植物の有性生殖過程では、重複受精の際に観察される2回の精核融合と、雌性配偶体形成過程で観察される極核融合の、合計3回の核融合が観察される。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、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 <i>Cre-loxP</i> 部位特異的組換え誘導と雌性配偶体特異的 <i>ES2</i> プロモーターを組み合わせ、雌性配偶体特異的な遺伝子発現誘導系を構築した。</p> <p>われわれはこの実験系を用いて、核内膜の SUN タンパク質の極核融合過程への関与を明らかにしてきた。これまでに、発達中の雌性配偶体で SUN タンパク質に関する雄性欠損変異体の発現を誘導すると極核融合が欠損することから示し、極核融合に核内膜の SUN タンパク質が関与していることを示した。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。本年度は、KASH タンパク質との相互作用領域に変異を導入した SUN タンパク質優性欠損変異体の改変体を発達中の雌性配偶体で発現しても極核融合欠損がおこらないことを示し、SUN タンパク質と KASH タンパク質との相互作用が極核融合に必要であることを示した。これまでの成果を論文として発表した。本年度はまた、極核融合で機能する KASH タンパク質の同定や、精核融合における SUN タンパク質の関与の検討を行った。その結果、遺伝子発現誘導系の改良や新たな形質転換植物の作製が必要であることが判明した。現在、解析に向けて準備を進めている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>研究成果発表</p> <p>Hwang, D., Wada, S., Takahashi, A., Urawa, H., Kamei, Y., and Nishikawa, S. (2019) Development of a Heat-inducible Gene Expression System using Female Gametophytes of <i>Arabidopsis thaliana</i>. <i>Plant Cell Physiol.</i> 60: 2564-2572. doi: 10.1093/pcp/pcz148</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30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。

記

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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探索		
課題番号	19-346		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	慶應義塾大学理工学部	准教授	舟橋 啓
	慶應義塾大学理工学部	助教	山田 貴大
	慶應義塾大学理学系研究科	修士二年	齊藤 昂哉

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>細胞培養環境に対し、赤外レーザーを照射した場合の環境温度分布、細胞内温度分布を取得するにあたり、同時刻の分光データを得る目的で W-ViewSystem を利用したイメージングを行った。これにより多数の量子ドットのイメージを、波長を分けて同時に取得することができた。結果として、レーザー照射位置からの相対温度分布、細胞内の位置ごとの温度の時間変化を捉えることができた。</p> <p>現在、分担者との共同研究により、量子ドットを利用した温度イメージングに関して、ベイズ的最適化の結果、より狭い範囲の分光データを取得することが温度計測精度向上に貢献することが明らかとなったため、継続して同じ画像取得法を用いる場合には、より適切なバンドパスフィルタの準備などが必要であることが考えられる。</p> <p>また、これらのデータを踏まえて、現在同時に進めさせていただいている ExCELLS のプロジェクトにおいて、赤外レーザーを用いた温度刺激により、細胞を動かし細胞シートに作った傷を埋めるなどの実験を進めている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>一部成果を Biothermology Workshop 2019(2019年12月、京都龍谷大学)にて口頭発表した。</p> <p>また共同研究者と共に、論文1報を執筆中。</p>
<p>備考</p>	<p>分担者は研究室スタッフの入れ替えに伴い申請時(2018年12月)より変更となった。</p>

※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）

2020年4月10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/
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	メダカの顔認知に関わる神経基盤の解明		
課題番号	19-347		
研究期間	2019年4月1日 ～2020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
	岡山大学大学院自然科学研究科	助教	御輿真穂
	岡山大学大学院大学院医歯薬学総合研究科	助教	宮地まり

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>これまでにメダカは個体認知に基づく高度な社会行動を示すことを発見した。例えば、メスマダカは性行動前に長時間見ていたオスを視覚記憶し、個体認知を介して「親密性の高いオス」を配偶相手として選択し、「見知らぬオス」を拒絶する傾向がある (Science 2014)。さらにメスが「顔」を認知して、オスを見分けており、ヒトの心理学実験で有名な倒立顔効果がメダカにも生じることを見出した (elife 2017)。本年度はオキシトシン (OXT) とオキシトシン受容体 (OXTR1, OXTR2) をコードする遺伝子の変異体を作成して行動解析を行った結果、<i>oxt</i> または <i>oxtr1</i> のどちらかの遺伝子を欠損すると、メスは異性の好みを失い、「見知らぬオス」を「親密性の高いオス」と同じように受け入れることを発見した。よってオキシトシンもメダカメスの個体認知を介した配偶者選択に必要であることを新たに見出した。一方で、メダカはオスとメスで配偶戦略が異なっており、メスには異性の好みがあるが、オスは特に異性の好みを持たない。しかし、変異体オスは同じ水槽で育った「親密なメス」に対する異常な好みを持つことを見出した。よってメダカにおいてオキシトシンはメスとオスで逆の効果を持つことを発見した (PNAS 2020)。これに加え、オキシトシンの新規標的分子をして C1q を同定した。C1q がシナプス除去に関わる分子であり、雌雄にかかわらずシナプス除去を介して成熟する神経回路がメダカの顔認知や行動選択に関わる可能性があり、現在、検証実験を行っている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本年度の研究成果は 2020 年 2 月 18 日に Proceedings of the National Academy of Sciences 誌に掲載された (竹内が最終著者・責任著者)。東北大、北大、基礎生物学研究から共同プレスリリースを行った結果、NHK ニュース (北海道版、全国版) 等のメディア紹介された。また本研究の成果は 2019 年第 14 回国際ゼブラフィッシュ会議で招待講演で発表した。さらに 2020 年 6 月に国際神経行動学会 (ポルトガル・リスボン) の基調講演で発表する予定であったが、新型コロナウイルス感染防止のため 2022 年に延期されている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月29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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-348		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	広島大学両生類研究センター	技術員	鈴木 菜花

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>提案者らは生物の高温適応の実態とその分子遺伝学的基盤を解明するため、トカラ列島・口之島の天然温泉に生息するリュウキュウカジカガエルの高温応答遺伝子、HSF1 遺伝子に着目して研究を行っている。</p> <p>今年度は、これまでに行ってきた遺伝子発現データに加えて、リュウキュウカジカガエル及び、カジカガエルの全ゲノムシーケンスを行った。フローサイトメトリーによる解析によってリュウキュウカジカガエル及び、カジカガエルのゲノムサイズは 2.7 及び、2.8Gbp と推定されているため、100 倍のカバレッジ深度となるように両種とも 300Gbp の illumina データと 5Gb 程度の MinION によるロングデータとアセンブラとして Platunus-allee を用いてアセンブルを行った。その結果、Scaffold 長の N50 値で 300kbp のゲノムデータが得られた。</p> <p>今後は効率的にロングリードデータを取得し、より連続性の高いゲノムデータの構築を目指す。最終的にゲノムデータと遺伝子発現データ、亀井特任准教授、坂本特任助教らによる機能解析データを合わせて、二種における HSF 遺伝子及び、高温耐性関連遺伝子のゲノム上での発現調節部位や種間の違いについて解析を行い、種間の温度適応能の違いをもたらす分子遺伝学的基盤を明らかにしたいと考えている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>ゲノムと遺伝子発現データについて第 91 回日本動物学会米子大会において発表予定。</p>
<p>備考</p>	

※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（令和1年度）

令和 2年 5月 13日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：京都大学大医学研究科
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-349		
研究期間	平成31年 4月 1日 ~ 令和2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	森泉 元
	京都大学大学院医学研究科	修士1回生	山田 正翔

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>平成 29 年度と平成 30 年度に引き続き、令和元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。この行動実験では、実験対象個体を京都から基礎生物学研究所に移動させて、行動解析装置内でのメダカの自発行動を比較している。自発行動を観測する場合、外的要因により実験開始時のメダカの状態がばらつくとその行動に外的要因の影響が強くなるのではないかと考えられている。実際、平成 29 年度には、行動実験の解析結果から、3 日以下の順化期間では、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。そして、平成 30 年度は、順化期間を 4 日以上に設定して行動実験を行い、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る解析結果が得られた。そこで、令和元年度においては、順化期間を 4 日以上に設定し、タウタンパク過剰発現メダカとその対照群に対し、高年齢群と若年齢群を設定し、その 4 群の比較を行った。3 次元のオープンフィールドテストでの遊泳場所の比較では、タウタンパク質過剰発現や年齢の影響を示唆する結果が得られた。個別利用研究での行動実験では、暗所での 3 次元的な自発行動を観測しているが、京都大学での行動実験では、明所での視覚刺激による 2 次元的な自発行動を観測している。今後、この 2 つの行動実験の条件の違いを考慮し、詳細な比較検討を行って解析を深めることで、タウタンパク質過剰発現や年齢の影響について、明らかにすることを目指す。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	
<p>備考</p>	

※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）

2020年5月19日

基礎生物学研究所長 殿

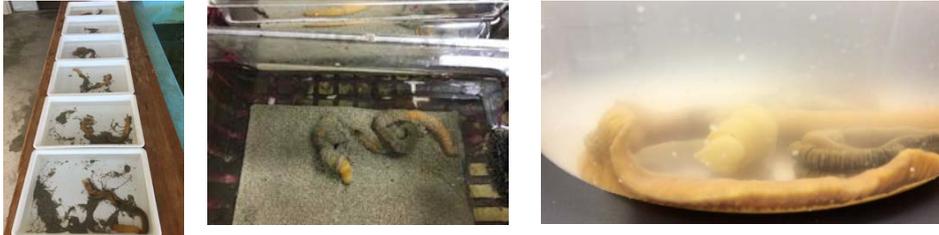
報告者 所属： 国立遺伝学研究所
氏名： 川島武士

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	半策動物ギボシムシの遺伝情報と表現型情報の整備およびそのゲノム編集系の確立		
課題番号	19-350		
研究期間	2019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	准教授	田川訓史
	慶應大学	准教授	堀田耕司

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2017 年から類似テーマで申請した三年目の申請である。過去二年ともサンプル採取がギボシムシ胚を実験利用する際の困難であったことから、本年はヒメギギボシムシではなくミサキギボシムシ (<i>Balanoglossus misakiensis</i>) に注目した。金沢大学能登臨海実験所の関口俊男助教と小木曾正造専門技術員の協力を得て、20 匹ほどのミサキギボシムシ個体を採集し、能登臨海で維持してもらった。産卵を誘発することが難しいため、自然に抱卵するタイミングを見計らうため、半数を基礎生物学研究所の地下実験室で飼育し、残りの半数を産卵期に宅配便の冷蔵で郵送することを試した。事前に移動させた 10 匹は、数週間は元気であったが、地下水槽で長期飼育することは難しく、産卵期の 8 月まで維持することができなかった。残りの 10 匹については、能登の水槽で健康な状態で維持され、十分に卵巣や精巣が発達した 8 月 5 日に基生研に郵送し、8 月 6 日の午前に受け取った。残念ながら郵送のショックで届いた時には 10 匹全ての個体が、郵送中に抱卵および放精してしまっていた。これらの卵と精子を使って受精を試みたが、受精は行われなかった。郵送のタイミングの見極めをもっと厳密に行うべきであった。上記の郵送個体から得た未受精卵と成体のサンプルは冷凍保管しており、2020 年度に行うメタボローム解析に用いる予定である。</p> <p>写真：(左)能登で採取されたミサキギボシムシ。(中)基生研地下水槽で飼育中のミサキギボシムシ。(右)8 月に郵送直後のミサキギボシムシ。抱卵した卵が観察される。</p> 
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>上記の通り、期待した胚のサンプルが得られなかったため、予定した固定胚の観察を行うことができなかった。ミサキギボシムシの未受精卵と成体のメタボローム解析を行う予定である。すでに実施済みのナメカジウオとメダカのメタボローム解析と合わせ、論文作成を進めたい。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年5月19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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-351		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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2年	西野 眞由

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>オス殺し RNA ウイルスの分子機構解明を目指して、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進めている。2019年度は、ウイルス特異的抗体の作製ができた。今後は確立した実験系と特異的抗体を用いてオス殺し因子の機能解析を行う。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>未定</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月7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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-352		
研究期間	2019年 4月1日 ~ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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ふ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。クロマチン結合ドメインを欠損させたホモ個体が致死であることが判明し、E7.5 から E8.5 で異常が出ることが判明し、現在ホモ個体から ES 細胞を樹立して、分化時の染色体分配以上を解析中である。一方、KMN 結合ドメインは、予想外にもホモ個体を得ることができた。これは、マウス発生時期に KMN と CENP-C の結合が不要であることを、示した重要な知見である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>すでに研究会などで発表しているが、よりデータを蓄積し、投稿論文にまとめる予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月7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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	イネと広宿主域根粒菌とのエンドファイト共生の成立機構の解明		
課題番号	19-353		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	鹿児島大学・高等教育研究開発センター	特任助手	橋本 駿
	鹿児島大学・大学院理工学研究科	学振特別研究員	福留 光拳
	スラナリ工科大学	大学院生	Teerana Greetatorn

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>根粒菌 <i>Bradyrhizobium</i> sp. SUTN9-2 は、土壌からイネの根組織内部へと進入し、エンドファイトとしてイネの生長を促進する効果がある。エンドファイト状態の菌体の形態は、根粒細胞内部で共生状態にある根粒菌の特徴と酷似しており、ニトロゲナーゼ活性を有する。マメ科植物は、根粒内でシステインリッチペプチドを使って根粒菌を制御しているが、<i>bacA</i> 遺伝子の変異根粒菌は、このペプチドに対する感受性が異常になり、共生状態へと変化することができない。本研究では、SUTN9-2 とその <i>bacA</i> 遺伝子破壊株を材料として、イネ破碎液によって誘導される形態と遺伝子発現の変化を比較・検討した。</p> <p>SUTN9-2 の <i>bacA</i> 破壊株は、イネ破碎液による菌体の伸張の程度、ニトロゲナーゼの活性、ともに野生株より低かった。このことは、根粒共生系と同様、イネとのエンドファイト共生にも <i>bacA</i> 遺伝子が関与していることを示唆している。RNA-Seq による網羅的な遺伝子発現解析の結果、イネ破碎液によって根粒菌の遺伝子発現が有意に変化することが明らかとなった。例えば、ある酸素添加酵素などの遺伝子と GroELS シャペロニン遺伝子の発現が強く誘導されたが、このことは、イネ組織内部では、イネからの作用を受けて、根粒菌自身が細胞中の酸素分圧を調節し、ニトロゲナーゼ活性を発揮している可能性を示している。もしそうならば、マメ科植物のレグヘモグロビンによる酸素分圧調節機構とは異なり、エンドファイト共生に特徴的な新規な共生機構であり、その解明に向けた重要な手がかりである。</p> <p>マメ科植物との根粒共生では、根粒菌のⅢ型分泌系から分泌される宿主植物の防御を攪乱する活性因子エフェクターが重要であるが、このⅢ型分泌系とエフェクターが、イネとのエンドファイト共生にとっても必要かどうかは興味を持たれるところであり、今後、遺伝子破壊株を作出して検討することとした。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究の成果をまとめた論文は、既に、Environmental Microbiology に投稿し、査読中である。また、根粒菌 SUTN9-2 の変異株の特性についても論文発表を目指して、草稿の準備に着手した。2020年9月に東京農工大にて開催予定の植物微生物研究会研究交流会での発表も計画している。</p>
<p>備考</p>	<p>特記事項なし。</p>

※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）

2020年4月27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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	アブラムシの共生器官特異的抗菌活性ペプチドの機能の解明		
課題番号	19-354		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	鹿児島大学・大学院理工学研究科	学振特別研究員	福留 光拳
	鹿児島大学・大学院理工学研究科	博士前期課程2年	瀬戸川 優也

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>エンドウヒゲナガアブラムシは、ブフネラとの共生器官であるバクテリオサイトで特異的に発現する7種のシステインリッチ短ペプチドの遺伝子を保持しており、BCR 遺伝子と名付けられている。本共同研究の目的は、アブラムシとブフネラとの共生における BCR の役割を明らかにすることであり、siRNA による BCR 遺伝子の発現抑制に取り組んだ。</p> <p>BCR1 及び BCR3 を標的として合成した siRNA を人工飼料に混合し、アブラムシに給餌した。給餌開始から2日後のアブラムシ個体の平均重量は、BCR1 及び BCR3 を標的とした siRNA を給餌した実験区では0.15mg 程度であったのに対し、siRNA を給餌しなかった対照区では約0.3 mg であった。また、siRNA 給餌区では、生存個体の約6割が0.1 mg 程度であるのに対し、対照区では0.5 mg を超える個体も存在した。しかし、生存率は、いずれの実験区も80%程度あり、siRNA の給餌の有無による差はなかった。BCR1 及び BCR3 遺伝子の発現を個体ごとに解析したところ、siRNA 給餌区では、発現量が50%から20%程度にまで低下している個体が存在した。3日後の生存率は、BCR1 及び BCR3 の siRNA 給餌区では、それぞれ、20%程度と5%以下であったのに対し、RNA を混合しなかった対照区では50%程度であった。これらの結果は、siRNA の給餌によって BCR 遺伝子の発現抑制が可能であり、さらに、BCR1 及び BCR3 遺伝子の発現量の低下は、アブラムシの成長に大きな影響を及ぼして致命的に作用することを示唆している。</p> <p>今後は、BCR1, BCR3 以外の BCR についても発現抑制の効果を検討し、加えて、siRNA を給餌したアブラムシのバクテリオサイト及びブフネラに生じている変化を明らかにして、BCR はブフネラとの共生に必須な分子であることを示したい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究成果については、重信教授と継続して密接に連絡を取り合っ て論文としてまとめ、学術誌で発表したいと考えている。</p> <p>2020年9月10日～12日の日程で熊本にて開催予定の第31回日本生体防御学会学術総会の「宿主と微生物の共生と排除(仮)」と題したシンポジウムで、植物と微生物の共生システムに関する講演を依頼されている。この講演では、マメ科植物による根粒菌の制御分子としての根粒特異的システインリッチ短ペプチドとアブラムシの BCR との生物学的アナロジーについて言及する予定であり、本研究成果の一部を紹介する。</p>
<p>備考</p>	<p>特記事項なし。</p>

※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）

2020年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：国立遺伝学研究所・遺伝形質研究系
氏名： 小田祥久

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	細胞骨格付随タンパク質の機能解析		
課題番号	19-355		
研究期間	2019年5月30日 ～ 2020年3月31日		
所内対応者	村田 隆		
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	佐々木 武馬

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>植物の細胞分裂では前期前微小管束やフラグモプラストといった特徴的な細胞骨格構造が細胞分裂の位置と細胞板の形成をそれぞれ制御している。フラグモプラストは対合した短い微小管の集合体であり、これらの微小管が細胞壁成分を赤道面へ送り込むことにより細胞板を形成する。我々はシロイヌナズナの微小管付随タンパク質 CORD がフラグモプラストに局在することを突き止め、本共同研究ではシロイヌナズナおよびタバコ BY-2 細胞を用いて CORD のフラグモプラストにおける機能を解析した。その結果、CORD はフラグモプラスト末端においてカタニンをリクルートし微小管の長さおよび伸張方向を制御していることが明らかとなった。今後は CORD がカタニンをリクルートする機構やフラグモプラスト末端に CORD が局在する仕組みについて調べることにより、フラグモプラストの構築機構が明らかになると期待される。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本共同研究の成果の一部は以下の論文で発表した。 Sasaki et al. (2019) Curr Biol, doi: 10.1016/j.cub.2019.09.049.</p>
<p>備考</p>	

※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（2020年度）

2020年 4月 5日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：九州大学 基幹教育院
氏名：松林 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植食性テントウムシにおける種分化に関わる遺伝子の特定と機能解析		
課題番号	19-356		
研究期間	2019年 5月 30日 ～ 2020年 3月 31日		
所内対応者	新実 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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>日本の植食性テントウムシであるヤマトアザミテントウ・ルイヨウマダラテントウ・エゾアザミテントウ（以後、ヤマト・ルイヨウ・エゾとする）は、それぞれアザミ専食・ルイヨウボタン専食・両方を併用という形で食性が分化した近縁種である。本研究では、味覚と嗅覚に関与すると考えられる触角と小顎髭、脚部ふ節の機能を調べるために、それぞれの部位を除去した個体を用意し、食草の抽出液を塗布したアガロースゲルの摂食時間を測定した。さらに、上記のヤマトとエゾのそれぞれ1集団に、ルイヨウで独立に生じた2集団を含む4集団について、アザミ・ルイヨウボタンそれぞれの抽出物を塗布したゲルと、コントロールとして水だけを塗布したゲルの両方を同時に与えて、コントロールに対してどれぐらいの選好性・忌避性を持つかを測定した。この2つの実験から、このテントウムシでは触角と小顎髭が食草選択に重要である一方、他のハムシなどのようにふ節は嗅覚・味覚受容にあまり使用していないということが明らかになった。さらに、上記の4集団のうち、ルイヨウボタンを専食するルイヨウについて、有意にアザミ抽出物を忌避することが判明した。</p> <p>このような触角と小顎髭の機能的役割を踏まえ、異なる祖先集団から複数回進化したルイヨウボタンへの特殊化に、どのような遺伝子が関わっているのかを明らかにすることを目的に、遺伝子発現の比較を行った。ヤマトとエゾのそれぞれ1集団に、ルイヨウで独立に生じた2集団を含む4集団の雌雄それぞれについて、共通食草を用いて新羽化成虫を育て、羽化後すぐに基礎生物学研究所において触角と小顎髭を10個体ずつ取り出し、10個体ごとにまとめてトータルRNAを抽出した。その後、国立遺伝学研究所においてmRNA-seqを行ない3種4集団の触角と小顎髭において発現量の比較を行った。結果が得られて間もないため、発現した遺伝子のプロファイルを作成している最中であるが、すべてのサンプルについて十分な量と質の遺伝子が得られている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>以上の結果を基に、まず種間で発現に差のある遺伝子のうちで、嗅覚や味覚に関与するとされるOBP、ORなどを中心に候補遺伝子を複数検出する予定である。その後、改めて基礎生物学研究所においてRNAiによる発現抑制を行い、その成虫の食性をスクリーニングすることで、食草選択に関与する遺伝子を特定する計画になっている。</p> <p>成果については遺伝子の特定までを一つのプロジェクトとして行っているため取りまとめにはもう少し時間がかかるが、すでにRNAiの手法と食性スクリーニングの系が確立しているため、遺伝子の候補が絞り込めればすぐに機能解析に移ることができると予想している。</p>
<p>備考</p>	

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2020年 4月 2日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：神奈川大学理学部生物科学科
氏名：豊田賢治

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	有用海産甲殻類の幼生変態を司る内分泌動態の解明		
課題番号	19-357		
研究期間	2019年 7月 8日 ~ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本年度はクルマエビ (<i>Marsipenaeus japonicus</i>) の幼生ステージの継時的サンプリング (ノープリウス、ゾエア、ミシス、ポストラーバ) を実施し、LC-MS 分析用にメタノール：1%酢酸水溶液抽出物を作製した。LC-MS の測定対象は甲殻類の幼若ホルモンである methyl farnesoate (MF) と脱皮ホルモンの 20-hydroxyecdysone (20E) とし、森友子技術職員のサポートのもと、MF と 20E の両標品の分析条件を確立するに至った。実際、ゾエア期のサンプルを用いて分析したところ、20E は感度良く検出できていたが、MF は検出限界以下であった。今後は、ゾエア期以外のステージ、もしくは異なる脱皮周期のサンプルで 20E と MF の同一検体からの検出が可能かを見極め、クルマエビ幼生ステージの 20E/MF のホルモン動態を明らかにする。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在のところ未定です。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 近畿大学・生物理工学部
氏名： 大和 勝幸

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	基部陸上植物における精子走化性の分子機構		
課題番号	19-358		
研究期間	2019年 7月 8日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	長谷部 光泰		
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
	近畿大学生物理工学部	D3	十川 太輔
	近畿大学生物理工学部	M1	栗本 聡宣

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究は、蘚類ヒメツリガネゴケの精子走化性関連遺伝子を破壊し、その遺伝子の精子走化性および受精における役割を明らかにすること、そして苔類ゼニゴケのホモログとの機能を比較して基部陸上植物がもつ精子走化性メカニズムのなりたちおよび進化を理解することを目的としている。</p> <p>ゼニゴケにおいて見いだされたイオンチャネル遺伝子 <i>MpVICSPER</i> は精子走化性に必須であることが報告者らの実験により明らかにされている。一方、このホモログがヒメツリガネゴケでも見いだされているため、遺伝子破壊によりその機能解析を試みた。</p> <p>まず、標的遺伝子 <i>PpVICSPER</i> 全体を薬剤耐性遺伝子と置換し、欠失させるためのコンストラクトを作成した。その後、そのコンストラクトをヒメツリガネゴケに導入し（所内対応者研究室にて実施）、複数の遺伝子破壊株を得た。<i>Ppvicsper</i> 株の茎葉体、造精器、造卵器に明確な形態異常は見られないものの、野生株が孢子を形成する環境においても <i>Ppvicsper</i> 株は孢子を形成しなかった。これはヒメツリガネゴケにおいてもこのイオンチャネル遺伝子が受精に必須である可能性を示唆している。</p> <p>今後は <i>Ppvicsper</i> 株の精子について形態、運動能、精子走化性を解析する必要がある。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>さらにデータを得た上で本年度に開催される学会における発表を予定していたが、COVID-19 対策により研究活動を一時的に中断せざるを得ない状況になっている。発表には上記の通り <i>Ppvicsper</i> 株精子について詳細な解析が必須であるため、発表は研究活動が再開されてからとなる。</p>
<p>備考</p>	

※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 2019

Date (Day/Month/Year)
03/04/2020

To Director General of NIBB

Principal Investigator Name : Prof. Yang Liu
Institution : Sun Yat-sen 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

Functional investigation of ApoD gene family in fishes

3. Project number

1 9 – 3 5 9

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

Form 16th/Sep/2019 to 13th/Nov./2019

5. Host researcher

Prof. Kiyoshi Naruse

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name
NIBB	Professor	Kiyoshi Naruse
Sun Yat-sen University	Researcher Associate	Langyu Gu

7. Outline of research results and future prospects*

There are two ApoD gene clusters located on two chromosomes in medaka. One cluster (cluster I) includes copy A1 which is highly expressed in the skin in adult stage; copy B2a and B2b which are highly expressed in gonad tissues. The other cluster (cluster II) includes three tandem duplicated genes, copy A2a, A2b and A2c, which are highly specifically expressed in gills in adult stage. The expression patterns of the three duplicated genes in gills in cluster II were further confirmed by *in situ* hybridization (learned from Dr. Hashimoto in Nagoya University, recommended by Prof. Naruse).

To investigate the function of ApoD genes, we designed two circoRNAs to delete the whole gene region. Considering about the expression redundancy of the three ApoDs (A2a, A2b and A2c) in cluster II, we designed circoRNAs to delete the whole cluster. To get the KO F0 fish to the largest extent, we added tracerRNA into our injection system so that we can easily judge whether the injection into the animal pole is successful by tracking the fluorescence under the fluorescent microscopy 1-2 hours after injection.

We first test whether the KO efficiency of the designed circoRNAs is high enough. To do this, we did pre-experiments for each pair of circoRNAs. DNA of randomly picked injected embryos (2 days after fertilization) (8 embryos in total) and the control embryos (8 embryos in total) were extracted, respectively. PCR primers crossing target regions were designed, i.e. for KO single gene/cluster is ca. 500bp, for wild-type single gene is ca. 1kb, and for wild-type gene cluster is ca. 10kb). The KO efficiency of all these four pairs of designed circoRNAs are high enough (60% to 90%).

We then successfully built all the four KO lines of ApoD genes/clusters in medaka. The F0 embryos were raised to larval stage and the trace DNA at the larval stage were extracted. PCR amplification were performed to confirm the KO in the F0 founder using the same system as we mentioned above. Luckily, we got KO F0 mating pairs for each KO ApoD gene/cluster, so that we can get homozygous KO fish by

crossing males and females successfully. Sanger sequencing were further performed to confirm the KO of the target region.

With these KO fish lines, we can go further phenotyping to see whether the interruption of ApoD genes/cluster affect normal development. Firstly, we will focus on the target highly expressed tissues, including skin, gonad tissues (ovary and testis), eyes and gills, especially at the adult stage (based on previous RNAseq analyses). We will first do hematoxylin-eosin (HE) staining on the target tissues to see whether there are detectable changes at the tissue level. Then, we will compare expression profiles of tissues between mutant line and wild-type line to find affected genes. This will also give a clue about the mutant changes at the molecular level. Then we will use antibodies of the corresponding tissues and cells, as well as design *in situ* probes to see whether there are changes at the cell level between mutant and wild-type lines. If we find mutant phenotypes, we can further focus on the mechanism of neofunctionalization and subfunctionalization of ApoD gene clusters in the future.

Based on previous bioinformatics evolutionary analyses, we predict that ApoD genes are important during evolution, so that might affect the development of corresponding tissues very likely. Even we could not find any detectable mutant phenotypes at the end, this is also a good scientific result which investigate the function of ApoD gene clusters for the first time. Besides, studying the mechanism driving the highly specific expression patterns of ApoD genes and why they are kept in clusters are also interesting. The project here thus makes a very good practice for further collaboration.

8. Publications or publication plan*

Related publication (background):

1. Langyu Gu* and Canwei Xia, Cluster expansion of apolipoprotein D (ApoD) genes in teleost fishes. 2019. BMC Evolutionary Biology. 19(1):9.

Publication plan:

1. Langyu Gu*, Kiyoshi Naruse*, First functional investigation of ApoD gene clusters in medaka. *In preparation*.

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）

2020年4月6日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：久留米大学 分子生命科学研究所
氏名：佐野 浩子

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ライブイメージングと数理モデリングによる糖感知機構の解析		
課題番号	19-360		
研究期間	2019年 9月 1日 ~ 2020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
	基礎生物学研究所生殖細胞研究部門	特別共同利用研究員	佐藤 俊之

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>1. 研究成果の概要</p> <p>ショウジョウバエ脂肪体の培養系における細胞内グルコース濃度と転写因子 Mondo の細胞内局在を同時にイメージングするための実験系を構築した。グルコース濃度に応じた緑色蛍光を発する GreenGlifon (Mita et al., 2019) を脂肪体で発現させるためのコンストラクトをゲノム上に挿入した系統を作製した。Mondo を可視化するために、CRISPR/Cas9 システムを用いて、Mondo タンパク質翻訳領域の C 末端に mApple 蛍光タンパク質をノックインした系統を作製した。固定サンプルにおいては、両マーカーとも検出に十分な蛍光を発することが明らかになった。</p> <p>2. 今後の展望</p> <p>作製した系統を用いてライブイメージングが可能であるかを検討する。検討事項としては、シグナル検出条件（レーザーパワー、検出感度、検出頻度など）、グルコース濃度を経時的に変化させるための培養システムの検討、核染色マーカーの選定が挙げられる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>報告者が所属する日本発生生物学会および日本分子生物学会年会等において成果発表を行う予定である。</p>
<p>備考</p>	<p>2020年3月10日~12日の予定で生殖細胞研究部門を訪問し、作製した系統のライブイメージングを行う予定であったが、新型コロナウイルスの感染拡大のため中止した。代替として、3月11日に吉田松生教授および佐藤俊之研究員とオンラインでの研究打ち合わせを行った。</p>

※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

- 19-401 昆虫新奇形質の形成メカニズムの解明
新美 輝幸 基礎生物学研究所進化発生研究部門 進化発生研究部門
- 19-402 D14L/KAI2 経路で働く新規アーバスキュラー菌根共生シグナル分子による植物の遺伝子発現応答の解析
亀岡 啓 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 大学院生命環境科学研究科
- 19-403 ミズタマショウジョウバエ模様形成因子の探索
越川 滋行 北海道大学地球環境科学研究院 地球環境科学研究院
- 19-404 アストロサイトによる慢性疼痛への治療アプローチ
竹田 育子 生理学研究所生体恒常性発達研究部門 生体恒常性発達研究部門
- 19-405 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 基礎工学部
- 19-406 エダアシクラゲを用いた環境応答および再生を制御する機構の解明
中嶋 悠一朗 東北大学学際科学フロンティア研究所 学際科学フロンティア研究所
- 19-407 特異的な脂質を蓄積する植物の脂質生合成機構の解明
真野 昌二 基礎生物学研究所オルガネラ制御研究室 オルガネラ制御研究室
- 19-408 ホタルにおける発光形質の進化プロセスの解明と地域個体群の保全を志向した、ポストホタルゲノムとしてのメタボロミクスとリシーケンス解析
大場 裕一 中部大学応用生物学部 応用生物学部
- 19-409 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 医学部
- 19-410 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学研究科 大学院生命理学研究科

- 19-411 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 大学院総合文化研究科
- 19-412 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 農学部
- 19-413 ゲノム解析、及びトランスクリプトーム解析によるネコブセンチュウの病原性機構の解明
門田 康弘 理化学研究所環境資源科学研究センター 環境資源科学研究センター
- 19-414 昆虫工場で作製したVLP (Virus like particle) 内容物の解析
日下部 宜宏 九州大学農学研究院 農学研究院
- 19-415 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 大学院総合文化研究科
- 19-416 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 生命科学部
- 19-417 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 生命創成探究センター
- 19-418 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 農学部
- 19-419 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 農学部
- 19-420 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 森林総合研究所
- 19-421 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 生物プロセス研究部門
- 19-422 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
北條 賢 関西学院大学理工学部 理工学部

- 19-423 生体内少数細胞から代謝物質を測定する新規方法 (TriVersa-qTOF 法) の開発の試み
林 良樹 筑波大学生存ダイナミクス研究センター 生存ダイナミクス研究センター
- 19-424 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 基礎生物学研究所神経行動学研究部門 神経行動学研究部門
- 19-425 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 上智大学理工学部物質生命理工学科 理工学部物質生命理工学科
- 19-426 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 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
- 19-427 根圏における植物-放線菌相互作用の分子機構の解明
石垣 祐二 理化学研究所環境資源科学研究センター 環境資源科学研究センター
- 19-428 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 東北大学生命科学研究科 生命科学研究科
- 19-429 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先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域 先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域
- 19-430 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 新潟大学自然科学系 (農学部) 自然科学系 (農学部)
- 19-431 出生前後におけるライディッヒ細胞の分化転換機構の解明
嶋 雄一 川崎医科大学解剖学教室 解剖学教室
- 19-432 精子形成における CCR4-NOT 脱アデニル化酵素複合体による転写後制御の解析
柳谷 朗子 沖縄科学技術大学院大学細胞シグナルユニット 細胞シグナルユニット

- 19-433 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 農学部
- 19-434 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
新田 梢 東京大学大学院総合文化研究科 大学院総合文化研究科
- 19-435 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
川口 将史 富山大学大学院医学薬学研究部 大学院医学薬学研究部
- 19-436 根粒共生およびアーバスキュラー菌根共生の分子機構と進化の解明
川口 正代司 基礎生物学研究所共生システム研究部門 共生システム研究部門
- 19-437 生物進化の分子機構の解明
長谷部 光泰 基礎生物学研究所生物進化研究部門 生物進化研究部門
- 19-438 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 国立遺伝学研究所系統生物研究センター 系統生物研究センター
- 19-439 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 大学院農学生命科学研究科
- 19-440 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 環境・生命工学系
- 19-441 クローニ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
古瀬 幹夫 生理学研究所細胞構造研究部門 細胞構造研究部門
- 19-442 Patch-seq を用いた大脳皮質神経回路内における抑制性サブタイプの機能解析
森島 美絵子 生理学研究所大脳神経回路論 大脳神経回路論
- 19-443 昆虫—微生物共生可能性の探索と分子基盤の解明
古賀 隆一 産業技術総合研究所生物プロセス研究部門 生物プロセス研究部門
- 19-444 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 首都大学東京理学部 理学部

- 19-445 マウスの発生・成長に伴う生殖細胞の系譜動態と、変異や環境変化による遺伝子発現変動の解析
吉田 松生 基礎生物学研究所生殖細胞研究部門 生殖細胞研究部門
- 19-446 新口動物に共通する生殖ホルモンとしてのリラキシンの研究
吉国 通庸 九州大学大学院農学研究院 大学院農学研究院
- 19-447 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
坂口 和靖 北海道大学大学院理学研究院 大学院理学研究院
- 19-448 オオミジンコのエピゲノム解析
渡邊 肇 大阪大学工学研究科 工学研究科
- 19-449 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生物生産学科 水産大学校生物生産学科
- 19-450 MBGD と MAPLE システムの融合によるゲノム解析の高度化
高見 英人 海洋研究開発機構海底資源研究開発センター 海底資源研究開発センター
- 19-451 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 農学生命科学部
- 19-452 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に対する魚類の応答解析
紫加田 知幸 水産研究・教育機構瀬戸内海区水産研究所 瀬戸内海区水産研究所
- 19-453 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科 定量生命科学研究科
- 19-454 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
小林 一三 杏林大学医学部感染症学教室 医学部感染症学教室
- 19-455 実用珪藻キートセラスのゲノム解析と遺伝子発現データベースの構築
伊福 健太郎 京都大学大学院生命科学研究科 大学院生命科学研究科

- 19-456 R ベースのアンプリコン解析用 web アプリケーション：CLiCKAR の導入と運用
飯田 緑 九州工業大学大学院情報工学研究院 大学院情報工学研究院
- 19-457 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 基礎生物学研究所初期発生研究部門 初期発生研究部門
- 19-458 PacBio Sequencer を用いた DNA ミスマッチ直接検出法の確立
竹本 訓彦 国立国際医療研究センター感染症制御研究部 感染症制御研究部
- 19-459 軟体動物クサイロアオガイのゲノム解読と系統特異的転写因子の役割の解明
守野 孔明 筑波大学生命環境系 生命環境系
- 19-460 テトラヒメナにおける大規模ゲノム再編成機構の解明
片岡 研介 基礎生物学研究所クロマチン制御研究部門 クロマチン制御研究部門
- 19-461 scRNA-seq から探る進化的に保存された脊椎動物器官形成期の細胞構成解明
入江 直樹 東京大学大学院理学系研究科 大学院理学系研究科

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2020年 4月 30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-401		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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、昆虫が獲得した性決定メカニズムや鱗翅目昆虫が獲得した二型精子形成、一对の器官で見られる左右非対称性、生殖巣の再生などにも着目する。</p> <p>研究材料には、既にゲノムを解読し、角や斑紋形成に關与する遺伝子を多数同定したカブトムシ、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る。次世代シーケンサーを用いた網羅的な解析により、上記現象に關与する遺伝子群の同定を目指す。</p> <p>カブトムシについては、これまでの次世代シーケンサー共同利用研究により、ゲノム概要配列の解読を完了し、scaffoldの N50 が 2.4 Mb と非常に良好な結果を得た。今年度は、重信教授との共同研究により、カブトムシの角原基組織を用いた ATAC-seq 法の確立を試みた。ATAC-seq 法では、オープンクロマチン領域を網羅的に解析することが可能であるため、角形成に關与するエンハンサー候補領域を推定することが可能である。上記のカブトムシゲノムを用いてオープンクロマチン領域を検出することに成功し、カブトムシゲノム論文の投稿に向け、準備を進めている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

別紙

	所属 (大学・学部・研究科等)	職 名	氏 名
提案代表者以外 の共同利用 研究者の所属・ 職・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	助教	中村太郎
	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	研究員	森田慎一
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	研究員	酒井弘貴
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	研究員	小長谷達郎
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	研究員	竹中將起
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	特任研究員	川口はるか
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	大学院生	千頭康彦
	基礎生物学研究所・進化発生研究部門	大学院生	北沢友梨奈
	名古屋大学・大学院生命農学研究科	助教	兒島孝明
	国立遺伝学研究所・生態遺伝学研究部門	研究員	後藤寛貴
	The University of Montana Division of Biological Sciences	Professor	ダグラス エムレン Douglas J. Emlen

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2020年 4月 8日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪府立大学
氏名：亀岡啓

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	D14L/KAI2経路で働く新規アーバスキュラー菌根共生シグナル分子による植物の遺伝子発現応答の解析		
課題番号	19-402		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2019年 3月 21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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究ではストリゴラクトン受容体パラログである D14L/KAI2 に受容される未同定植物ホルモンを単離し、単離した植物ホルモンに対する植物の応答をトランスクリプトームレベルで明らかにすることを目的としている。</p> <p>申請者はこの未同定植物ホルモンのアッセイ系を確立し、精製を進めていたが、申請の段階で検出できていた活性は偽陽性であることが判明した。現在はアッセイ系を再検討し、同様の偽陽性が出ない系で精製を進めているが、本年度中に活性物質を単離することができなかった。そのため、当初計画していた RNA-seq を行うことができなかった。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月3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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-403		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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 でき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。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 シグナリングによって制御される遺伝子を同定するため、翅の縦脈に沿って <i>wingless</i> 遺伝子を過剰発現させた系統でもライブラリー作成・NextSeq によるシーケンスを行った。その結果として、<i>wingless</i> の制御下にあり、かつ模様がで できる場所で発現するシグナルリガンドや転写因子、メラニンの合成に関与する効果遺伝子を同定することができた。</p> <p>今後は、これらの遺伝子の機能解析を進めるとともに、トランスクリプトームを活用したミズタマシヨウジョウバエのゲノムのアノテーションにも取り組んでいく予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2019 年度に得られた成果は、The 5th Asia Pacific Drosophila Research Conference で発表したほか、論文にまとめて bioRxiv に公表し、国際査読誌に投稿中である。</p>
<p>備考</p>	

※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）2020 年 5 月 18 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：生理学研究所生体恒常性発達研究部

門

氏名： 竹田 育子

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	アストロサイトによる慢性疼痛への治療アプローチ		
課題番号	19-404		
研究期間	2019 年 4 月 1 日 ~ 2020 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
	生体恒常性発達研究部門	助教	江藤 圭
	生体恒常性発達研究部門	教授	鍋倉 淳一

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>今回我々はアストロサイトを治療ターゲットとした慢性疼痛の治療法とそのメカニズムを検討した。神経障害性慢性疼痛モデルとして用いた坐骨神経部分結紮モデルでは、アストロサイト活性化により通常の触覚反応に戻る治療効果を認めた。アストロサイト特異的に活性化する方法としてアデノ随伴ウイルスを用い、アストロサイト特異的マーカーである GFAP プロモーター下に hM3Dq-mCherry (Gq-DREADD) を発現させ、合成リガンドである Clozapine N-oxide (CNO) を投与にて活性化を起こした。このアストロサイト活性化による影響を検証するため、DREADD 発現部位の脳組織を切り出し、mRNA を抽出しており、この後 RNA シークエンスによる遺伝子解析発現を行う予定である。また、シナプスによるスパインの変化の検証では、アストロサイトの活性化によりシナプスのターンオーバーの増加が認められた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>今後国際雑誌に投稿予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-405		
研究期間	2019年4月1日 ～2020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	准教授	宮川信一
	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
	東京理科大学・基礎工学部	博士研究員	宮奥香理

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本共同研究は、クサガメ (<i>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。クサガメでは、胚発生ステージの約10日間に生殖腺が形成され、26℃ 孵卵でオス、31℃ 孵卵でメスが誘導される。本共同研究では、温度感受期に着目し、雌雄を誘導する温度条件と複数の胚発生ステージにおける生殖腺での RNAseq 解析を行なった。</p> <p>これまでの解析で、<i>de novo assembly</i> から DEG 解析、gene ontology や KEGG のエンリッチメント解析、発生時系列依存的に発現量が変動している遺伝子のピックアップを完了した。</p> <p>さらに、温度感受期の生殖腺において特定の代謝物が蓄積量に明瞭な雌雄差があることを見出し、LC-MS 分析によってその代謝物周辺の低分子量の測定を進めている。本年度はアカミミガメ卵を用い、各候補分子の LC-MS の検出条件の検討を行なった。今シーズン以後に再度定量解析を試みる予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>クサガメの発生時系列 RNAseq データに関しては、現在論文を執筆中であり、来年度中の出版を予定している。アカミミガメの性分化における代謝産物の影響解析についても来年度中の論文投稿予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	エダアシクラゲを用いた環境応答および再生を制御する機構の解明		
課題番号	19-406		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	東北大学・大学院生命科学研究科	修士課程 大学院生	富士田壮佑

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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、「温度変化に応答して形態リモデリングを行う仕組み」および「ライフサイクルを通じて再性能を維持する仕組み」について、分子レベルでの理解を目指すものである。これまでに、研究室内環境で温度変化させる(4度↔20度)ことによって、stolon から polyp への遷移を温度応答によって制御する系を確立した。本年度は昨年度からの継続として、温度条件で異なる形状を示す polyp と stolon の変遷に関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目的とした。(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, (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、という異なる6つのサンプル群を用意して、それぞれの total RNA を元にして、基礎生物学研究所でライブラリー作成を行い、シーケンスまでを完了した。現在、温度応答に関する遺伝子発現変化を抽出すべくインフォ解析にあたっている。一方、medusa 個体における触手 (tentacle) の再生に注目したプロジェクトに関しては、再生中の触手だけでなく、隣接する触手においても興味深い再生応答を見出している。再生中の触手、隣接する触手のそれぞれのサンプルを RNA-seq して遺伝子発現変化を明らかにすることで、触手再生に関する局所や全身性の分子メカニズムを理解することができると期待している。現在、再生過程の触手や隣接触手のサンプルを集めているところである。こちらも、来年度に RNA-seq を行い、インフォ解析までを完了する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p><i>Cladonema</i> の温度応答に関する成果は国際学会である“<i>At the roots of bilaterian complexity: insights from early emerging metazoans</i>”(通称 Hydra meeting) (2019年9月)にて発表した。また <i>Cladonema</i> の触手再生については、基礎生物学研究所で行われた「第2回再生異分野融合研究会」(2019年8月)にて分担者である大学院生の富士田がポスター発表を行った。新規モデルとして <i>Cladonema</i> を使用して環境応答や再生メカニズムの理解を目指した研究発表は、参加者から概ね良い反応を得ている。温度応答に関しては、現在 RNA-seq のデータを解析している最中であり、これまでに研究成果の論文発表はない。細胞生物学的な結果と合わせて、研究成果を論文として発表する予定である。</p>
<p>備考</p>	<p>申請者の提案は令和2年度の「モデル生物・技術開発共同利用研究」に採択された(20-203)。こちらでは、<i>Cladonema</i> のゲノム解読やステージごとの遺伝子発現情報を整備する予定である。また、<i>Cladonema</i> の遺伝子操作法の確立についても今後重点的に進めることが、一連の研究の発展に必要である。</p>

※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：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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	特異的な脂質を蓄積する植物の脂質生合成機構の解明		
課題番号	19-407		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020年3月31日		
所内対応者	基礎生物学研究所生物機能分析室 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
	基礎生物学研究所オルガネラ制御研究室	特任助教	金井雅武
	基礎生物学研究所生物機能分析室	技術職員	山口勝司

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ヒマとチャ種子の登熟期の各ステージから調製した RNA を用いて、RNA-seq のライブラリーを作製し、Illumina 社製の NextSeq を用いて全転写産物解析を行った。得られたデータを用いてバイオインフォマティクス解析を行い、ヒマとチャ種子登熟期の遺伝子発現プロファイルを得た。これは、ヒマ、チャ種子それぞれに特徴的な脂質代謝経路の存在を示唆しており、特徴的な種子貯蔵脂質を作り出す基盤となると考えられる。今後は、それぞれに特徴的な脂質代謝経路の詳細な解析を進める。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>金井雅武、杉浦（中井）篤、山口勝司、重信秀治、真野昌二「茶油の有効利用に向けたチャ (<i>Camellia sinensis</i>) 種子のトランスクリプトーム解析」第 42 回日本分子生物学会（博多）2019 年 12 月 6 日</p> <p>金井雅武、杉浦（中井）篤、山口勝司、重信秀治、真野昌二「チャ (<i>Camellia sinensis</i>) 種子における脂質合成の特徴」第 61 回日本植物生理学会年会（大阪大学）2020 年 3 月 21 日</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年5月20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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ホタルにおける発光形質の進化プロセスの解明と地域個体群の保全を志向した、ポストホタルゲノムとしてのメタボロミクスとリシークェンス解析		
課題番号	19-408		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	遺伝学研究所 生命情報研究センター	助教	川島 武士
	遺伝学研究所 生命情報・DDBJセンター	准教授	櫻井 望

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>○ヘイケボタルの野外個体の採集を行い、愛知（稲沢市祖父江町、岡崎市）、北海道（釧路市、足寄町）、長崎（長崎市相馬町）、下関（豊田町）の6個体群のサンプルを得ることに成功した。当初の計画以上の多くの地点から個体が多量に得られた。</p> <p>→野外個体群について、解析個体数とサンプリングの産地を増やす計画である。特に、集団の絶滅が心配される小集団や、人為的な保護活動により集団サイズが大きくなった個体群などを集める。</p> <p>○野外個体のリシーケンスを行った。具体的には稲沢2個体、北海道6個体、長崎2個体、岡崎4個体、下関2個体、Ikeya-Y90黒化系統1個体を解析した。ポピュレーション解析の結果北海道の個体が主成分分析において他から大きく離れた結果が初めて得られた。</p> <p>→さらに詳しい個体群動体の解析を行う。</p> <p>○全ゲノム解読したヘイケボタル系統 Ikeya-Y90 について、新バージョン（ARKS+LINKS）のゲノムアセンブリを行い、繋がりの良いアセンブリが得られ、N50= 8.15Mbp に達した。</p> <p>→今後これらのデータを用いて、性染色体の探索や、最近中国で進められている中国産ホタルゲノムとのシntenニー解析などを行う。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>日本分子生物学会（12月神戸）で成果の一部を発表予定。</p>
<p>備考</p>	<p>なし</p>

※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5月 19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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-409		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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	研究助手	佐藤 世都子

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。2019年度は、カスリショウジョウバエのデータについて、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、キイロショウジョウバエ、アナナスショウジョウバエとの比較を行うことを計画した。遺伝学研究所との共同研究により得たカスリショウジョウバエのゲノムシーケンス情報と、カスリショウジョウバエ成虫のトランスクリプトームデータより、遺伝子予測を行うとともに、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で共通する遺伝子パラログリストを作成した。カスリショウジョウバエのデータを得たのち、パラログ遺伝子に注目した比較を行う予定でいたが、諸般の事情により、そこまで解析が至らなかった。</p> <p>共同研究としては期間が終了してしましたが、なんとか今後解析を進めるとともに、得られたデータをまとめて、論文として公表したいと考えている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>未定</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月24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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-410		
研究期間	2019年 4月 1日 ～2020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
	兵庫県立大学大学院生命理学	教授	八田公平
	基礎生物学研究所形態形成	教授	上野直人

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、消化管の神経系を構成する各種の腸神経細胞の分化を制御する転写因子や、それら神経細胞を特徴付ける神経伝達物質合成酵素を RNA-seq 法で単離する。そして、それらの機能解析や、その結果に基づく各腸神経細胞の可視化を行うことを目的としている。そのため前年度までに、ゼブラフィッシュの受精後 5 日の幼生の腸を対象として、「分化した腸神経細胞」、及び、「分化した腸神経細胞とその前駆細胞」の RNA を抽出、cDNA ライブラリーを作成し、次世代シーケンサーによる配列解読まで進めていた。当該年度では、得られた各細胞群の遺伝子配列情報を元に、2 つのうちどちらか一方の細胞群に多く発現する新規転写因子や、「分化した腸神経細胞」にある神経伝達物質合成酵素を探索した。</p> <p>今後はこれらの内、転写量の多いものに対して発現部位を確定し、転写因子についてはノックダウンなどを用いた機能解析に進む計画である。また、各種腸神経細胞の可視化のために、神経伝達物質合成酵素の転写制御領域を利用したトランスジェニック魚の作成も試みる計画である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>目的とする転写因子等の候補遺伝子は得られたので、それらの発現部位や機能の解析を行って論文発表を行う計画である。まずは、2019 年 12 月 3-6 日に行われた「第 42 回日本分子生物学会年会」にて、ポスター発表を行なった。</p>
<p>備考</p>	<p>特になし。</p>

※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）

2020年4月28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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-411		
研究期間	平成31年4月1日 ～ 令和2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
	東北大学植物園	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）

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>平成 31 年度までに得られていたアキノキリンソウのゲノムリファレンス SvHa canu41 は、N50 が 100k に届かず、ゲノムが 19k 個のスキャフォールドに分断されていた。そのため、平成 31 年度は Dove tail 社の HiC 法をこのリファレンスに適用することで、より連結度の高い参照配列を構築することを目指した。</p> <p>解析の結果得られたアセンブリの総長はアキノキリンソウの推定ゲノムサイズの約 90% に達した。またスキャフォールドの成績としては N50=81Mb となり、染色体数に相当する長いスキャフォールドが 9 つ得られた。アセンブルのなかの gap 率は 0.2% を下回る成績であった。また、BUSCO 解析では約 88% の保全性の高い遺伝子が検出された。</p> <p>今後はこの参照配列を対象に、アキノキリンソウの複数のエコタイプ集団のリシークエンスデータをマッピングし、変異検出を行うことで、本群の環境適応に関連する遺伝子群を抽出することを目指す。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	
<p>備考</p>	

※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（ R1 年度）

2020 年 4 月 17 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-412		
研究期間	2019 年 4 月 1 日 ～ 2020 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・農学部	教授	立田晴記
	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>[成果] 前年度に Flexible RADseq 解析から取得した SNP 情報について, STACKS ソフトウェアに加え, pyRAD 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て, 結果の比較をおこなった. パラメータの設定法がソフトウェア間で異なるため, 当初は全く異なる結果が得られたが, パラメータチューニングを実施後, 類似の結果が得られるようになった. また新たに捕獲した標本から DNA 抽出をおこない, RADseq 解析に向けた準備をおこなった.</p> <p>[考察及び展望] 次年度に RADseq 解析を追加実施し, より広い地域を対象に集団遺伝解析をおこなう予定である. 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. また, 異なる染色体レースが隣接して存在する地域の遺伝構造解析結果をとりまとめる必要がある. 可能であれば標本の追加サンプリングも実施する.</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在執筆中の原著論文を早めに投稿する. また昨年度までの結果についても投稿に向けた準備を進める.</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

2020年 4月 20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：門田 康弘

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ゲノム解析、及びトランスクリプトーム解析によるネコブセンチュウの病原性機構の解明		
課題番号	19-413		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	理化学研究所 環境資源科学研究センター	学振特別研究員	佐藤 一輝

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本年度までの基生研 重信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ベンサムアータバコ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行い、いくつかのエフェクターについては、植物免疫ネットワークのハブに位置するタンパク質や機能未知の新奇タンパク質をターゲットとしていることが明らかになった。さらに、<i>Ma</i> 本州型、<i>Ma</i> 沖縄型それぞれに特異的なエフェクターを抵抗性植物に一過的に発現させることによって、抵抗性植物への感染の可否を決定するエフェクターの絞り込みも開始した。今後は、これらの機能解析を進めることで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。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>センチュウの病原性と植物の免疫応答に関する総説を国際誌で発表した。</p> <p>Sato, K., Kadota, Y., Shirasu, K. “Plant immune responses to parasitic nematodes” <i>Frontiers in Plant Science</i>. 10:1165. doi: 10.3389/fpls.2019.01165. (2019)</p> <p>昨年度までに解明した線虫抵抗性植物トルバムの免疫機構について、論文執筆中であり、近いうちに投稿予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

令和2年5月20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：日下部 宜宏

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	昆虫工場で作製したVLP(Virus like particle)内容物の解析		
課題番号	19-414		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	九州大学	准教授	門 宏明
	九州大学	准教授	李 在萬
	九州大学	博士2年	増田亮津
	基礎生物学研究所	技術職員	牧野由美子

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本実験では、バキュロウイルス発現系を用いてカイコ体内においてウイルス様粒子 (VLP: Virus Like Particle) を作製し、そのウイルス粒子内にどのような物質 (タンパク質) が含まれているかを解析した。まず、豚パルボウイルス (PPV) の VP2、アデノ随伴ウイルス (AAV) の VP1~3 をカイコ蛹で発現させ、硫酸分画と密度勾配遠心分離により純度の高い VLP を取得し、質量解析により VLP の中に含まれるタンパク質の同定を試みた。</p> <p>同定されたタンパク質は、大きく 5 つのグループに分けられた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) チューブリン、アクチンなど細胞骨格を構成する因子 2) heat shock protein 3) ribosomal protein 4) 細胞内輸送関連因子 5) その他 (phenoloxidase subunit 2, Zona pellucida domain and PAN domain containing protein、molting fluid carboxypeptidase A) <p>1) ~ 4) に含まれる遺伝子ファミリーは、ヒト細胞を用いて作製されたインフルエンザウイルス VLP、及びネイティブなウイルスに含まれるタンパク質と同様の遺伝子群で構成されていた。5) のグループに含まれるタンパク質は、カイコ-バキュロウイルス発現系を用いて作製された VLP に特有のタンパク質であった。</p> <p>本実験では、VLP の内部に取り込まれているのか、VLP の表面に提示されているのか、VLP を構成しているタンパク質と結合して VLP の外側に局在しているのか区別ができない。今後は、トリプシンなどで VLP を処理し、VLP の外側に存在するタンパク質を分解後に質量解析することにより VLP の内部に存在するタンパク質の同定を試みる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>VLP の精製、免疫実験などのデータと共に論文化を進める。</p>
<p>備考</p>	<p>特になし</p>

※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）

2020年 4月 28日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：総合研究大学院大学先導科学研究科
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-415		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2019 年度は社会性を持つボタンヅルワタムシ属 3 種のゲノム配列のアセンブル解析がほぼ完了した。その後、トランスクリプトーム情報を用いた遺伝子アノテーションが進行中である。今後、遺伝子レパートリーを調べた後、3 種のゲノムを非社会性アブラムシのゲノムと比較し、兵隊特異的に発現する遺伝子に重複が生じているかどうかを調べることで、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。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-416		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020年3月31日		
所内対応者	生物機能情報分析室 教授 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
	東洋大学生命科学部	教授	梅原 三貴久
	基礎生物学研究所生物機能情報分析室	教授	重信 秀治
	東洋大学生命科学部	学部4年生	岡崎 夏鈴

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>薬用植物のトコン (<i>Carapichea ipecacuanha</i> (Brot.) L. Andersson) は、植物ホルモン無処理の培地に節間切片を植物体から切り出して置床するだけで、カルスを経ることなく、不定芽を誘導できる。植物体の切除が刺激となり、内生の植物ホルモンの作用によって不定芽形成に必要な遺伝子発現の誘導、あるいは不定芽形成を抑制する遺伝子発現の抑制が起こる。そこで、RNA-seq で不定芽形成に関わる遺伝子を特定し、植物の可塑的な再生メカニズムを解明するために、不定芽形成に関わる遺伝子のスクリーニングを行った。</p> <p>トコン節間切片、0週目の茎頂側と基部側、1週目の茎頂側と基部側の4グループ間の発現パターンについて、RNA-Seq のデータから多次元尺度構成法を用いて散布図を作成した。0週目の茎頂側と基部側で発現パターンが類似しているのに対し、1週間培養を行うと、茎頂側と基部側で発現パターンに差が現れることが分かった。次に、全グループの遺伝子発現量を比較して、False Discovery Rate (FDR) が 2.38×10^{-52} 以下の遺伝子 200 個について階層クラスタリング解析を行った。0週目と1週目を比べると、166 個の遺伝子の発現が変動していた。30 個の遺伝子発現は、他のグループと比べて1週目の茎頂側で、4 個の遺伝子発現は、1週目の基部側でのみ大きく変動した。0週目の茎頂側と基部側、0週目と1週目の茎頂側、0週目と1週目の基部側、1週目の茎頂側と基部側で二群間比較を行った結果、0週目の茎頂側、1週目の茎頂側、1週目の基部側、1週目の茎頂側で発現が2倍以上増加/2分の1以下に減少した遺伝子は、それぞれ 6/2 個、1927/1831 個、2249/1414 個、423/1135 個であった。次に、1週目の茎頂側と基部側を比較して、FDR が 1.23×10^{-11} 以下の 200 個の遺伝子について GO 解析を行った。この中には、形態形成に関与する遺伝子やオーキシン、サイトカイニン、ジベレリンの関連遺伝子が含まれていた。今後、培養1週目以降の節間切片や不定芽形成促進物質を処理した節間切片を用いて RNA-Seq 解析を行う。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>未定</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月28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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-417		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>短鎖型次世代シーケンサーによるゲノム解析はそのデータ産出量やデータあたりのコストパフォーマンスの良さなどから、現在でも次世代シーケンシングの中心となっている。しかし、ゲノム配列が未整備な生物のゲノム解析や複雑な転写産物構成を明らかにするためには、数キロから数百キロの長さの配列解読が可能な長鎖型シーケンサーのメリットが大きい。今年度の統合ゲノミクス共同利用研究では、それら長鎖型シーケンサーのメリットを生かしたヒト特異的アイソフォームの同定を行った。ヒト、チンパンジー、ゴリラの死後脳の複数領域を対象とし、その各々の場所で発現している転写産物の種類・スプライシングパターンなどを高精度に計測・定量化し、転写産物の多様性という観点からヒト特異的な特徴を明らかにするための研究を行った。基生研分析室 PacBio 社 Sequel を用いてそれぞれの種の死後脳由来転写産物をそれぞれ 2 セル分シーケンスを行い、51～74Gb のデータを得た。それらのデータを用いて解析を行ったところ、高品質のアイソフォームをヒト、チンパンジー、ゴリラでそれぞれ 66,177 個、62,679 個、54,544 個同定することができた。予備的な解析からは、上記のデータ量でもそれぞれの種におけるアイソフォームを網羅するには至っておらず、さらなるシーケンスが必要であることが分かってきた。次年度以降も、継続してシーケンスを行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2019 年度に引き続いて 2020 年度もヒトと類人猿の脳遺伝子発現解析を長鎖型シーケンサーを用いて行う。それらの成果をまとめて論文として発表を行う。また、2018 年度にテナガザル新規ゲノム解析に関する論文発表を 2020 年度に行う予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

令和2年4月15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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-418		
研究期間	平成31年 4月 1日 ~ 令和2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・生物機能解析センター	教授	重信秀治
	基礎生物学研究所・生物機能解析センター	技術課技術職員	山口勝司

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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た。</p> <p>昨年度までに得られた RAD-seq データを用いて、集団遺伝学的解析および GWAS 解析を行った。Structure 解析の結果、有翅女王と無翅女王の間で遺伝的構造が異なるという結果は得られなかった。一方、主成分分析では第 3 主成分が両女王の間で異なることが示された。さらに GWAS 解析によって、女王の表現型と強く関連する領域が複数同定された。</p> <p>今後はゲノム配列のアノテーションを行うことで、女王表現型との関連領域の実体を明らかにする。さらにトランスクリプトーム解析を行うことで、関連領域上の遺伝子の発現様式を明らかにする。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-419		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>植物における器官間の情報伝機構を新たに見いだすことを目的とし、道管を介した根から地上部への情報伝達に着目してダイズ、トマトの道管液の解析を行った。その結果ダイズの道管液からは 13 個、トマトの道管液からは 6 個の分泌型ペプチドを同定した。ダイズの道管液から同定したペプチドのうちの一つ（ここでは XAPa と表記する）は光合成産物の欠乏に応答したことから、シロイヌナズナのホモログに着目した解析を行った。過剰発現体やノックアウト変異体の表現型を解析した結果 <i>AtXAPa</i> は根へのスクロースの蓄積を促進することがわかった。さらに根における <i>AtXAPa</i> の遺伝型が葉のスクロース輸送体の発現の促進に関わることやシロイヌナズナの道管液から <i>AtXAPa</i> ペプチドが検出されたことから、<i>AtXAPa</i> は根から地上部に対して光合成産物の分配を要求するシグナルとして機能することが考えられた。また、現在までにダイズ道管液から同定した別のペプチド（ここでは XAPb と表記する）は傷害に応答することを見出しており、このことから XAPb は傷害ストレスに何らかの関連がある可能性がある。</p> <p>今後は XAPa, XAPb について、さらなる解析を行うことでこれらの長距離移行性ペプチドの機能を明らかにすることで、根から地上部への新たな情報伝達機構を見出したい。また、これら以外にも道管液から同定されたペプチドやタンパクについてもその役割について解析を行いたいと考えている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>上記の報告内容のうち、ダイズ、トマトの道管液の網羅的な解析に関する研究成果は第 61 回日本植物生理学会年会（2020 年 3 月）、第 249 回日本作物学会講演会（2020 年 3 月）において発表した（コロナウィルスの影響により学会は中止となり、要旨集において発表した）。また、XAPa の内容も含めた研究成果は International Workshop on Plant Nutritional Responses 2019 (Nagoya, Japan) で口頭発表した。</p> <p>上記の報告内容のうち、<i>AtXAPa</i> に関する内容は 2020 年内に国際誌に投稿する予定である。また、2020 年度に開催される学会でも発表することを予定している。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月28日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：森林総合研究所樹木分子遺伝研究領域
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-420		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	新潟大学大学院自然科学研究科	准教授	森口喜成

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>スギゲノムの解読に必要とされる超長鎖のリードを得るために高分子量 DNA の抽出方法を確立し、Oxford Nanopore Technologies (ONT) 社のシーケンサーで約 197 Gb のリード配列を得た。予備的にアセンブルを行ったところ、ゲノムの 79%に相当する 8.6 Gb (N50 = 1.2 Mb) の配列が構築された。連鎖地図上のマーカー遺伝子の情報を用いてアセンブルされた配列との整合性も確認した。また、10x Genomics 社の Chromium ライブラリから 246 Gb のリードを収集した。予備的にアセンブルを行ったところ、ゲノムの 84%に相当する 9.0 Gb (Scaffold N50 = 518kb) の配列が構築された。さらに染色体レベルのアセンブリ (Scaffolding) を行うために Hi-C ライブラリを構築し予備的に 149 Gb のリード配列を収集した。今後は、作成した Hi-C ライブラリの成否を検証した後、さらなるライブラリの構築とシーケンスを行う。最終的にはスギの 11本の染色体に対応した配列の構築を目指し、現在までに収集した ONT、Chromium、Hi-C および PacBio RSII のリードを統合し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いたい。</p> <p>雄性不稔遺伝子など有用遺伝子については、SNP マーカーによる連鎖解析を行った。マーカー遺伝子を含むゲノムのコンティグ配列を探索し、有用遺伝子を含むと予想されるゲノム配列を同定した。今後は、表現型の違いに関連する原因となる変異を、発現遺伝子の配列データを解析して同定することを目指す。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>雄性不稔遺伝子 (<i>MS1</i>) の原因遺伝子の同定と多様性解析についての論文を投稿する予定である。</p>
<p>備考</p>	<p>特になし</p>

※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4月30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-421		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	北海道大学・農学研究院	博士2年	Seonghan Jang

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。</p> <p>本年度は、ホソヘリカメムシを対象に抗菌タンパク質とそ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るとともに、同じく抗菌活性を持つ活性酸素種 (ROS) の機能について調査を行った。ショウジョウバエにおいては ROS 生成酵素が腸管免疫に関わることが知られているが、今回ホソヘリカメムシの共生系を対象に調査を進めたところ、ROS 生成酵素は腸内免疫には重要な機能は果たしておらず、代わりに気管の形成に重要であることが新たに明らかとなった。ROS 生成酵素を RNAi で発現抑制すると、腸内共生器官における気管の形成が阻害され、これによって酸素供給量が低下し、共生細菌が死滅することが分かった。今回、ROS 生成酵素の RNAi 個体についても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解析を進めるとともに、他の免疫関連遺伝子の RNAi をさらに行い、共生系の遺伝的基盤について総合的な理解を目指す。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本年度の研究によって発見された活性酸素種生成酵素がカメムシ腸内共生に果たす役割について、重信教授と菊池の共著論文として投稿準備を進めている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月16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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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-アリ共生系の分子基盤研究		
課題番号	19-422		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	関西学院大学 理工学部	理工学部研究員	矢口 甫
	関西学院大学 理工学部	大学院生	森津 悠貴

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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」、及び無処理の「対照区アリ」の4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。各処理区間の発現変動遺伝子 (DEG) 解析及び Co-expression 解析の結果、経験アリの脳における発現遺伝子のパターンは他の処理区と大きく異なり、5000 ほどの遺伝子が経験アリ区で有意に発現が変動していた。今後は GO 解析により変動遺伝子の機能を推定するとともに、今年度得られた追加サンプルのデータ解析を進めていく予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>特になし</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月9日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：筑波大学・生存ダイナミクス研究センター
氏名：林 良樹

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	生体内少数細胞から代謝物質を測定する新規方法（TriVersa-qTOF法）の開発の試み		
課題番号	19-423		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020年 3月 31日		
所内対応者	重信修治		
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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<ul style="list-style-type: none"> <p>・ Triversa-qTOF 法による少数細胞由来の代謝物質測定について</p> <p>本提案の主目的は、生体内の少数細胞を対象に代謝物質を定量的に測定する方法を開発することである。このためにセルソーターによる細胞分取と自動マイクロピペット装置 (Triversa) による微量試料直接イオン化および qTOFMS による質量分析を組み合わせることでこれを達成することを試みた (Triversa-qTOF 法)。</p> <p>ショウジョウバエ胚の細胞を対象に、細胞内におけるメチル基供与体としての働きがある代謝物質である S-アデノシルメチオニン (SAM) の測定を試みた。予備的研究におけるメタボロミクスのデータをもとに、SAM の含有量が高いショウジョウバエ初期胚体細胞をセルソーターにより分取し、メタノール中で代謝物質を抽出し、Triversa-qTOF 法による測定を試みた。細胞数を段階的に振って、測定限界の設定を試みたところ、10000 個程度の体細胞からは SAM のピークが検出できることが明らかとなった。しかし、定量化に用いるにはピークが小さく、十分な信頼度を得ることができないことが明らかとなった。この原因は、直接イオン化に伴うイオンサプレッションが原因であると考察した。この問題を解決するために、以下の実験を行なった。</p> <p>・ Dpi-QqQ 法による少数細胞由来の代謝物質測定について</p> <p>上記の研究過程で、森技官との討論を行い、イオンサプレッションの影響を受けにくい直接イオン化法である Dpi-QqQ 法による測定を試みることにした。本法は島津製作所が開発した方法で、極めて細いニードルによるサンプル分取とサンプルの完全なイオン化を可能にするものであり、イオンサプレッションの影響を受けにくい方法である。上記と同様にショウジョウバエ胚の体細胞を対象に SAM の測定を行ったところ、5000~10000 個程度の細胞から定量化に足る SAM のピークを検出した。</p> <p>今後、Dpi-QqQ 法をベースに、体細胞以外の生体細胞 (始原生殖細胞等) や遺伝学的操作をした細胞を対象に、SAM およびその他の代謝物質 (解糖系代謝物質等) の測定を行なっていく予定である。また本法はショウジョウバエ以外の動物種における生体細胞にも使用が可能であるため、本法を用いて生体内少数細胞を対象とした細胞内代謝の動態を明らかにしていく予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>上記のように、当初予定していた Triversa-qTOF 法の開発は、他の方法 (Dpi-QqQ 法) に優位な面があるため、測定法の開発としての報告は改良が進むまで行わない予定である。しかし、本法も含めた直接イオン化法自体は、すでに提案者が推進している研究において成果を挙げている。生体内細胞における代謝物質の動態と意義については、特に SAM を対象とした論文を執筆中であり、速やかに発表に結びつける予定である。</p>

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： 基礎生物学研究所
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

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-424		
研究期間	2019年4月1日 ~ 2020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	総研大生	梶岡拓巳
	基礎生物学研究所	総研大生	川野幸平

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2018年度に行った統合ゲノミクス共同研究により、V2aニューロン、V0vニューロンを比較し（細胞群は、FACSで単離）、V2aニューロン、V0vニューロンに enrich している遺伝子群を見いだすことができた。</p> <p>2019年度は、これらの遺伝子について、より深い解析を行うつもりであったが、諸事情により、V2aニューロン、あるいは、V0vニューロンについて、single cell RNA-seq にフォーカスして研究をし直すこととなった。この研究は、基生研重信秀治先生とではなく、生命創成探究センター郷康広先生との共同研究として進めることとなったため、2019年度には、統合ゲノミクスとしての共同研究は実質的に行わないこととなった。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>未定。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月3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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-425		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	上智大学大学院理工学研究科	博士1年	原田明里

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。</p> <p>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 2018 年度までに決定した。本年度は配列のアセンブルおよびホルモン処理群間での発現量の違いが見られる遺伝子の解析を進めた。</p> <p>今後は、タツノオトシゴのゲノム配列を決定し、マッピングを行い、遺伝子の発現調節領域の探査を進める。アンドロゲン結合領域などの保存配列が育児嚢の形成に関わる遺伝子の upstream に存在するのかなどを検証する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30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：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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-426		
研究期間	2019年4月1日～2020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
	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>鳥類の卵殻色素には二種類あり、一つは青や緑の色のビリベルジン、もう一つは茶色や赤褐色のプロトポルフィリンIX(Protoporphyrin IX, PPIX)である。ビリベルジンはヘムの分解産物であり、PPIX はヘムの前駆体である。PPIX は体内のあらゆる細胞で生産されるが、ほとんどの細胞内では僅かにしか存在しない。しかし、黒褐色の色素が斑状に付着した卵を産むニホンウズラ(以後、ウズラ)では、卵管子宮部の上皮細胞に大量のPPIX が生産・蓄積されることから、子宮部には組織特異的なヘム合成・分解の仕組みが存在することが考えられる。</p> <p>本研究では、子宮特異的なPPIX の産生を制御する原因遺伝子を特定する目的で、白色卵を産むウズラ変異系統(WE 系統)を用いて、PPIX が産生される時期の子宮で発現する遺伝子を mRNA シーケンス解析によって網羅的に調べた。次に、WE 系統と野生型のL 系統間のF₁ 個体同士を交配して得られたF₂ 個体を用いてRAD シーケンス解析を行い、卵殻色とSNP の遺伝連鎖解析によって原因遺伝子のゲノム領域の特定を試みた。</p> <p>その結果、野生型のL 系統の子宮部では、ヘム合成の主要な律速酵素である 5-aminolevulinic acid synthase 1(<i>ALAS1</i>) 遺伝子が強く発現していたのに対し、変異型の WE 系統では有意に低く、白色卵殻の直接の原因が <i>ALAS1</i> 遺伝子の発現低下による PPIX 産生の減少であることを明らかにした。F₂ 個体の遺伝連鎖解析の結果、<i>ALAS1</i> 遺伝子の発現を制御する原因変異が 6 番染色体上の約 570 kb の領域にマップされた。さらに、WE 系統、野生型卵殻をもつL 系統、そして両系統間のF₂ 世代で野生型の卵殻色をもつ個体、WE 以外の 3 系統で見つかった白色卵を産む変異体 4 個体についてゲノムリシーケンス解析を行った結果、候補領域を約 170kb の範囲に狭めることができた。</p> <p>今後は、この候補領域を詳細に解析し、<i>ALAS1</i> 遺伝子の発現を制御する遺伝子とその原因変異の特定を試みる。そして、候補遺伝子が特定できれば、白色卵を産む突然変異系統の子宮由来の細胞を培養し、野生型遺伝子を導入して PPIX の産生の有無を調べることによって原因遺伝子の検証を行う。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>白色卵殻の原因遺伝子を特定し、さらにその機能を実証できた段階で、研究成果を論文にまとめ、国際雑誌に投稿する。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年6月11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：石垣 祐二

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	根圏における植物-放線菌相互作用の分子機構の解明		
課題番号	19-427		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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 生物進化研究部門	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	グループディレクター	白須 賢

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>これまでに植物の根で赤色色素の生産が誘導される放線菌の全ゲノム配列の決定を行い、生合成遺伝子クラスターの同定とそのクラスターを活性化する転写活性化因子を明らかにした。赤色色素は抗生物質であり、グラム陽性細菌の生育を阻害しているため、グラム陽性細菌の植物病原菌に対する効果が期待できる。また、赤色色素の生合成遺伝子クラスターとよく似た遺伝子クラスターを他の放線菌から見出した。この放線菌も根で色素生産が誘導され、転写活性化因子を過剰発現すると根が無くても色素生産が開始されることから、いくつかの放線菌では植物のシグナルを受けて二次代謝が開始されること明らかになった。</p> <p>一方、重信教授のグループによって PacBio ゲノムシーケンスおよび de novo アセンブリが行われた放線菌 22 株においては、理研のグループにより、ゲノムアノテーション解析が行われた。ゲノムサイズや遺伝子数、rRNA や tRNA 数などが明らかになり、二次代謝の生合成遺伝子クラスターやプラスミドの存在が示唆された。根から分離された放線菌の統合ゲノミクス解析を行うことで、根圏に存在する放線菌と植物の相互作用を俯瞰的に把握でき、新たな知見が得られると期待される。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在、論文投稿に向けてデータの精査や執筆を行っている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 15 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-428		
研究期間	2019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	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>[成果] 10X Genomics 社の Chromium を用いて決定した 6 種のキューバアノールトカゲのゲノム配列のうち、2 種 (<i>A. allogus</i>, <i>A. sagrei</i>) についてはアセンブリが終了していたが、新たに 4 種 (<i>A. isolepis</i>, <i>A. allisoni</i>, <i>A. porcatatus</i>, <i>A. homolechis</i>) の de novo アセンブリを行った結果、Scaffold N50 が順に、27Mb、5Mb、6Mb、40Mb で BUSCO の網羅性が順に、89.2%、86.6%、82.3%、80.1%の、先の 2 種同様に質の高いゲノムアセンブリを得ることができた。さらに、形態と行動が似ていて生息温度ニッチが異なる <i>A. allogus</i>, <i>A. sagrei</i>, <i>A. homolechis</i> について種特異的な重複遺伝子の推定と転移因子の検出を行った。その結果、高温開放部に生息する <i>A. sagrei</i> において、一部の Opsin やヘモグロビン遺伝子の重複と、温度によって発現変動する複数の遺伝子上流への種特異的な転移因子の挿入が検出された。結果の一部は 2019 年 8 月の進化学会で報告した。</p> <p>[展望] 遺伝子予測のトレーニングデータ用に、トランスクリプトームデータがなかった種について、RNA-seq を行ったため、この結果を用いて、より精度の高い遺伝子予測を行い、重複遺伝子の推定などの精度も向上させる。さらに、遺伝子上流における、加速または保存領域や転写因子結合領域、GC アイランド、転移因子の推定を行い、飼育温度と紐付けされた発現データとの関連を探るなどして、適応放散への関与が推定される遺伝子上流の進化を検出する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在、ゲノム決定を行った 6 種についてのゲノム概要とゲノム比較による自然選択の検出解析が進行中であり、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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 28日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 金沢大学

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-429		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	奈良先端科学技術大学院大学	教授	梅田正明
	奈良先端科学技術大学院大学	博士研究員	安喜史織

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>植物は DNA 倍加により細胞を肥大化させ、器官成長を行う。申請者らは、有糸分裂から DNA 倍加への転換には、クロマチンが緩和し、DNA の再複製が起こりやすくなる必要性を見出した。更に、植物ホルモンであるオーキシンが、シロイヌナズナのヒストン脱アセチル化酵素をコードする <i>HDA18</i> 遺伝子の発現を増加させることで、ヒストン H3 の 9 番目のリシンのアセチル化(H3K9ac)のレベルを低下させ、クロマチンを凝縮させることを見出した。これらの結果から、オーキシンによる <i>HDA18</i> の発現誘導が有糸分裂を維持し、DNA 倍加への移行を阻止するのに重要な役割を持つと考えている。しかし、オーキシンが <i>HDA18</i> を介し、ゲノムのどの領域を凝縮させることで生理作用を発揮しているのかは定かでない。そこで、本共同利用において、クロマチン免疫沈降物を次世代シーケンス解析に供し、野生型と <i>hda18</i> 変異体で H3K9ac の違いのゲノムワイドな比較解析を行うこととした。野生型植物と <i>hda18</i> 変異体の花芽からクロマチンを抽出し、H3K9ac 抗体を用いて免疫沈降し、次世代シーケンスに供し、高品質の次世代シーケンスデータを取得することができた。重信教授の指導の下、データ解析法を習得し、現在解析を進めている。過去に H3K9ac 修飾が付加されていることが報告されているローカスにおいては、既に <i>hda18</i> 変異体で H3K9ac レベルが低下することを見出し、得られたデータの確度は高いと考えている。今後、ゲノムワイドな解析を進め、<i>HDA18</i> がゲノムのどの領域を凝縮させるか役割を持つかを明らかにしていきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>「オーキシンによるクロマチン動態制御」という観点から研究を進めており、本共同利用で得られた解析結果を以て、「オーキシンが <i>HDA18</i> の発現制御を介して H3K9ac を減少させてクロマチン凝縮を促進する」という新規なコンセプトを、投稿論文にて発表予定である。次世代シーケンスデータの解析と並行し、投稿論文の作成も進めており、速やかに論文発表できる手筈を整えている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 12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
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-430		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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	学生	大崎 香歩理
	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
	日本大学 生物資源科学部応用生物科学科	教授	青木 俊夫
	東北大学 生命科学研究科	准教授	佐藤 修正

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、マメ科のモデル植物ミヤコグサ (<i>Lotus japonicus</i>) の</p> <p>(1) 異変異性系統における異変異性の原因同定 (2) 草型変異体の原因遺伝子の同定</p> <p>を目指した。いずれの解析にも次世代シーケンサーを利用した全ゲノムシーケンシングを利用する必要があったが、貴研究所との統合ゲノミクス共同利用研究として行うことにより実現化することができた。</p> <p>(1) に関して、異変異性のミヤコグサ系統の後代から出現した莖色の変異体の原因遺伝子を、bulk segregant analysis (BSA) シーケンシングにより明らかにすることを試みたが、候補となるゲノム領域を見いだすことはできなかった。異変異性はトランスポゾンの転移により引き起こされるケースが知られているので、今後、得た全ゲノム配列からトランスポゾンの転移が検出できるかを試みる。</p> <p>(2) に関しては、本来匍匐性のミヤコグサが自立性となった変異体の原因遺伝子を、BSA シーケンシングにより同定することを試みた。結果、過去に行った遺伝子マッピングの結果と一致する領域に原因遺伝子が存在することがわかった。しかしこの領域はペリセントロメアであり組み換え抑制されていること、反復配列が多く遺伝子予測が困難な領域であることが分かった。今後、候補領域を絞り込むべく、古典遺伝学的な遺伝子マッピングを進めるとともに、ゲノム配列単独からは予測しにくい構造遺伝子を見出す方法論を模索し、原因遺伝子同定を目指す。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>(1)、(2) とともに、それぞれの現象の原因が明らかにできた段階で論文化する予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月8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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-431		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ライディッチ細胞で 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チ細胞と成獣型ライディッチ細胞をそれぞれ分取し (それぞれ n=3)、それぞれ 100 ng の total RNA を用いて mRNA-sequence を行った。シーケンスデータを解析し、胎仔ライディッチ細胞と成獣ライディッチ細胞で発現量に差のある遺伝子群を抽出した。</p> <p>同様に調製した細胞を用いて、ATAC-sequence ライブラリを調製した。予備的にライブラリの一部をシーケンスしてみたところ、60~70 % がミトコンドリアゲノムの混入であったが、これは予想通りであった。しかしながら、本来なら発現遺伝子のプロモーターやエンハンサー領域にピークが認められるはずであるが、発現の有無にかかわらず、またプロモーターやエンハンサー以外の部位にも非特異的にピークが認められたため、ライブラリ調整の方法に問題があると考えられた。今後、ライブラリ調製の条件検討をやり直す予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：沖縄科学技術大学院大学
細胞シグナルユニット

氏名：柳谷朗子

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	精子形成における CCR4-NOT 脱アデニル化酵素複合体による転写後制御の解析		
課題番号	19-432		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2019年度は、精子細胞特異的に CCR4-NOT 脱アデニル化酵素複合体の脱アデニル化活性を持つ構成分子を欠損させたマウス、<i>Cnot7</i> 欠損マウスと <i>Cnot8</i> 欠損マウスを作製した。これらマウスの精巣から Total RNA を精製して、RNA-seq 解析によりトランスクリプトーム解析を行った。RNA-seq 解析は統合ゲノミクス共同利用研究の支援により教授して頂いた。</p> <p>RNA-seq 解析により精子細胞特異的 <i>Cnot7</i> 欠損精巣と精子細胞特異的 <i>Cnot8</i> 欠損精巣においてコントロール精巣と比較して増減している遺伝子を同定した。さらに、精子細胞特異的 <i>Cnot7</i> 欠損精巣と精子細胞特異的 <i>Cnot8</i> 欠損精巣間で共通して増減している遺伝子群、または増減が異なる遺伝子群を解析し、CNOT7 と CNOT8 のそれぞれによって mRNA 分解される遺伝子群を同定した。</p> <p>今後は、精子細胞特異的 <i>Cnot7/Cnot8</i> ダブル欠損精巣を用いた RNA-seq 解析でトランスクリプトーム解析を行い、CCR4-NOT 複合体による脱アデニル化の精子形成における機能を解析する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>上記の研究成果をまとめて、学術誌に発表する予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月9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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-433		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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	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性科学研究科	大学院生(修士)	富永 貴哉

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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 を行い、データ解析を行った。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。またゲノム配列については、アノテーションの付加を行い、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。2019 年度中にこれらデータ解析を完了し、学術論文を投稿する予定であったが、研究の主担当者の産休・育休があったため、復職する次年度に実施する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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、次年度中には論文を投稿する予定としている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 6月 2日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：麻布大学 生命・環境科学部 環境科学科
氏名： 新田 梢

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-434		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	九州大学・大学院理学研究院	教授	矢原 徹一
	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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、花形質に関する遺伝子に着目して、以下の研究を行った。</p> <p>1) F2 雑種集団 RNA-seq からの花色・花香遺伝子発現の解析</p> <p>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。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 2</i> 様遺伝子の遺伝子配列の種間比較を行った。今後は、ゲノムシーケンス結果からのゲノム領域の情報も参照し、表現型と遺伝子発現、遺伝子配列との関連解析を行う。</p> <p>2) 開花時刻の違いに関与する遺伝子の探索</p> <p>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) を用いた RNA-seq について、概日時計に関する遺伝子の解析を行った。ハマカンゾウとキスゲで時計遺伝子群の発現パターンを比較したところ、2 種で発現パターンが違う遺伝子があった。</p> <p>3) ハマカンゾウとキスゲのゲノムシーケンス</p> <p>ハマカンゾウとキスゲについて、生物機能情報分析室の協力のもと、ゲノム抽出と genome ライブラリ作成を行い、ゲノムシーケンスを行った。今後、ゲノムシーケンスの解析を行い、花形質に関する遺伝子の比較を行う。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>1) F2 雑種集団 RNA-seq からの花色・花香遺伝子発現の解析</p> <p>アントシアニン色素に関する成果を論文にまとめる。</p> <p>2) 開花時刻の違いに関与する遺伝子の探索</p> <p>2020 年 9 月に日本時間生物学会にて講演を行う予定である。</p> <p>3) ハマカンゾウとキスゲのゲノムシーケンス</p> <p>今後、ゲノム解析を行い、成果を学会や論文で発表する。</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

令和 2 年 4 月 30 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-435		
研究期間	令和元年 4 月 1 日 ～ 令和 2 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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。昨年度の条件検討の結果を受けて、LCM に適う薄切切片の作成技術の最適化に成功した。レーザーでの切り出しに最適な 16 μm 厚の薄切切片では安定しなかったが、20 μm 厚であれば安定して品質の高い薄切切片を作成することができるようになり、LCM 用メンブレンスライドガラスに貼り付けて短時間で HistoGene による染色を行う工程を確立することができた。技術が確立できたことを受けて、LCM による Vc 領域の切り出しとトランスクリプトーム解析を試みようとしたが、昨今のコロナウィルス感染に伴う出張自粛の影響を受け、基礎生物学研究所での LCM による作業を行うことができなかった。2020 年度は継続での共同研究を申請できていないが、コロナウィルス感染の状況が落ち着いてから、改めて共同研究の申請を行い、本研究を進めていきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。また、これまでにヨシノボリ雄に求愛あるいは攻撃行動を惹起した場合、いずれでも Vc 領域に c-fos 陽性細胞が観察されている。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枢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的な操作で求愛と攻撃の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。</p>
<p>備考</p>	<p>上記の通り、今年度の共同利用研究は、コロナウィルス感染に伴う出張自粛の影響により達成できなかった。しかし、本申請課題については、是非とも続行していきたいと考えている。コロナウィルス感染の状況が落ち着いてから、改めて共同研究の申請を行う予定である。</p>

※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（令和元年度）

2020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
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。

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	根粒共生およびアーバスキュラー菌根共生の分子機構と進化の解明		
課題番号	19-436		
研究期間	2019年4月1日～2020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	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	小林 裕樹
	基礎生物学研究所	大学院生	大熊 直生
	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	後藤 崇支
	東北大学大学院生命科学研究所	准教授	佐藤 修正

研究成果の概要及び今後の展望

本研究では次世代シーケンサーを用いたオミクス解析により、根粒共生およびアーバスキュラー菌根共生の分子機構を解明する。根粒共生はマメ科のモデル植物であるミヤコグサ (*Lotus japonicus*)を用い、ChIP-seq 等により根粒形成過程を制御する宿主転写因子の機能解明を行う。また根と葉の遠距離コミュニケーションを介した根粒形成の全身制御機構については、根から葉への情報伝達の生物学的意義を探る。根粒共生進化については、マメと近縁であるが根粒共生しないカスミヒメハギのゲノム解読を行い、ミヤコグサなどマメ科植物との比較ゲノム解析により根粒共生進化の遺伝学的要因を探る。

○根粒形成過程を制御する宿主転写因子の機能解明

根粒菌との共生の場である根粒の発達を制御する NF-Y や PUCHI の作用機構を明らかにするために、ChIP-seq の準備を行なった。NF-Y に myc タグを付加した組換えタンパク質をミヤコグサの根で過剰発現させた。その結果、タグなしの NF-Y と同様な表現型が得られたことからこの組換えタンパク質が機能的であることが分かった。また、PUCHI はタグを付加していないタンパク質を過剰発現させ、予めその表現型を観察した。その結果、意外なことに根粒形成を全身的に抑制する遠距離シグナル経路が活性化されることが分かった。今後は myc を付加した PUCHI タンパク質においても同様な効果が得られるかを確認した上で、ChIP に適した条件を検討していきたい。

○根粒形成の全身制御機構における根から葉への情報伝達の生物学的意義の解明

前年度までに RNA-seq 解析によって根粒菌の感染により葉で顕著に発現抑制される新規ミヤコグサマイクロ RNA 前駆体遺伝子を特定することに成功している。本年度はゲノム編集によりマイクロ RNA 前駆体遺伝子のゲノム欠失に挑戦し目的の個体を単離することに成功した。さらにこの個体において根粒の着生数が減少することを見出し、葉で作られるマイクロ RNA がシステミックに根粒形成を誘導することを明らかにした。論文をまとめ 2020 年 3 月に投稿した。

○カスミヒメハギのゲノム解読とモデルマメ科植物との比較ゲノム解析

マメ科植物と近縁でありながら窒素固定共生しないヒメハギ科カスミヒメハギのゲノムサイズを推定した。ゲノムサイズは 403.5 Mbp/C とモデルマメ科植物であるミヤコグサよりも小さなサイズであることが明らかとなった。また毛状根形質転換法を確立するとともに、沖縄本島にて新たにカスミヒメハギを採集し種子増殖を行った。カスミヒメハギの諸形質、形質転換能、広宿主域根粒菌との相互作用を論文

	<p>としてまとめ、2020年1月に発表した。</p> <p>○アーバスキュラー菌根菌 <i>Rhizophagus clarus</i> HR1 の高精度ゲノム解読と種間比較</p> <p>今年度は、アーバスキュラー菌根菌 <i>R. irregularis</i> の高精度ゲノム解読より発見した rDNA タンデムリピートの欠損や個体内における rDNA 多型、絶対共生性の遺伝的背景が <i>R. clarus</i> ゲノムにも共通して見られるかについて検証を行った。rDNA タンデムリピートの欠損を <i>R. clarus</i> で確認するとともに、rRNA の多型を示すドメインを特定することに成功した。多くの菌類、原始紅藻シズン、マラリアとの比較ゲノム解析により、アーバスキュラー菌根菌の rDNA の独自性を顕在化させた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>共生をシステミックに制御するミヤコグサ新規マイクロ RNA 遺伝子の論文は投稿中であり、窒素固定共生しないカスミヒメハギは論文として発表した。また、アーバスキュラー菌根菌 <i>Rhizophagus clarus</i> HR1 の高精度ゲノム解読と独自の rDNA 多型に関しては2020年4月に論文を投稿する予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年6月2日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：基礎生物学研究所 生物進化研究部門
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-437		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020年3月31日		
所内対応者	長谷部 光泰		
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	重信 秀治
	基礎生物学研究所	助教	玉田 洋介
	基礎生物学研究所	助教	石川 雅樹
	基礎生物学研究所	技術職員	壁谷 幸子
	基礎生物学研究所	大学院生	Gergo Palfalvi
	基礎生物学研究所	大学院生	Ruan de Villiers

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望

以下の解析を、次世代シーケンサーNextSeq550 を用いて行う。

A-1. ヒメツリガネゴケでは、分化した葉を切断すると切断面の細胞に幹細胞化を誘導することができる。チミジンアナログ EdU を用いた実験によって、予期せぬことに、幹細胞化過程で何らかの DNA がクロマチンに取り込まれていることを明らかにした。本研究では、次世代シーケンシングにより幹細胞化過程でクロマチンに取り込まれる DNA 配列を同定することを試みた。切断葉にチミジンアナログである EdU を取り込ませた後、ゲノム DNA を回収した。EdU は、その化学的性質からビオチン化させることが可能であるため、ビオチンに親和性が高いアビジンビーズを用いることで効率良く、かつ簡便に EdU を取り込んだゲノム DNA を回収することが期待された。ところが予想外にも、ゲノム DNA に取り込まれた EdU のビオチン化が起これず、新奇 DNA 合成が起こった DNA 断片を回収することができなかった。そこで、EdU を認識する BrdU 抗体を用いた免疫沈降法に変更し、その条件検討を行なった結果、次年度でシーケンスを行う目処が立った。

A-2. 転写因子 Squamosa promoter binding proteins (SBPs) はヒメツリガネゴケにおける幹細胞化の抑制に機能するが、通常の発生過程では茎や葉、造精器、造卵器の細胞伸長に機能する。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、切断葉、茎葉体、造精器・造卵器を誘導した茎葉体茎頂を用いて野生株と SBP 遺伝子多重欠失株のトランスクリプトーム比較を行った。その結果、いくつかの候補遺伝子が見つかり、機能解析をすすめることができ、現在、論文を作成中である。

B. 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。そのため、捕虫葉と扁平葉を同種内で比較することで、捕虫葉の発生を制御する分子機構を解析することができる。本研究では、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行うとともに、被子植物シロイヌナズナにおいて環境刺激の感知とそのシグナル伝達に関与することが知られているヒストンバリエント H2A.Z とヒストン修飾 H3K27me3、H3K4me3 の ChIP-seq、さらにクロマチンの 3次元構造を解明する HiC を行うことを計画した。しかし、より精度の高い single cell ATAC シーケンスを行うことに変更し、実験結果を解析中である。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、異なる光条件 (24 時間連続明、16 時間明 8 時間暗、8 時間明 16 時間暗)、培養温度 (15°C、25°C)、栄養分である窒素濃度を変えた条件、サイトカイニン投与、エチレン前駆体投与など、384 サンプルのトランスクリプトーム比較解析を行い、食虫性進化と遺伝子発現ゆらぎとの関連を解析している。96 サンプルのシーケンスが終了した。

研究成果発表等の予定	来年度も継続して研究を行い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（2019年度）

2020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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-438		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	国立遺伝学研究所	助教	河崎敏広

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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 Piwil1 を介して、rRNA の発現を調節していることが示唆されている。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、200-300 コピー存在するとされる 45S pre-rRNA がどのように発現調節を受けるのか、詳細な解析は困難である。そこで本研究では、精原細胞における rRNA の発現制御機構を明らかにすることを目的に、ゼブラフィッシュ精原細胞の rRNA を網羅的にシークエンスし、200-300 コピーの多型を区別できる rRNA のデータベースの構築を目標とした。</p> <p>ゼブラフィッシュ近交系 (IM 系統) のゲノム 410GB のペアエンド配列を、BWA を用いて GRCz10 にマッピングした。さらに、IGV ゲノムブラウザを用いて体細胞型 (45S-S)、低発現型 (45S-U)、母性型 (45S-M) の Depth の深い場所を探ったところ、既知のコピー数が 5 の低発現型 (45S-U) に比べ、既知コピー数が 2 しかない体細胞型 (45S-S) の Depth が圧倒的に深いことがわかり、既知コピー数が 1 の母性型 (45S-M) に関しても同様の結果が得られた。この結果から、未知の 45S pre-rRNA の locus が相当数存在することが推測された。18S と 28S 領域 4 箇所に 60-80bp の各 45S pre-rRNA に共通して Depth が深い領域が見つかったため、そこに 4 つの Primer を設計し、精巢の RNA に対して RT-PCR を行った。特異的なバンドが得られたため、そのサイズ断片のライブラリー化を進めたが、非特異的な増幅が相当量あることが分かった。条件検討の範囲では、デザインされた Reverse 側の primer のみでの、非特異的な増幅が背景にあるものと考えられる。現在、IM 系統のゲノム DNA を用いてライブラリー化を試みている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020 年 4 月 30 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	麴菌 <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	19-439		
研究期間	2019 年 4 月 1 日 ~ 2020 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
	東京大学	特任助教	片山 琢也

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> は、日本の伝統的醸造食品である日本酒・醤油・味噌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、産業的に有用な微生物である。<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、醸造利用の歴史の過程で、日本酒・醤油・味噌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選抜されてきた。本共同利用研究では、<i>A. oryzae</i> 種内の様々な株のゲノム解読および比較ゲノム解析を行い、<i>A. oryzae</i> の多様性の創出機構のゲノムレベルでの解明を目的とする。</p> <p>2019年度は、<i>A. oryzae</i> のゲノムリファレンス株 RIB40 と、これと接合型が異なる株として初めて発見された AO6 株(Wada <i>et al.</i> 2012)について、DNA 調製条件を検討したのち、PacBio 社 Sequel を使用してゲノムシーケンス解析を行った。その結果、RIB40 株と AO6 株の間で一部の染色体構造が異なることを見いだした。</p> <p>2020年度も本共同利用研究を継続し、<i>A. oryzae</i> の様々な株のゲノムシーケンス解析を行い、醸造利用の過程における染色体構造の変化を伴うゲノム進化が起こった可能性を検討する。また、ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 システムを利用して、株間で差異が見られた染色体構造を互いの株で再現することにより、日本酒・味噌・醤油などの製造用途に適した表現型が現れる原因を解析する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年度に継続する本共同利用研究で成果を得て、学会発表や論文化を行うように進めていく。</p>
<p>備考</p>	

※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 6月 9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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-440		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	豊橋技術科学大学応用化学・生命工学系	助教	広瀬 侑
	筑波大学生命環境系	助教	蓑田 歩

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>■<i>Galdieria sulphuraria</i> 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。今年度に、異なる培養条件から抽出した RNA を用いて RNA-Seq 解析を行い、BRAKER2 を用いた遺伝子予測を完了した。現在、得られた情報を論文にまとめている。</p> <p>■<i>Synechocystis</i> および <i>Arthrospira</i> これまでに、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、ギャップの無い環状染色体の配列を構築できている。<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新たな SNP を見出している。現在、得られた情報を論文にまとめている。</p> <p>■<i>Cyanophora paradoxa</i> 残念ながら、同一株が海外のグループより公表されてしまったため、他の株の解析を優先することとした。Price et al. 2019 <i>DNA Res.</i> 26(4):287-299. doi: 10.1093/dnares/dsz009.</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>一通りのシーケンスは完了したため、データをまとめて論文化の作業を進めている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 4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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	クローディ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	19-441		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2019年度は担当者の論文の revision の影響により、本共同研究については残念ながら具体的に進展させることが出来なかったが、total RNA 調整のための試薬一式を購入すると共に、ラボ内で定量 PCR が出来る体制を整えた。また、MDCKII 細胞およびクロードイン 1、2、3、4、7 欠失 MDCKII 細胞、クロードイン欠失細胞にクロードイン 3 を再発現した細胞、ZO-1/2 欠失 MDCK II 細胞、からそれぞれ試験的に total RNA を調整した。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>クロードイン 1、2、3、4、7 欠失 MDCKII 細胞へのクロードイン再構成実験について論文の準備を進めており、RNAseq によるクロードインファミリー遺伝子群の網羅的解析のデータをそこに含めたいと考えている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

令和2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・大脳神経回路論部門
氏名： 森島 美絵子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

（裏面に続

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Patch-seq を用いた大脳皮質神経回路内における抑制性サブタイプの機能解析		
課題番号	19-442		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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	教授	重信 秀治
	名古屋大学大学院・創薬科学研究科	准教授	加藤 竜司
	東海大学・創造科学技術研究機構	講師	倉重 宏樹

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>大脳皮質の抑制性細胞の一つであるソマトスタチン陽性細胞が赤色の蛍光タンパク質で標識される SOM-Ai14 マウス（コントロールとして用いる興奮性細胞は逆行性色素で標識した）から生きた大脳皮質を含む脳スライス標本を作成し、蛍光顕微鏡で標識された細胞を確認しながら、2細胞同ホールセルパッチクランプ、もしくは1細胞ホールパッチクランプを行った。できる限り RNase-free の環境で行った。ホールセルパッチクランプ記録細胞を行った神経細胞から RNA を含む細胞質を記録用のガラス電極で吸引し、軽く先端を割ることによって回収した。その後 Smart-seq 法 (Picelli et al., 2013) を用いて cDNA の精製まで行い、生物情報機能分析室にある Bioanalyzer を用いて精度チェックを行い、基準を満たす精度の cDNA を集めた。また、記録用の電極内液にバイオサイチンという低分子の染色用物質を入れており、記録後にスライス標本をパラフォルムアルデヒド溶液内に入れることで一晚固定、細胞内染色し記録神経細胞の形態を確認した（ここまでの方法確立は生理研・森島が担当）。その後、1細胞から得られた非常に少ない cDNA のライブラリー作成の条件を確立した。現段階で、テスト的に神経細胞 10 個分を次世代シーケンサー illumina nextseq550 でシーケンシングを行った（基生研・重信先生が担当）。2019 年度は 1 個の神経細胞から、電気生理データ、形態のデータから遺伝子情報データまで取る方法を共同研究によって確立できた。さらに、現在、名古屋大学の加藤先生らとともにまずは 10 個の神経細胞の遺伝子情報データから解析を行っており、今後さらに 60 個ほどのデータを増やすことで、解析法を確立する予定である。さらに、電気生理データ、形態のデータから遺伝子情報データを組み合わせた新たな解析法を確立することによって抑制性サブタイプの新たな機能的意義に迫れることを期待したい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>新たな解析法の候補として、形式概念分析という手法についての検討を行った。この一つとして、認知機能とそれを担う脳部位との関係を形式概念分析で解析することを試み、以下のタイトルで北米神経科学にてポスター発表を行った。 Revealing hierarchical relationships among cognitive functions as a concept lattice using formal concept analysis <u>KURASHIGE Hiroki</u>, YAMASHITA Yuichi, OSU Rieko, OTAKA Yohei, HANAKAWA Takashi, HONDA Manabu, KAWABATA Hideaki Neuroscience 2019 10 月</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月1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：古賀 隆一

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-443		
研究期間	2019年4月1日 ～2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。</p> <p>本年度は、土壌細菌であるが、チャバネアオカメムシに人工的に獲得させると正常な成虫を誘導する潜在的共生細菌に加えて、他種カメムシから単離した人工培養可能な共生細菌 55 種についてゲノムシーケンスを遂行した。その結果、すべての種についてほぼ全長のゲノム配列を取得することに成功した。現在アノテーションを行なっている最中だが、一部の種において挿入配列や偽遺伝子の爆発的增加など非常興味深いゲノム構造変化が見出されている。今後は比較ゲノム解析を行い、共生に関連するゲノム構造変化の同定や共生細菌ゲノム進化過程の推定を目指す。</p> <p>共生細菌のゲノム決定に加えて、本年度はチャバネアオカメムシが生育する環境で採取した土壌についてメタゲノム解析も行い、潜在的共生細菌は非常に稀な存在であることが判明した。この結果は、本種カメムシが生育する環境中には多様な潜在的共生細菌が存在するにもかかわらず、なぜ実際の野外集団からはごく限られた種しか共生細菌として見出されて来ないかについて示唆を与える結果である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>比較ゲノム解析の結果がまとまり次第、順次国際誌等に発表する予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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（2019年度）

2020年 4月 30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京都立大学 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-444		
研究期間	2019年 4月1日 ～ 2020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	特任准教授	郷 康広
	基礎生物学研究所 進化発生学部門	教授	新美 輝幸

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>トゲオオハリアリは単型のアリで、カースト役割がサイズによって決まっておらず、原始的な社会行動を示すアリである。本種では順位によって最上位(アルファ)個体が女王に、他の個体が不妊のワーカーの役割をする。女王やワーカーへの分化を引き起こす遺伝子はカースト特異性に加えて、その発現部位や発現時期を知ることが、生理学的理解とつなげる上で非常に重要である。RNAseqを用いた解析から、脳に加えて脂肪体という昆虫の栄養代謝および貯蔵にかかわる組織が生理的分化に重要な役割を果たす点に注目した解析を進めている。</p> <p>2019年度は、2つのコロニーについて全個体(50-80匹)の活動性や行動パターンを画像解析によって定量化したのち、全個体の脳と脂肪体を取り出し、RNAseqに供した。また、Chromium法を用いたIlluminaでのゲノムシーケンスを行い、ドラフトゲノム情報を得た。現在、マッピングやアノテーション作業を行っている。</p> <p>当初計画にあった、アリル特異的発現については、まずカースト特異的遺伝子の洗い出しやアノテーションを確実にすることを優先させ、この実験については遂行時期を今後後ろ倒しすることにする。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年度、あるいは2021年度に全コロニー個体を対照としたコロニーRNAseqの結果について、行動学・分子生物学的知見をまとめ、論文として発表する。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年5月19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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	マウスの発生・成長に伴う生殖細胞の系譜動態と、変異や環境変化による遺伝子発現変動の解析		
課題番号	19-445		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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・生殖細胞研究部門	助教	中川 俊徳
	基礎生物学研究所・生殖細胞研究部門	研究員	池田 達郎
	基礎生物学研究所・生殖細胞研究部門	大学院生	平野 高大
	基礎生物学研究所・生殖細胞研究部門	研究員	平 誠司

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>オスのマウス胎仔に生じた始原生殖細胞（PGC）のうち、実際に成体の機能的精子産生に寄与する割合を調べるため、PGC に細胞ごとに異なる DNA 配列（バーコード）を導入した。発生が進行した段階で生殖細胞に含まれるバーコードを次世代シーケンスにより決定し、そこに含まれる PGC の系譜を解析している。</p> <p>2019 年度は、前年度までに開発した実験系の評価をおこない、薬剤依存的に期待どおりにバーコードが導入されること、その配列を決定できることが確認された。続いて、PGC の発生期にバーコードを導入し、異なる発生段階の生殖細胞に含まれるバーコードの解析を開始した。今後、本研究系を用いて詳細な解析を大規模に行い、生殖細胞の系譜動態の全容の理解につなげたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在のところなし。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 5月 31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 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	新口動物に共通する生殖ホルモンとしてのリラキシンの研究		
課題番号	19-446		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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	重信秀治
	基礎生物学研究所	助教	大野 薫
	東京大学	准教授	近藤真理子
	新潟大学	助教	大森紹仁
	海洋研究開発機構	研究員	宮本教生
	九州大学	教授	吉国通庸
	九州大学	助教	栗田喜久

(裏面に続く)

研究 成 果 の 概 要 及 び 今 後 の 展 望	<p>宮本教生と大野薫が琉球大学瀬底臨海施設周辺の浅海でヒメギボシムシを採集し、同種のリラキシン遺伝子を開始した。現在、同試料から調製した遺伝子ライブラリ、及び、宮本が有していた RNAseq データを基に候補遺伝子配列の解析に取り組んでいるが、現時点では見いだせていない。</p> <p>近藤真理子、大森紹仁が実験動物トゲバネウミシダの神経試料を調製し、大野薫が同種のリラキシン遺伝子を初めて同定した。得られた配列は、<u>MAIDNQKRIILVFLISFVLCGQIHCDTIRCGADFREAIRELCSKRSEFHNIVRKALLGHKWRSTIRSFERLKKGSYSQPHDFCCTNGCSDSFIRAEVC</u>であった。インスリン族の定義に基づき、前下線部 B 鎖、後下線部 A 鎖となり、成熟ペプチドは A-B 鎖のヘテロ二量体と予測された。</p> <p>吉国通庸、栗田喜久がマナマコリラキシンの作用機構を解析し、ニセクロナマコリラキシンと異なる作用点を持つことを明らかにした。ニセクロナマコでは生殖巣全体にリラキシン感受性組織が分布するが、マナマコでは、生殖腺基部にのみリラキシン感受性組織が局在することを明らかにした。マナマコにおいては、リラキシンが生殖巣基部に作用することで生殖腺全体に刺激が伝達され、結果として生殖腺全体でクビフリンが分泌され、生殖細胞の最終成熟を誘起する可能性が示された。</p> <p>大野薫が、酵母発現系によるリラキシンペプチドの生合成を試みたが、効率的な発現を得るに至らなかった。棘皮動物に共通するリラキシン作用の解析の為には、異なる種毎のリラキシンが必須であるため、今後も発現の試みが必要である。</p>
研究 成 果 発 表 等 の 予 定	<p>トゲバネウミシダのリラキシン遺伝子配列は、遺伝子データベースに登録する予定である。ヒメギボシムシのリラキシン遺伝子の解析は引き続き継続する。</p> <p>マナマコリラキシンの作用機構については、より詳細な作用解析を実施した後に発表予定である。</p>
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）

2020年4月28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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-447		
研究期間	2019年4月1日 ～2020年3月31日		
所内対応者	重信 秀治 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3年	工藤 風樹
	北海道大学大学院総合化学院	修士課程2年	川村 慧
	北海道大学大学院総合化学院	修士課程2年	谷 愛海
	北海道大学大学院総合化学院	修士課程1年	坂口 周弥

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。</p> <p>2019 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スプライシング変動についてゲノムワイド解析を実施した。その結果、SL-176 単独投与、分化誘導剤 ATRA 単独投与、SL-176・ATRA 共投与の条件それぞれにおいて、多数の遺伝子のスプライシングが変化していることを見出した。現在、見出したスプライシング変動遺伝子について、詳細な解析を進めている。また、アミノ酸欠乏における p53 の機能を解明するため、リシン欠乏時の細胞における遺伝子発現についても解析を進めている。</p> <p>今後、スプライシング変化が見られた遺伝子の機能解析を進め、PPM1D のスプライシング制御を介した好中球分化および成熟の制御機構解明が期待される。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>第 93 回日本生化学会大会（2020 年 9 月 14 日～16 日）にて発表予定</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月5日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪大学工学研究科
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-448		
研究期間	2019年 4月 1日 ～2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>野生型のミジンコについて、Post-bisulfite adaptor-tagging (PBAT)法を用いてゲノム DNA を処理し、次世代シーケンサーによって塩基配列を明らかにすることで、ゲノム上に導入されていたメチル化 DNA の位置を明らかにする予定であった。</p> <p>しかし次世代シーケンサーのデータを解析した結果、マッピング可能な十分なクオリティのデータが得られなかったことが分かった。</p> <p>従来と異なった NGS を使用したこと、エサ由来の DNA の混入など、原因はいくつか考えられたが、明確な解決策はなく、今年度の共同研究を終了することとした。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>なし</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月15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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-449		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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示す。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ているが、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、毒性発現に関わる遺伝子群の特定を目的として、毒性の異なるヘテロカプサ株間における各種遺伝子発現量の比較解析を実施する。昨年度はヘテロカプサ強毒株と弱毒株（各 1 株）のトランスクリプトーム解析を実施し、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。本年度は複数の強毒株および弱毒株を対象として RNA-seq 解析を実施し、毒素候補遺伝子の探索を試みた。</p> <p>本年度に得られたトランスクリプトーム解析結果（強毒 1 株と弱毒 2 株）に昨年度の結果（強毒 1 株と弱毒 1 株）を加えてクラスタリングや多次元尺度構成法により解析した結果、両解析ではクラスターはヘテロカプサの毒性や分離海域では分類されなかったが、原因は現在解析中である。よって、傾向が類似する昨年度に解析した 2 株と本年度に解析した 3 株における強毒・弱毒の組み合わせ（計 3 通り）について比較した。結果として、全てのケースで有意 (PDR<0.05) に強毒>弱毒 (139 個) もしくは弱毒>強毒 (49 個) となる遺伝子を見出しており、今後さらなる詳細な解析を進める予定である。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。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p><学会発表（口頭）> 山崎康裕，亀尾辰砂，紫加田知幸，中山奈津子，西出浩世，内山郁夫： 有害渦鞭毛藻 <i>Heterocapsa circularisquama</i> の株間における毒性と発現遺伝子の比較. 2019 年度日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会，静岡（2019）</p> <p>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。</p>
<p>備考</p>	<p>特になし。</p>

※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（令和元年度）

2020年4月7日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 海洋研究開発機構 横浜研究所
氏名： 高見 英人

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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 と MAPLE システムの融合によるゲノム解析の高度化		
課題番号	19-450		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	海洋研究開発機構 横浜研究所	ポストドクトラル研究員	大久保卓

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、KEGG データベースに登録されたモジュールに基づき生物の生理代謝機能ポテンシャルを評価する Genomape™ (Genome Metabolic and Physiological Potential Evaluator) システムだけでは評価しれない機能をモジュールを担う遺伝子群のゲノム上の位置やパラログ情報などから再評価することを目的として、微生物の比較ゲノム解析ツールである MBGD との連携に必要なシステム開発を行った。</p> <p>各モジュールには KEGG で定義されたオーソログ ID である K 番号 (KO) が割り振られているが、MBGD によるオーソログ ID との対応付ができていないため、まず KO との対応付を行った。これにより MBGD 解析の結果を KEGG モジュールにマッピングし、モジュールの充足率の算出が可能となった。次に各モジュール上の KO のゲノム上の位置関係を比較対象とする生物種ごとに色分けして表示し生物種間で比較する機能を作成した。これにより、未完成のモジュールにおいて欠損する遺伝子を、ゲノム上の位置関係やパラログなどの情報を用いて探索するといった詳細な解析につなげることが可能となった。ただし、現状では複雑な解析を行うには手順が煩雑で手間を要するため、今後は、欠損遺伝子の探索についてのユースケースを明確化し、スムーズな解析を可能とする検索機能とインターフェイスの開発を行う。その際、未培養の嫌氣的アンモニア酸化(anammox) 菌を対象として、本システムを用いて解析することにより、未知なる機能と生き様を明らかにすることを目指す。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Anammox 菌の機能的特徴をまとめた後、論文化する予定</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月8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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-451		
研究期間	2019年 4月 1日～2020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
	基礎生物学研究所・生物機能解析センター	教授	重信 秀治
	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・大学院農学生命科学研究科	大学院生	多田 玲美
	弘前大学・大学院農学生命科学研究科	大学院生	成澤 勇斗
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	小西 歩美
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	横山 響
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	吉田 貴史
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	平澤 信太郎

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本年度はアフリカツメガエルの成体(変態後間もない個体、froglet)を材料にして前肢の四肢再生と背中 of 皮膚再生を対象にした RNA-seq を実施してシーケンスデータを得た。シーケンスは生物機能解析センター・生物機能情報分析室にて NextSeq550 にてシングルリード (SE75) で実施した。Xenbase gene models をアノテーションファイルとして hisat2-build を実行して index を作成し、その後 Nat Protoc 11(9): 1650-1667 にある New Tuxedo の手順に従って転写量の概算と Ballgown のための table counts の作成までを行った。</p> <p>また前年度までに実施していたネッタイツメガエルを用いた成体 (froglet) の四肢再生と幼生の四肢再生を比較する RNA-seq については、以前に参照したネッタイツメガエルのゲノム情報 (ver4.1) に代えて ver9.1 のゲノム情報を参照することで DEG (Differentially expressed genes) のリストアップをやり直した。</p> <p>アフリカツメガエルでの RNA-seq のデータについては、今後はさらに edgeR による解析を行うことで、四肢と皮膚のそれぞれの再生で共通して発現が活性化される遺伝子のリストアップを行う。その上で in situ hybridization などを中心にした遺伝子発現パターンの解析 (wet 解析) を行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>四肢再生と皮膚再生とで共通して発現する遺伝子の発現パターンを明らかにした段階で、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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月24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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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に対する魚類の応答解析		
課題番号	19-452		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	基礎生物学研究所 情報管理解析室	助教	内山 郁夫
	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2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	北辻 さほ

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、赤潮プランクトンに曝露した魚類鰓の RNA-seq データを解析し、赤潮プランクトンの鰓侵入に伴って発現量が増える遺伝子群を明らかにした。</p> <p>シャットネラ強毒株をマダイ稚魚に 45 分間曝露した場合、免疫・炎症（インターロイキンやプロスタグランジンの合成など）やアポトーシス誘導に関連する遺伝子の発現量が、曝露前や弱毒株に曝露した場合と比べて有意に上昇した。また、経時変化を観察した結果、炎症性サイトカイン IL-1β の発現量は 30 分後から急増することが分かった。一方で、シャットネラ弱毒株を曝露した場合、IL-1β の発現量は 45 分後においてもほとんど変化しないことが分かった。これらの結果は、45 分後の強毒株に曝露されたマダイ鰓に大きな損傷が認められたのに対し、弱毒株を曝露した場合にはほとんど病変が認められなかったという組織解析の結果と矛盾しない。</p> <p>シャットネラをブリに最長 3 時間曝露したところ、曝露前や対象区（3 時間シャットネラの培地で飼育）と比べて、3 時間以内に瀕死状態となった個体および 3 時間生残した個体では急性炎症やアポトーシス誘導に関わる遺伝子の発現量が有意に高かった。また、瀕死個体と生残個体間で鰓組織像に大きな差は認められず、発現量に差のある遺伝子は少なかったが、生残個体では、瀕死個体と比べて、免疫系にブレーキをかける機能を有する遺伝子の発現量が高いことが分かった。</p> <p>以上のことから、シャットネラによる鰓の損傷と鰓細胞免疫系の制御が相互に関連する可能性が示唆された。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>赤潮藻 <i>Chattonella</i> の RNA-seq 解析について 1 報論文が出版され、水産機構と基礎生物学研究所の共同プレスリリースを行った。</p> <p>Shikata, T. et al. (2019). RNA-seq analysis reveals genes related to photoreception, nutrient uptake, and toxicity in a noxious red-tide raphidophyte <i>Chattonella antiqua</i>. <i>Frontiers in microbiology</i>, 10, 1764.</p> <p>現在、上述の成果について追加解析を行いながら論文を進めている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020 年 4 月 22 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

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-453		
研究期間	2019 年（平成 31）4 月 1 日～2020 年（令和 2）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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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て開発を進め、新しく得た遺伝子の解析を行った。</p> <p>昨年度に、真核生物と古細菌に保存され、direct repeat を持つ遺伝子を微生物比較ゲノムデータベース MBGD 及び相同ドメインデータベース Pfam を用いて探索し、10種類の遺伝子を見つけた。それらには、先行研究で解析した TBP と TFIIB、及び別の方法で見出した解析可能な他の生体反応因子4種類のうち3種類が含まれていた。解析を高等生物に拡張して抽出した遺伝子のアライメントを元にプロファイルを作成し、8種類の遺伝子についての検出力の高いプロファイルを作成した。この結果に基づいて、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。その上で、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、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た。そうしたところ、各々の遺伝子の進化の様相がいくつかのタイプに分かれることを発見した。先行研究で示された TBP と同じような進化を遂げた因子はなかった。そこで各々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り、その結果によって生体システムの進化が各々どのように行われたかを明らかにすることを試みる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月4日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 法政大学マイクロ・ナノテクノロジー研究センター

（2019年度所属：杏林大学医学部・感染症学教室）

氏名： 小林 一三（こばやし いちぞう）

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-454		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	基礎生物学研究所	特任准教授	重信秀治
	千葉大学・医学部	特任助教	福世真樹
	京都大学・霊長類研究所	助教	桂有加子
	杏林大学・医学部	非常勤講師	小林一三
	国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター	室長	矢原耕史
	東京大学・大学院農学生命科学研究科	教授	岸野洋久
東京大学・大学院農学生命科学研究科	大学院生	吉田伸弥	

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望

「ATGC の4文字からなるゲノム配列」より、むしろ「(ATGC 以外の伝達可能な情報である) エピゲノム状態」が進化の単位である可能性を、「体細胞=生殖系列」と見なせる単細胞細菌ピロリ菌をモデルとして、一塩基分解能のメチローム情報に基づいて検討しました。

第1に、インフォマティク

スでは、メチロームデータとメチル化酵素の認識ドメインを対応づける。「ATGC の4文字」での表示によるゲノムインフォマティクスを、「ATGC とそれらのメチル化塩基を含む10文字」での表示によるエピゲノムインフォマティクスに作り変えることを目指しました。

(1-1) Pacbio 解読では、5mC についての確かな情報が得られないので、4mC, 6mC だけを対象にする8文字表記への ATGC 4文字表記からの書き換えを、実装しました。

(1-2)ピロリ菌データをもとに、分子進化解析の核である塩基変換行列を推定しました。今後は、これをピロリ菌メチロームのマクロとミクロの進化に適用します。

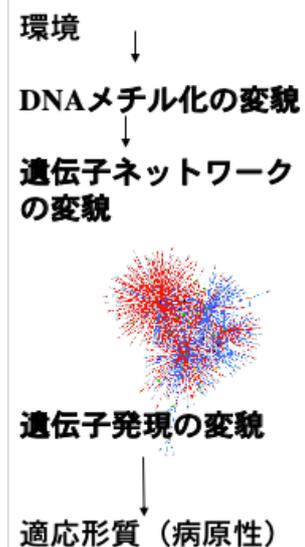
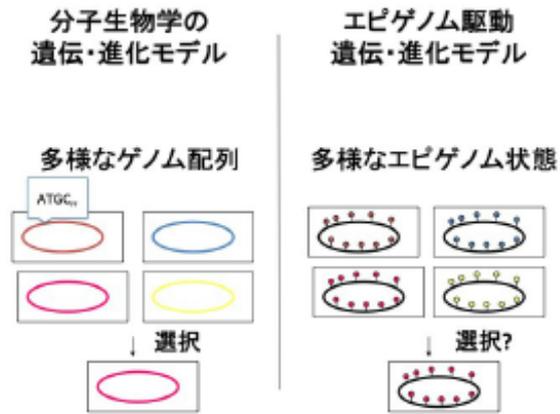
(1-3)ゲノム配列と形質を対応させる GWAS を、3つの国際ピロリ菌ゲノムプロジェクトに適用し、発がんに至る宿主相互作用に関与する遺伝子候補多数を明らかにしました。今後、8文字表記を用いた EWAS に作り変え探索します。

第2に、実験では、

(2-1) 家族内感染株でのピロリ菌のメチロームのミクロ進化を追跡しました。DNAメチル化酵素の標的配列認識ドメインのゲノム再編によって、その標的配列が変換すること、それに従ってそれらの標的遺伝子候補群(メチル化配列をもつ遺伝子群)が取りかわること、それらの遺伝子には代謝に関わるものが多いことを明らかにしました。この結果は、メチロームの作り変えによる遺伝子発現制御ネットワークの変換が、新しい宿主への適応過程で起きていることを示唆します。今後、トランスクリプトーム解析で過程を明らかにします。

(2-2) DNAメチル化酵素多数のノックアウトのトランスクリプトームのデータ再解析から、メチル化による制御に転写と翻訳のカップリングが関与していることが示唆されました。

(2-3) ピロリ菌の遺伝子発現制御に関するある遺伝子のノックアウトのメチロームを解読しました。



研究 成 果 発 表 等 の 予 定	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ichizo Kobayashi “Helicobacter pylori as an extreme model in genetics and evolution” HpGP Workshop, National Cancer Institute, Maryland, USA. August 26, 2019. 2. 小林一三「遺伝・エピジェネティクス・進化のモデルとしてのピロリ菌」遺伝研研究集会 2019.08.三島。 3. M. Fukuyo, H. Yano, H. Yonezawa, N. Takahashi, K. Yahara, M. Konno, T. F. Shibata, S. Shigenobu, B. Rahmutulla, I. Uchiyama, Y. Hasegawa, O. Ohara, A. Kaneda, I. Kobayashi. H. pylori epigenome micro-evolution associated with DNA methyltransferases’ sequence-specificity changes. EHMSG2019: XXXIInd Workshop of the European Helicobacter and Microbiota Study Group. September 5 - 7, 2019 Innsbruck, Austria. 4. 吉田、内山、福世、矢原、桂、岸野、小林。DNA メチル化を考慮した塩基置換モデルによるメチロームの分子系統解析。第 14 回日本ゲノム微生物学会年会（2020/3/6-8）名古屋（コロナウイルス対策の要旨のみ見なし開催） 5. 福世 真樹, 米澤 英雄、矢野 大和、桂 有加子、矢原 耕史、今野 武津子、柴田 朋子、重信 秀治、バハテヤリ ラムヒトラ、長谷川 嘉則、内山 郁夫、小原 収、金田 篤志、小林 一三。ピロリ菌における DNA メチル化酵素の配列特異性変換に伴うエピゲノム・ミクロ進化。第 14 回日本ゲノム微生物学会年会（2020/3/6-8）名古屋（コロナウイルス対策の要旨のみ見なし開催） 6. 吉田伸弥（岸野洋久指導）修士論文「塩基置換と DNA メチル化によるピロリ菌メチロームの分子系統学的解析」（2020 年 3 月、東京大学農学部） 7. Hirokazu Yano, Md. Zobaidul Alam, Emiko Rimbara, Tomoko Shibata, Masaki Fukuyo, Yoshikazu Furuta, Tomoaki Nishiyama, Shuji Shigenobu, Mitsuyasu Hasebe, Atsushi Toyoda, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Keigo Shibayama, and Ichizo Kobayashi. Networking and specificity-changing DNA methyltransferases in H. pylori. 投稿中 8. 小林 一三。基調講演：ピロリ菌 1000 株ゲノム比較から現れる 100 の病原因子。第 26 回日本ヘリコバクター学会を 6 月 26 日（金）、27 日（土）、28 日（日）、浜松。 9. Ichizo Kobayashi, Invited Lecture. “IX International Symposium of Helicobacter pylori infection and Gastric Cancer” in Antigua Guatemala, Guatemala. June 15-17, 2020. 10. 小林一三, Constanza Camargo（オーガナイザー）, 小林一三、岸野洋久、福世真樹『細菌種内 1000（エピ）ゲノムの比較で迫る、「細菌+ヒト」共生体の存続、そして破綻としての発がん』ワークショップ 3AW-02. MBSJ2020: 第 43 回日本分子生物学会年会. 2020 年 12 月 4 日（金） 神戸
備考	

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2020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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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ゲノム解析と遺伝子発現データベースの構築		
課題番号	19-455		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	ゲノム情報研究室 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
	兵庫県立大学大学院 生命理学研究科	准教授	菓子野 康浩
	京都大学 農学部	学生	熊沢 穰

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究は、ゲノム情報、遺伝子発現解析、ゲノム編集による変異体解析、構造情報を合わせて、学術的にも産業的にも利用価値があるツノケイソウの光環境応答・適応機構の解明を目指すものである。本共同利用研究で構築したゲノムデータベース、及び、RNA-seq データ、Iso-Seq などの次世代シーケンサ (NGS) データを精査し、ツノケイソウの集光タンパク質遺伝子 (FCP) 遺伝子の全構成を明らかとした。そして詳細な分子系統解析から、それら FCP を 4 グループに分類した。これらツノケイソウ 遺伝子情報を用いて、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析で得られたツノケイソウの光化学系 II-FCP 超複合体、及び、光化学系 I-FCP 超複合体の立体に含まれる反応中心サブユニット、および、FCP 分子種の同定を行い、各々の構造について論文出版と投稿を完了した。その上で、様々な光環境条件下の細胞から RNA を抽出し、RNA-Seq 解析を行って、ツノケイソウ の集光機能調節に重要な FCP 遺伝子を推定した。今後は、ツノケイソウゲノムデータベースの拡充を進める。同時に、ゲノム編集による変異体作成を通して、標的 FCP の環境応答・適応機構における分子機能解析を行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>ツノケイソウ ゲノム解析の論文を作成し、共著として出版する。その際、配列情報などの公共データベースへの登録を合わせて行う。また論文が掲載され次第、整備したゲノムデータベースの Web サイトを公開し、広く研究コミュニティに利用してもらえるようにする。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 25日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：九州工業大学情報工学部
氏名： 飯田 緑

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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 ベースのアンプリコン解析用web アプリケーション：CLICKARの導入と運用		
課題番号	19-456		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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
	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
	広島大学	JSPS 特別研究員	鈴木美有紀

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>CRISPR-Cas9によって誘発された体細胞変異の割合が高い初代遺伝子導入動物は、迅速でスケラブルな標的遺伝子の機能スクリーニングを可能にします。この機能スクリーニングにおいて、プールしたアンプリコンと次世代シーケンシングを使用したジェノタイピングは、複数のサンプルのターゲットサイトでの Cas9 誘発体細胞変異効率の正確な評価に最適なアプローチです。しかし、この大規模なアンプリコンシーケンスデータからゲノム編集の結果を評価するためにはインフォマティクスの解析が必要です。現在、いくつかの Web ツールが公開されていますが、これらのツールはプールされたアンプリコンシーケンスデータを直接扱うことができません。そこで、本研究課題では、プールされたアンプリコンシーケンスデータを解析するためのシンプルでユーザーフレンドリーな Web ツール (CLiCKAR) を開発し、公開しました (http://click ar.nibb.ac.jp)。CLiCKAR は R で実装されており、挿入/削除の位置、フレームシフト率、変異配列等のレポートを数回のクリックだけでユーザーに提供します。これにより、アンプリコンシーケンシングの結果を CLiCKAR で解析することで、CRISPR-Cas9 ベースのさまざまな生物の多数の標的遺伝子の機能スクリーニングにおける遺伝子型と表現型の相関を評価できます。現在、CLiCKAR は一遺伝子ごとの解析に対応していますが、今後、複数の遺伝子を一度に解析できるようにするなどよりユーザーの使いやすい機能を実装していく予定です。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究成果は、査読付きの国際ジャーナルである Gene to Cells 誌にアクセプトされ、現在、下記の URL にて公開されています。 https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/gtc.12775</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 27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

（裏面に続く）

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-457		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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	特別訪問研究員	新田昌輝

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。</p> <p>本年度は single-cell RNA sequencing (scRNAseq) を行い、卵管上皮細胞を構成する細胞種やそれぞれの細胞種での遺伝子発現の情報を得た。しかし、scRNAseq のデータから多繊毛細胞の分化に従って発現量が増える遺伝子が検出できたものの、検出された遺伝子の総数が少なく、その後のスクリーニングには不十分だと考えた。そこで、FACS (fluorescence activated cell sorting) によって多繊毛細胞へ分化する過程の細胞を回収し、RNA sequencing (RNA-seq) で遺伝子発現を解析することを計画している。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。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月8日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 国立国際医療研究センター
氏名： 竹本 訓彦

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	PacBio Sequencer を用いた DNA ミスマッチ直接検出法の確立		
課題番号	19-458		
研究期間	2019年 5月 20日 ～ 2020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
	基礎生物学研究所	教授	重信秀治

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>既已取得済みであった PacBio シーケンサーから得られたデータ (13.1Gbase) を利用し、ミスマッチを検出するため解析パイプライン作成を試みた。</p> <ul style="list-style-type: none"> • PacBio sequencer 由来の rawdata から FASTQ への変換のためのプログラムとして SMRTLink v5 及び v7 を検討した結果、smrt7 を利用したときにより多くのミスマッチが検出され、ミスマッチの総数としては予想と近い値となっていた。一方で検出されたミスマッチの種類ごとの数については、smrt5 を使用した場合の方が予想の値と近かった。 • ミスマッチの検出のためのアルゴリズムとして、bowtie2 と bwa を比較したが、両者の間で大きな違いはなかった。 • ミスマッチ検出の際のパラメーター設定については、PacBio sequencer による sequencing 時に生じる、indel error の影響を除去するため、複数のマニュアル設定を行う必要がある事が明らかとなった。 • 新たに PacBio Sequel でデータ取得を行うため、ライブラリ作製の条件検討を行い、本研究の目的のためには高品質のサンプル DNA が必要であることが分かった。 <p>2020 年度も共同利用研究として本研究を継続する。ライブラリ調製条件の検討を進め、良好な条件を見出し、Sequel によるデータ取得、結果の解析を行う。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>解析で良好な結果が得られた際には関連する学会での発表、論文発表を行う予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020 年 4 月 30 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： 守野 孔明

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	軟体動物クサイロアオガイのゲノム解読と系統特異的転写因子の役割の解明		
課題番号	19-459		
研究期間	2019 年 7 月 8 日 ~ 2020 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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>軟体動物クサイロアオガイのゲノムシーケンスを行い、ドラフトゲノムの構築を試みた。</p> <p>まず、茨城県平磯海岸より採集したクサイロアオガイ約 10 個体について、腹部の足(筋肉)領域を切除し、凍結した。凍結した 1 個体の足より、ゲノム DNA を抽出しサーベイシーケンスを行なった。その結果より、ゲノムサイズはおおよそ 330Mb と小さめである一方で、heterozygosity は約 3.3%と極めて高いことが推測された。</p> <p>続いて、クロミウムゲノムライブラリーを作成し、これを HiSeqX によりシーケンスを行い、約 100Gbp (150bpPE) のリードを得た。このリードを用いて supernova でアセンブルを行い、得られた scaffold の N50 は 57kbp であった。想定よりも非常に短い N50 値に留まった理由の 1 つとして、heterozygosity の高さにより、相同染色体の一部が別々にアセンブルされてしまったことが考えられる。今後、アセンブルの特徴を精査し、繋がりが悪かった原因を突き止めた上で、アセンブル手法の改善や、必要であればクサイロアオガイの採集とゲノム DNA の再抽出、追加シーケンスデータの取得を行い、再度アセンブルと遺伝子モデル構築を行い、系統特異的転写因子の解析を進めていきたい。</p>
-----------------------	--

研究成果発表等の予定	R2 年度の日本動物学会および新学術領域（進化の制約と方向性）の領域会議等での成果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（ 2019 年度）

2020年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：基礎生物学研究所クロマチン制御研究部門

氏名： 片岡研介

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	テトラヒメナにおける大規模ゲノム再編成機構の解明		
課題番号	19-460		
研究期間	2019年 8月 7日 ~ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>当初の予定では、テトラヒメナの DNA 削減に必須なタンパク質に対する遺伝子破壊株において、各種ヘテロクロマチン構成タンパク質に対する特異抗体を用いた ChIP-seq や単離した分化過程の大核の全ゲノムシーケンスを行う計画であったが、試料の調製に手間取り、これらの解析を実施することができなかった。引き続き次年度において、本計画を継続する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	
<p>備考</p>	

※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）

2020 年 4 月 14 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 東京大学 理学系研究科
氏名： 入江 直樹

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	scRNA-seq から探る進化的に保存された脊椎動物器官形成期の細胞構成解明		
課題番号	19-461		
研究期間	2019 年 6 月 25 日 ～ 2021 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	准教授	入江 直樹
	基礎生物学研究所	教授	重信 秀治
	基礎生物学研究所	教授	成瀬 清
	基礎生物学研究所	教授	高田 慎治

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本課題は、動物ボディプランの進化的保守性と、遺伝子発現プロファイル上の進化的保存性の関連を single cell RNAseq 技術を活用して解こうとするものである。具体的には、脊椎動物胚（特に、メダカ、ゼブラフィッシュ、ニワトリ）を対象に single cell RNA-seq を応用し、細胞レベルでの保存性の実体を解明することを目指す。すでにこれまでの研究により、3種の脊椎動物において保存されている胚段階が具体的に明らかになっている（ニワトリ HH16、ゼブラフィッシュ 24hpf、メダカ St.23.5 前後）ので、これら胚段階のサンプルを成瀬研究室、高田研究室と協力しながら取得し、基礎生物学研究所の生物機能情報分析室・重信教授と共同で scRNA-seq を行う。3種の動物種において scRNA-seq を行った後は、異種間で比較し、どういった細胞が進化的に保存されているかを大規模情報解析にて明らかにする。まずは細胞単離実験の条件が要となるため、2019年度はこの条件検討をニワトリ胚、メダカ胚を用いて行った。採択当初は、プロテアーゼやコラゲナーゼを用いた酵素処理方法を細胞の分離・単離の方法として検討していたが、酵素処理中の温度(約37°C)が細胞内の mRNA プロファイルに大きな影響を与えることが報告されていたことから、低温での酵素処理が可能な細菌から抽出された cold active protease、そして、細胞核のみ迅速に機械的破砕により単離する方法も検討条件に加えた。期間中に、何度か打ち合わせ、生きたまま単離できた細胞数並びに、ソーティング時に凝集していない細胞の割合を評価軸として比較したところ、Dounce homogenizer を使った低温での物理的破砕が生細胞の比率では優れており、凝集した細胞（核）についてはほぼ酵素処理群と同等ということがわかった。よって、本課題では迅速かつ single cell ATACseq にも適応できる機械破砕による細胞核抽出法を採用することとした。また、細胞のソーティング実験条件も検討を進め、必要な個体数などの条件を確定させた。今後は、単離した細胞核から RNA を抽出し、シーケンシング用のライブラリ調整、そしてさらに RNAseq へと進むことを予定している。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>未定</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 16日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京農業大学
 生物資源ゲノム解析センター
 氏名：矢嶋 俊介

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Flexible ddRAD-seq 法による作物の集団遺伝学的解析および分子系統解析への適用		
課題番号	19-462		
研究期間	2019年 11月 18日 ～ 2020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	技術職員	山口 勝司
	東京農業大学 生物資源ゲノム解析センター	助教	田中 啓介

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本共同利用研究は、重信秀治教授のグループが構築した Flexible ddRAD-seq 法を導入し、東京農業大学生物資源ゲノム解析センター (NGRC) の共同利用拠点事業の推進につなげることを目指した。</p> <p>まず、貴所の対応者として重信秀司教授による共同研究統括、分担者として山口勝司主任の実験指導のもと、Flexible ddRAD-seq 法を導入した。本法のライブラリー作製では、制限酵素の種類やアダプター配列のデザインを含め、提供されたプロトコルに従い一連の実験を進めた。そして本共同利用研究では、磁性ビーズを用いたサイズセレクションと PCR によるライブラリー増幅を追加工程として取り入れた。TapeStation による電気泳動および qPCR による定量測定を行い、ライブラリーが問題なく作製されていることを確認した。</p> <p>2019 年度に NGRC が実施した共同利用拠点事業には、県立広島大学のグループによる「アワ」と北海学園大学のグループによる「バナナ」を対象に Flexible ddRAD-seq 法を適用した。ライブラリー作製を上述のとおり行い、NextSeq500 に 300 cycles mid-output kit を用いて 2 x 150 bp のシーケンスを実行した。結果として、アワでは 3.1M ~ 5.9M リード (平均 4.5M リード)、バナナでは 2.4M ~ 9.8M リード (平均 3.8M リード) からなるシーケンスデータを得ることができた。さらに、バナナの解析では、リファレンスゲノムへマッピングして得られた多数の SNP 多型から系統樹を構築することができた。</p> <p>以上のことから、本共同利用研究を通して Flexible ddRAD-seq 法を導入することができた。今後、NGRC の共同利用拠点事業において、RAD-seq 解析が必要となった際には、この技術を適用していきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>【学会発表】</p> <p>1. 2020 年 2 月 29 日 ~ 2020 年 3 月 3 日 日本植物分類学会第 19 回大会 (岐阜) 田中啓介、小松かおり、佐藤靖明、Mintah Lemuel Ohemeng、小谷真吾、北西功一、四方篤、足達太郎</p> <p>Flexible ddRAD-seq 法を用いた国内外における栽培バナナの分子系統解析</p> <p>(※新型コロナウイルスの影響により現地開催は中止されたが、要旨集の発行により成立とした。)</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月6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： 橋本 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Cilia での輸送を担う IFT139 の結合分子の探索		
課題番号	19-463		
研究期間	2019年11月 1日 ~ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>IFT139 の結合分子を同定するために、FLAG タグの付いた IFT139 の TRP ドメインをツメガエル胚に発現させ、抗 FLAG 抗体にて IP-MS/MS 解析を行った。その結果、確かに IFT139 が、コントロールに比べて過剰発現胚に多くエンリッチしていることから、IP-MS/MS の系が動いていることが確認された。また、中心体局在タンパク質のうちの一つが、FLAG-IFT139 TPR コンストラクト発現胚の IP サンプルでエンリッチしていたことから、IFT139 結合分子の候補として考えられた。サンプルとしては、Stage 12 と Stage 25 のサンプルで IP を行ったところ、結合分子としてはほぼ同じ結果であった。以上をまとめると、報告者の研究室においても IP-MS/MS 解析の (S-trap system を用いた) サンプル調製が可能であることが確認できた。また、新規 IFT139 結合分子候補が同定された。IFT139 は繊毛内での輸送を担うため、繊毛タンパク質との結合が示唆されるが、今回の IP-MS/MS においては同定されなかった。このため、今後の予定として、IFT139 に結合する繊毛タンパク質を探索するため、複数のコンストラクトを用い、より生理的な条件で IP-MS/MS 解析を行うことが必要であると考えられた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年度の進捗に依る。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 22日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大学院農学生命科学研究科
氏名： 菊池 潔

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	集団ゲノミクスによる性染色体進化プロセスの解明		
課題番号	19-464		
研究期間	2019年10月28日 ～ 2020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	博士研究員	小山 喬
	東京大学	助教	細谷 将

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2019年に我々は、ブリの性決定遺伝子を同定した。本研究では、この性決定遺伝子の下流カスケードを構成する遺伝子の解明、および、それらが性染色体進化に関与する可能性を検討することを目的とし、性的に未分化な時期（孵化後48日）から形態的な性分化が観察される時期（孵化後95日）まで、高い時間粒度で経時的なサンプリングを行い、得られた合計約200サンプルの生殖腺についてRNAの発現解析を行った。多数サンプルのRNA-seq解析に要する金銭的成本を回避するため、近年報告されたBRB-seq法によりライブラリ調整を行い、NextSeqシーケンサーによるシーケンシングを行なった。</p> <p>シーケンシングデータをノーマライズ後、次元圧縮により2次元で可視化した結果、トランスクリプトームレベルでの性の確立が孵化後65日～77日に起こっていることが示唆された。この時期のデータについて、さらにDEG解析を行った結果、性決定に重要な役割を果たしている可能性をもつ遺伝子群を同定することに成功した。一方で、今回取得したシーケンシングデータはUMIカウントによるduplicate率が高く、データの質に問題があることも判明した。今後はライブラリ作製方法の改善と、初期性分化期をさらに集中的にサンプリングし、データの改善およびDEG解析結果の再現性を調べる予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在のところなし。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020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： 三村真紀子

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	キイチゴ属をモデルとした種分化と多様化の解明		
課題番号	19-465		
研究期間	2019年 11月 18日 ~ 2020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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2019年11月15日に所内にて打ち合わせを行った。ドラフトゲノムの改善に向けた技術的な支援をいただいた。結果、2,000あまりモミジイチゴの scaffolds (ver. 0.1)を7本の染色体にアセンブルできた(ver. 0.2)。取得済み ddRAD データの再解析を行ったところ、どちらのドラフトゲノムを用いても基礎統計量は概ね一致した。ゲノム勾配解析については精査の必要性があった。解析を進め、内容を発表していく。なお、本研究の前身となる原著論文および書籍が発表済み (Okada et al. 2020) および発表予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年の日本生態学会で発表予定であったものの、大会は中止となった。内容について今年度中の論文投稿を目指す。</p>
<p>備考</p>	<p>本研究の打ち合わせは、申請後の11月15日に行われたものの、採択されたのは、打ち合わせ後であったため、旅費等について本支援を利用しなかった。</p>

※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）

2020年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
氏名：檜山武史

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	神経マクロファージの機能解析とその特異的マーカーの探索		
課題番号	19-466		
研究期間	2019年 9月 1日 ~ 2020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
	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	助教	吉川宗一郎
	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	教授	神谷厚範

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>近年、神経系と免疫系の間には相互作用があることが明らかになりつつあり、世界的に注目されている。しかし、その研究対象は中枢神経がメインであり、末梢神経と免疫の関係性に関する研究はあまり進んでいない。</p> <p>末梢神経中に存在する免疫細胞をフローサイトメトリーで解析し、マクロファージの一種が存在することを見いだした。その機能的特徴を把握するため、網羅的遺伝子発現解析を行うための予備的解析を行った。定量PCRを用いて単離した神経マクロファージの免疫系に関する遺伝子発現を解析したところ、他の組織に常在するマクロファージと異なり、常時抑制性サイトカインを多量に発現しており、末梢神経が炎症によって損傷を受けない様な環境を作っている可能性が考えられた。</p> <p>また、若いマウスでは、末梢神経中に存在する血球細胞の6-7割が神経マクロファージであり、残りは単球、好中球、マスト細胞がメインとなっていたのに対して、高齢のマウスではこの集団の割合が変化しており、フローサイトメトリーでは判別が困難な免疫細胞集団が増加し、神経マクロファージは相対的に減少していた。</p> <p>RNA-Seq及びシングル・セル・RNA-Seqを行うための予備実験として、末梢神経よりセルソーターにより分離した細胞からRNAを抽出し、RNAの品質評価を行った。RNA-Seq及びシングル・セル・RNA-Seqを行うためには、RNAの品質向上が必要であることがわかったため、その改善方法を検討している。2020年度中には、RNA-Seq解析を終える予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現時点ではない。2020年度中には発表にこぎ着けたい。</p>
<p>備考</p>	

※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

- 19-501 ゼブラフィッシュ胚を用いた血管形態形成メカニズムの解明
木村 英二 岩手医科大学解剖学講座 解剖学講座
- 19-502 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・海馬神経細胞イメージング
鈴木 香 国立長寿医療研究センター分子基盤研究部 分子基盤研究部
- 19-503 Evolutionary morphology of Crustacea, in the light of State-of-the-art microscopy
梶 智就 University of Alberta Biological Sciences
Biological Sciences
- 19-504 線虫 *C. elegans* における全脳イメージング技術の開発
小田 茂和 基礎生物学研究所定量生物学研究部門 定量生物学研究部門
- 19-505 細胞形状から解明する原生生物の行動様式
西上 幸範 北海道大学電子科学研究所 電子科学研究所
- 19-506 細胞内伝熱過程の温度イメージングに基づくモデル化と解析
富樫 祐一 広島大学大学院理学研究科 大学院理学研究科
- 19-507 開口放出センサーを終神経 GnRH3 ニューロン特異的に発現させたトランスジェニックメダカを使用した、脳内ペプチド開口放出のライブイメージング
阿部 秀樹 名古屋大学大学院生命農学研究科 大学院生命農学研究科
- 19-508 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 農学生命科学部
- 19-509 精神疾患モデル動物大脳皮質樹状突起構造の解析
佐々木 哲也 筑波大学医学医療系 医学医療系
- 19-510 発達初期の小胞子の表面に現れる多糖モジュールの構造解析
石黒 澄衛 名古屋大学大学院生命農学研究科 大学院生命農学研究科
- 19-511 IR-LEGO 法を用いたオオミジンコにおける細胞特異的な遺伝子発現誘導システムの開発と応用
加藤 泰彦 大阪大学大学院工学研究科 大学院工学研究科

- 19-512 Identification of Subtype-Specific Cells and Their Biological function after Spinal Cord Injury in Zebrafish Embryos
Huai-Jen Tsai Mackay Medical College Institute of Biomedical Sciences
Institute of Biomedical Sciences
- 19-513 Single-cell labeling to trace single neuronal precursors in zebrafish embryonic brain
Yung-Shu Kuan National Taiwan University Inst. of Biochemical Sciences
Inst. of Biochemical Sciences
- 19-514 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 理化学研究所生命機能科学研究センター 生命機能科学研究センター
- 19-515 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 生命環境系
- 19-516 Quantitative analysis of endothelial cortical actin organization in vascular tubes.
Li-Kun Phng 理化学研究所生命機能科学研究センター 生命機能科学研究センター
- 19-517 CCR4-NOT 脱アデニル化酵素複合体による転写後制御の生理学的機能解析
柳谷 朗子 沖縄科学技術大学院大学細胞シグナルユニット 細胞シグナルユニット
- 19-518 Targeted perturbation of root growth with IR-LEGO
バスキン トビアス University of Massachusetts Biology Department
Biology Department
- 19-519 イモリ変異体の骨パターン解析
竹内 隆 鳥取大学医学部 医学部
- 19-520 コンピューター断層撮影法によるネッタイツメガエル近交系の 3D 表現型解析
鈴木 誠 広島大学両生類研究センター 両生類研究センター
- 19-521 接合藻類アオミドロ傷害応答による原形質集積機構の解明
池谷 仁里 兵庫県立大学大学院生命理学研究科 大学院生命理学研究科

19-522 Establishment of 4D Single Cell Resolution Developmental Atlas of
Zebrafish embryo
中村 哲也 Rutgers U/ Human
Gene InstPiscataway Piscataway

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（令和元年度）

R2年 4月 17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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ゼブラフィッシュ胚を用いた血管形態形成メカニズムの解明		
課題番号	19-501		
研究期間	H31年 4月 1日 ～ R2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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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、令和元年度には、大きく以下の 3 つの解析を行った。昨年度には CRISPR/Cas9 法による遺伝子破壊体の解析により、gene A、B 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。そこで今年度は、正常発生過程での MHB と MCeV の形成過程を二光子顕微鏡による 2 色でのタイムラプス・イメージング解析を行い、データの収集を完了した。今後イメージングデータの解析を進めていき、神経発生と血管形成の相関メカニズムの解析を進めていく。また鰓弓動脈の形成過程の解析も、昨年度から継続して行った。正規外レーザーの出力を大きく上げることで深部でも明瞭なイメージングが可能となる条件を確立し、第一動脈弓の形成過程、第二から第六動脈弓の形成過程と、前半・後半に分けてイメージングを行い、こちらも必要となるデータを取得することに成功した。今後データ解析を進めて論文の作成を進めていく。一方で、圧プローブ (stretch-posi) を血管内皮細胞に特異的に発現させた系統でのライトシート顕微鏡を用いた FRET イメージングも行ったが、こちらはプローブの発現量が非常に弱く、十分な FRET 画像の取得には至らなかった。次年度では、よりプローブの発現量が多い系統の作出を行うとともに、新たに Ca イオンセンサーである chameleon (YC3.6) を血管特異的に発現している系統を用いて内皮細胞の部位特異的な生理学的な変化を FRET 画像で可視化できるかを継続して検討していく。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究で得られた所見は、まとめ次第 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、2020 年の分子生物学会または、2021 年の日本解剖学会総会・全国学術集会で適宜発表していく。</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

2020年 4月 6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：鈴木 香

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-502		
研究期間	令和 元年 4月 1日 ~ 令和 2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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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 (AD) モデルマウスである APP23;ob/ob および APPKI; ob/ob マウスの老化に伴う脳内の発現分子動態とその病態変化を解析している。我々はこれらモデルマウスにおいて、AD で最も影響を受ける領域である大脳皮質と海馬の神経細胞スパインが老化に伴いどのような形態変化を示すか、解析を試みた。糖尿病合併アルツハイマー病モデルマウスに神経細胞 Thy-1 プロモーターより GFP を発現させた Thy1-GFP マウスを交配し神経細胞特異的に GFP を発現させ、それら脳を CUBIC 法で透明化し大脳皮質・海馬における神経細胞スパイン系地を光シート顕微鏡で観察することを本共同利用研究の目的とした。</p> <p>3 系統の交配により Thy1-GFP;APP23;ob/ob マウスを作製し、老化させた後に解析を行うための前段階として、Thy1-GFP マウス脳の透明化を CUBIC 法で行い、光シート顕微鏡で観察を行った。Thy1-GFP 透明化マウス脳は光シート顕微鏡専用の特殊なレンズホルダーに取り付け、対物レンズ 10 倍で観察を行った。良好な観察のため以下に述べる技術的な工夫を行った。CUBIC 法による透明化は脳組織が若干膨潤し脆くなる傾向にあることから、CUBIC Reagent 中へのサンプルフォルダーへは接着剤を使用した取り付けより、専用の金具に組織を乗せ Reagent 内へ懸垂しレーザー照射する方法が好ましいことがわかった。また、サンプルフォルダー内部のサイズを考慮し、脳組織、特に大脳皮質組織については 3 mm³ 程度にトリミングする必要がある、その際に組織のオリエンテーションが分かるよう懸垂させる必要があった。対物レンズ 10 倍では大脳皮質および海馬の神経細胞が明瞭に観察できたが、神経スパインを観察するには倍率が低かった。そこで対物レンズを変更し、CUBIC Reagent 2 の屈折率である 1.45 に対応する倍率 20 倍で観察を行ったところ、神経細胞樹状突起上のスパインが観察可能となる画像を取得することが出来た。これらの画像から、海馬神経細胞のスパインの数値的变化を検出することが可能と考えられたが、種類の異なるスパイン (Filopodia, Thin, Stubby, Mushroom) について、その形態的差異を分類することが可能か否かについては、今後組み合わせる画像解析法を検討していく必要がある。また上述結果は野生型マウス (Thy-1 GFP) を用いた結果であるが、AD モデルマウス (Thy1-GFP;APP23/+, Thy1-GFP;APPKI)、糖尿病モデルマウス (Thy-1 GFP; ob/ob)、糖尿病合併 AD モデルマウス (Thy1-GFP;APP23;ob/ob, Thy1-GFP;APPKI;ob/ob) 脳のスパイン形態解析については今後の課題である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>特になし</p>
<p>備考</p>	<p>なし</p>

※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）

2020年1月17日

基礎生物学研究所長 殿

報告者（所内対応者） 所属：基礎生物学研究所
氏名：野中茂紀

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-503		
研究期間	2019年4月1日 ~ 2019年10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
	University of Alberta	Postdoctoral Fellow	梶 智就

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>梶博士は昨年度に引き続き岡崎に長期滞在して、自身が採集してきた海産甲殻類の顕微鏡観察による形態測定および発生進化学的な解析を行ってきた。2019年5月に梶博士が急逝したため研究継続が不可能になった。データや試料が岡崎に残っていたため、これを上司である Richard Palmer 博士に送付して共同利用研究を終了した。なお本研究成果の一部は同年8月、下記に示す通り論文として発表された。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Kaji, T., Song, C., Murata, K., Nonaka, S., Ogawa, K., Kondo, Y., Ohtsuka, S., and Palmer A.R.* (2019). Evolutionary transformation of mouthparts from particle-feeding to piercing carnivory in Viper copepods: Review and 3D analyses of a key innovation using advanced imaging techniques. <i>Frontiers in Zoology</i> 16, 35.</p>
<p>備考</p>	

※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10月 29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： 小田 茂和

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	線虫 <i>C. elegans</i> における全脳イメージング技術の開発		
課題番号	19-504		
研究期間	2019年4月1日 ～2019年5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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>代表者が5月末をもって基生研から転出することとなり、実質的な研究を開始することはできなかった。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>なし</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月29日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：北海道大学電子科学研究
氏名： 西上 幸範

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-505		
研究期間	2019年04月01日 ～2020年03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
	京都大学・理学研究科	講師	市川 正敏
	Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology	研究員	大村 拓也

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>近年の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。また、自然界での存在量も多く原生生物は環境において重要な役割を果たしている事がわかっている。さらに、この生物群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。原生生物の行動はその生息域の環境に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の事項である。我々は、これまでに原生生物（アメーバやゾウリムシなど）の行動に関して実験および統計的な手法を用いて解析を行ってきた。その結果、細胞形状がこれらの生物の行動決定に非常に重要な役割を果たしている事が分かってきた。本研究では、細胞形状をイメージングし、さらに行動との関連を明らかにする。これによって原生生物の行動機構を解明することで、地球環境の理解に貢献することを目的とする。</p> <p>本年度は、テトラヒメナが示す外場の流れに逆らう行動（正の走流性）のメカニズムを調べるため、マイクロ流体デバイス中に細胞をいれ走流性を示す細胞の運動装置をイメージングした。その結果、走流性を示すテトラヒメナの鞭毛打は細胞の背および腹側で非対象になっていることが分かった。今後はこれをもとに流体シミュレーションを行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在、原著論文の投稿準備を進めている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月28日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：広島大学大学院統合生命科学研究科
氏名： 富樫 祐一

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	細胞内伝熱過程の温度イメージングに基づくモデル化と解析		
課題番号	19-506		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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 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 生物機能解析センター	NIBB リサーチ フェロー	坂本 丞
	広島大学 大学院統合生命科学研究科	大学院生 (博士前期1年)	野田 達也

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>提案代表者グループ（富樫・野田）による伝熱シミュレーションと、所内対応者グループ（亀井・坂本）による温度イメージング実験との比較により、まずは2次元とみなせる系において、細胞内の熱伝導率の不均一性を観測するための実験条件の検討を進めた。この検討の過程で、計測系に要求されるフレームレートの高さや、計測中の熱散逸の問題など、課題が明らかとなってきた。当初の手法のみでは困難な点もあることから、現在、別の実験と組み合わせた検討を進めている。</p> <p>一方で、実験で検証可能な仮説をシミュレーションから提案すべく、高分子混雑環境や膜構造などでの微視的な熱伝導過程について、分子動力学計算を用いた解析を開始した。次年度以降も引き続き、提案代表者グループにおいて研究を進め、実験での検証を目指す。</p> <p>実施期間中、基礎生物学研究所を訪問して打合せを行った際に、実験とシミュレーションの条件等に関して、具体的な情報交換が進んだ。今後については、報告書作成時点で出張等に大きな制約が生じており不透明な部分もあるが、引き続き情報交換を続け、新たな実験系も含めて計画を再編する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>次年度にまずシミュレーション単体での検討結果を学会等で発表した後、実験と連携した成果が積み上がった段階での論文発表を目指す予定である。</p> <p>なお、この課題と関連して、細胞内の伝熱過程とシミュレーションの現況と問題点について、研究会 Biothermology Workshop 2019 において発表を行った。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 6月 2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：阿部 秀樹

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	開口放出センサーを終神経 GnRH3 ニューロン特異的に発現させたトランスジェニックメダカを使用した、脳内ペプチド開口放出のライブイメージング		
課題番号	19-507		
研究期間	2019年 4月 1日 ~2020年 3月 31日		
所内対応者	亀井保博 (生物機能解析センター 光学解析室 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
	基礎生物学研究所 時空間制御研究室	准教授	野中 茂紀

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>単一ペプチドニューロンにおける有芯小胞の開口放出現象を可視化することを目的として終神経(TN)-ゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH3)産生ニューロン特異的に開口放出センサータンパク質 SynaptopHluorin (SpH)を発現する <i>gnrh3:sph</i> トランスジェニック(TG)メダカ脳の <i>ex vivo</i> 標本を用いて、稚魚脳内 TN-GnRH3 ニューロンからライブイメージングを行い、自発的な開口放出を検出・解析した。</p> <p>その結果、開口放出を反映する一過性 SpH 蛍光強度上昇が TN-GnRH3 ニューロンの細胞体・軸索の両方で見られたが、その発生回数は細胞体・軸索共に極めて少なかった(5分間で数回)。使用した稚魚期のメダカ GnRH3 ニューロンはペプチド開口放出を誘起しやすいと想定されているバースト状自発発火活動を示すことが報告されているが、この状態でも TN-GnRH3 ニューロンの自発的な開口放出頻度は極めて低いことが示唆された。また一過性 SpH 蛍光強度上昇には時間推移が異なる2パターンがみられ、そのうちの1パターンが薬理的な TN-GnRH3 ニューロンへの興奮性シナプス入力増大によって増加した。</p> <p>しかしながら当初予定していた光シート顕微鏡を使用した観察方法では標本を寒天包埋する故に薬理的な刺激方法を行う事が出来ず、自発的な放出活動頻度が低いため、観察方法の再検討が必要となった。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>上記内容の一部を動物学会大会にて発表すると共に、他の観察結果と併せて論文投稿の予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月24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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-508		
研究期間	2019年 4月 1日 ~2020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	嶋田 侑莉
	弘前大学・大学院農学生命科学研究科	大学院生	多田 玲美
	弘前大学・大学院農学生命科学研究科	大学院生	成澤 勇斗
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	小西 歩美
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	横山 響
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	吉田 貴史
	弘前大学・農学生命科学部	学部学生	平澤 信太郎
	基礎生物学研究所	NIBB フェロー	坂本 丞

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>前年度までの実験でツメガエルの皮膚再生に寄与することが示されている皮下組織に対して、IR-LEGO で細胞標識する予備実験を行っていたが、本年度の共同利用研究で本格的な条件検討を行い、表面から 100 μ m 程度の深部の細胞を標識することに成功した。本成果は査読のあるジャーナルにて発表し (Abe et al)、本共同利用研究に acknowledge した。またレーザー照射によるサンプルの温度上昇を色素で計測する方法について代表者と所内対応者を中心に議論し、現在予備実験を行っている。今後はイメージングの技術を駆使して、局所的な遺伝子発現誘導の強度と範囲を定量的に評価できるようにすることで、四肢のパターン形成に関わる遺伝子の発現誘導による四肢再生への影響を実証する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究の成果は 2020 年夏に行われる第 3 回再生学異分野融合研究会での発表を予定している。</p>
<p>備考</p>	<p>Abe et al. の論文のタイトル、巻号などの詳細は以下の通りである。 Abe G, Hayashi T, Yoshida K, Yoshida T, Kudoh H, Sakamoto J, Konishi A, Kamei Y, Takeuchi T, Tamura K, Yokoyama H. (2020) Insights regarding skin regeneration in non-amniote vertebrates: Skin regeneration without scar formation and potential step-up to a higher level of regeneration. <i>Semin Cell Dev Biol.</i> 100:109-121. (DOI: 10.1016/j.semcdb.2019.11.014)</p>

※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（ 2020 年度 ）

2020 年 4 月 2 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	精神疾患モデル動物大脳皮質樹状突起構造の解析		
課題番号	19-509		
研究期間	2019 年 4 月 1 日 ～ 2020 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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>前頭前皮質は、計画、注意、意思決定といった認知機能に重要な役割を果たし、精神疾患ではその変調が生じる。マカクザル大脳皮質領野に特異的に発現する遺伝子のスクリーニングを行い、軸索誘導因子 <i>SLIT1</i> が前頭前皮質に強く発現することを見出した。<i>Slit</i> は、線虫からヒトに至るまで多くの生物種に存在し、受容体 <i>Robo</i> を介して成長円錐を反発あるいは崩壊させる軸索誘導因子として機能することが知られている。これらの分子は生後発達期～成体の大脳皮質でも発現が観察され、胚発生期の軸索誘導作用とは異なる役割が示唆される。今年度は、<i>Slit-Robo</i> シグナリングの大脳皮質錐体細胞の形態形成、特に樹状突起形成への影響を検討を行った。1) <i>in utero</i> エレクトロポレーションにより <i>Robo1-sh</i> RNA 配列を大脳皮質 2-3 層特異的に導入することにより、錐体細胞樹状突起形態への影響を評価した。妊娠 15 日目の ICR マウスの子宮を露出し、胎児脳室内に <i>Robo1-sh</i> RNA+GFP 配列を含むベクター溶液を注入し、電気穿孔法で大脳皮質浅層錐体細胞に当該ベクターを導入した。仔マウスが成体になった後、深麻酔下でリン酸緩衝生理食塩水(PBS)の灌流による放血致死後、固定液(4% PFA/0.1M PB)を流し込み、脳組織を迅速に固定した。脳組織の切片を作成し、抗 GFP 抗体を用いて蛍光シグナルを検出した。基底樹状突起の展開フィールドが小さくなること、樹状突起スパインが細く未成熟型のものが増加していた。現在、尖状樹状突起の解析を進めている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Sasaki et al., Intraventricular IL-17A administration activates microglia and alters their localization in the cerebral cortex of fetal brain. <i>in submission</i>.</p> <p>Sasaki et al., Expression patterns of SLIT/ROBO mRNAs reveal a characteristic feature in the entorhinal-hippocampal area of macaque monkeys. <i>in submission</i></p>
<p>備考</p>	<p>研究の priority 保護のために「研究成果の概要及び今後の展望」の欄の掲載を 1 年程度猶予いただくことは可能でしょうか？</p>

※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）

2020年5月29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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	発達初期の小胞子表面に現れる多糖モジュールの構造解析		
課題番号	19-510		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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	松岡 耕汰

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>花粉の表面はエキシンと呼ばれる立体構造で覆われており、この構造は種特異的かつ極めて多様であり、遺伝情報がどのようなしくみでこの形態に反映されるのか興味深い。たとえば3次元的な網目構造を持つシロイヌナズナのエキシンの場合、発達過程のエキシンの網の目の中にはキシランやペクチンのモジュールが形成されていることを見出しており、これらが網目構造形成の鋳型として働くと推定している。一方、イネのエキシンは網目構造を持たず、小さい突起を持つ球面が2層に重なってできている。本年度はこのイネの花粉について、多糖モジュールの有無やその構造の解析を試みた。イネの花粉からはキシランのシグナルが検出できず、キシランの役割は網目の穴を形成することであるという現在のモデルを裏付ける結果となった。一方、ペクチンは減数分裂の直後から検出され、下層エキシンのさらに下で広がっており、細胞膜や花粉発達後期に形成される多糖性の二次細胞壁（インティン）との関係が注目された。この部分の詳細な構造を明らかにするため、免疫電子顕微鏡法を実施した。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>引き続きイネの花粉の解析を進め、2020年度中の学会発表ならびに投稿論文の作成を予定している。</p>
<p>備考</p>	

※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4月17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：加藤泰彦

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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 法を用いたオオミジンコにおける細胞特異的な遺伝子発現誘導システムの開発と応用		
課題番号	19-511		
研究期間	2019年 4月 1日 ~2020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
	大阪大学大学院工学研究科	教授	渡邊肇
	大阪大学大学院工学研究科	修士課程2年	藤川真奈

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>オオミジンコにおいて熱ショックによる時空間的な遺伝子発現制御法を開発するために、オオミジンコ由来の HSP70 プロモーター制御下で GFP を発現するトランスジェニック個体 (HSE-GFP 系統) を作出した。この系統の個体全体に熱ショックを与えるとユビキタスに GFP が発現し、用いた HSP70 プロモーターが熱ショックによる遺伝子発現誘導に適していることが示唆された。</p> <p>現在、IR-LEGO 法により HSE-GFP 系統に赤外線レーザーを照射することで細胞特異的に熱ショックにより遺伝子発現を誘導する方法を開発している。孵化後の胚において、GFP を誘導するためのレーザーの照射条件を見出した。</p> <p>今後、共同研究により、様々な発生ステージ、組織で発現制御が可能となれば、環境依存的な性決定メカニズムを含めた環境応答機構の解析に用いることが可能となると思われる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>IR-LEGO 法を用いた胚における遺伝子発現誘導について研究成果を発表する予定である。</p>
<p>備考</p>	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

平成 年 月 日
Date(Day/Month/Year):

令和元年度統合イメージング共同利用研究実施報告書

2019FY Research report for "Collaborative research projects for integrative bioimaging"

自然科学研究機構

基礎生物学研究所長 殿

To the NIBB Director General,
National Institutes of Natural Sciences

所 属 Institute of Biomedical Sciences (Mackay Medical College)

Institution:

職 名 Visiting Professor

Position:

氏 名 Huai-Jen Tsai

Name:

下記のとおり令和 1 年度統合イメージング共同利用研究を実施しましたので、報告します。

I report the implementation of the collaborative research project in 2019 FY.

記
Note

1. 研究題目 Cavl-expressing Subtype-specific Cells at Rostral Side of Lesion Site Play Major Roles in Neuronal Regeneration after Spinal Cord Injury of Zebrafish

Research project title:

2. 共同利用研究者（基礎生物学研究所内共同研究者も記入すること。）
Researchers and graduate students who ware join the project
(Fill in NIBB researchers, too)

氏 名 Name:	所 属 Institution:	職 名 Position:
Chih-Wei Zeng	National Taiwan University	Postdoc.
Yasuhiro Kamei	National Institute for Basic Biology	Assoc. Prof.

3. 研究の概要 (別添, 1000字以内)
 Abstract of the collaborative research project
 (Attachment (next page), within A4 1 page)

Herein, we asked if 1) a subtype-specific cell population is involved in neuronal regeneration after spinal cord injury (SCI) and 2) the characteristics and functions of cells at both sides of SCI lesion are different. Addressing these questions, we treated stress-responsive transgenic zebrafish embryos with SCI and found a subtype-specific cell population, termed SCI stress-responsive regenerating cells (SrRCs), essential for neuronal regeneration post-SCI. SrRCs consisted of radial glia (RGs-SrRCs) and neuron stem/progenitor cells (NSPCs-SrRCs) able to proliferate and differentiate into neurons post-SCI, while RGs-non-SrRCs and NSPCs-non-SrRCs subtypes underwent apoptosis. Compared to SrRCs at caudal side of SCI site (caudal-SrRCs), SrRCs at rostral side (rostral-SrRCs) participated more actively in neuronal regeneration by forming glial bridges, synapsing with motoneurons and rescuing muscle locomotion in the SCI larvae. Finally, rostral-SrRCs differentially expressed *caveolin* gene able to enhance the regenerative capability of caudal-SrRCs and mammalian motoneurons, making it a potential therapeutic target for SCI.

Collaborative research projects for integrative bioimaging (2019FY)

- 1 Please overwrite the Project Leader's name here (Please write the institution name here.)•Please overwrite the Collaborators name here (Please write the institution name here.)•Please overwrite the name of researchers and graduate students who ware join the project here (Please write the institution name here.)

Please overwrite the research project title here.

Please write the text in the following four items. (Please write after the item name.)

[Purpose] In the present study, we attempted to resolve key questions and competing hypotheses, as noted above, by identifying (1) any subtype-specific cell populations involved in neural regeneration following SCI stress, as well as the composition and proportion of cell types belonging to such subtype-specific cell population, (2) the biological characteristics and functions of such subtype-specific cell populations relative to rostral vs. caudal sides of SCI, and (3) any major gene involved in differentiating rostral vs. caudal cells in the regeneration process.

[Method]

1. To treat zebrafish *huORFZ* embryos at 72 hpf with mechanical SCI.
2. To employ the IR-LEGO technology developed by Kamei's lab to ablate anterior or posterior GFP(+) cells in the particular site of spinal cord without impeding the development of other tissues or organs
3. To observe the lesion of spinal cord
4. To examine the muscle movement and swimming capability
5. To measure the recovery duration (days) after SCI
6. To standardized the protocol (e.g. How many cell number of GFP(+) at particular site of spinal cord are ablated, it requires how many days that mechanical SCI-treated zebrafish larvae are recovered to normal movement)
7. To compare the recovery situation among the mechanical SCI-treated embryos and mechanical SCI combined with GFP(+)-ablation in embryos.

[Results]

Results showed that a subtype-specific cell population, termed SrRCs, is highly responsive to laterally mechanical SCI stress and actively participates in neuronal regeneration. SrRCs are mostly composed of two main cell subtypes, RGs, and NSPCs, but also a few OLS and OLPs. More importantly, we found cell-type proportionality in response to SCI stress in zebrafish. Specifically, after mechanical SCI in zebrafish embryos, NSPCs-SrRCs develop axons which synapse onto undamaged motor neurons, while RGs-SrRCs form glial bridges. Other SrRCs differentiate into neurons and extend axons to synapse with each other and surviving motor neurons, resulting in neuronal regeneration across the lesion. Interestingly, we found that the subset of subtype-specific cells that form rostral-SrRCs can elongate their axons to a greater degree compared to that form caudal-SrRCs. Ablation of rostral-SrRCs resulted in the withdrawal of axons initially developed from caudal-SrRCs, while ablation of caudal-SrRCs had little effect

on axons developed from rostral-SrRCs which were able to continuously develop.

[Discussion and prospects]

The above findings support the hypothesis that rostral- and caudal-SrRC are involved in neuronal regeneration of SCI-treated zebrafish, but that rostral-SrRCs play a more prominent role because rostral-SrRCs exhibit a higher expression of factors such as CTCF and Cav1. Nevertheless, future studies must be performed to decisively in order to understand the unique biological characteristics of rostral-SrRCs.

平成 年 月 日
Date(Day/Month/Year):

令和元年度統合イメージング共同利用研究実施報告書

2019FY Research report for "Collaborative research projects for integrative bioimaging"

自然科学研究機構

基礎生物学研究所長 殿

To the NIBB Director General,
National Institutes of Natural Sciences

所 属 Inst. of Biochemical Sciences, NTU

Institution:

職 名 Associate professor

Position:

氏 名 KUAN, Yung-Shu

Name:

下記のとおり令和 1 年度統合イメージング共同利用研究を実施しましたので、報告します。

I report the implementation of the collaborative research project in 2019 FY.

記
Note

1. 研究題目 Trace single neuronal precursor in zebrafish embryonic brain using IR-LEGO
Research project title:
2. 共同利用研究者（基礎生物学研究所内共同研究者も記入すること。）
Researchers and graduate students who ware join the project
(Fill in NIBB researchers, too)

氏 名 Name:	所 属 Institution:	職 名 Position:
Dr. KAMEI, Yasuhiro	NIBB	
Dr. KUAN, Yung-Shu	Inst. of Biochemical Sciences, College of Life Science, National Taiwan University	Associate Prof.
Mr. PAN, He-Yen	Inst. of Biochemical Sciences, College of Life Science, National Taiwan University	Master degree TA

3. 研究の概要 (別添, 1000字以内)

Abstract of the collaborative research project
(Attachment (next page), within A4 1 page)

Kuan's laboratory in National Taiwan University (NTU) is interested in deciphering the developmental blueprint of the highly conserved habenular nuclei (HA) in zebrafish embryonic brain. Previously, we found that mature neurons in HA and the proneural gene *ngn1* expression in the diencephalic subventricular zone is greatly reduced in the *wntless* (*wls*) mutants (Dev Bio 406:117-128, 2015). These results suggest that *ngn1* positive proneurons will differentiate into HA neurons during the development of zebrafish embryonic brain. We had tested Kaede to trace the *ngn1* positive progenitors and it was unsuccessful due to the highly unstable nature of Kaede color switch condition. We therefore turned our strategy to **adopt Dr. Kamei's invention (the IR-LEGO system) to conduct the cell labeling experiments**. We collected some labeling results in NIBB before and the results were very positive yet were not reaching the paper publishing quality. This year (Jan, 2020), we went to NIBB to conduct more experiments using the IR-LEGO in order to finish what we had started few years ago, to prove that diencephalic *ngn1* positive precursors will development into HA neurons in the zebrafish embryos. Below are the results we obtained this time.

Collaborative research projects for integrative bioimaging (2019FY)

1 Projector Leader: Dr. KAMEI and Dr. KUAN

2. Project Title:

Trace single neuronal precursors in zebrafish embryonic brain using IR-LEGO

3. Purpose

Label and trace *ngn1*-positive neuronal progenitors in diencephalon during zebrafish development

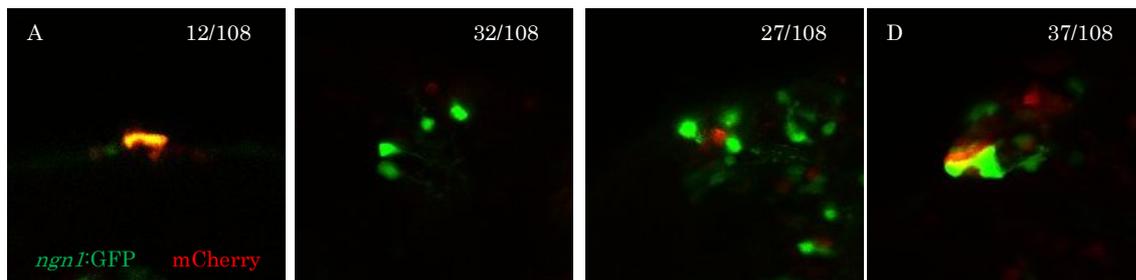
4. Method

(1) Injecting Tol2(*ngn1*:GFP) plasmids into Tg (CMV:mCherry) fish to mark the *ngn1*-positive cells in live embryos at 48hpt.

(2) Using IR-LEGO to induce mCherry expression in those *ngn1*:GFP-positive cells at 48hpf

(3) Taking confocal images to trace whether IR-LEGO labeled cells would become habenular neurons.

5. Results



(A-B) IR-LEGO induced mCherry expression in *ngn1*-GFP cells at 48hpf were found to develop into habenula neurons at 72hpf.

6. Discussion and prospects

These data we obtained in Dr. Kamei's lab again confirmed that *ngn1*-positive progenitors located under the pineal are habenular progenitor cells. We currently are composing a paper utilizing these data we collected in NIBB.

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2020年6月3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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-514		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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
	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>熱ショックプロモーター制御下で GFP を発現する Tg アフリカツメガエル幼生の Stage50.5 から Stage54.5 までの後肢芽に対し、IR-LEGO 法によって数細胞レベルの GFP ラベルを肢芽全体に対して行い（計 100～200 箇所 / 個体）、2 光子顕微鏡を用いたイメージングによって各発生ステージにおける細胞の位置座標データを取得した（2018 年度までに取得）。</p> <p>今年度は、このイメージングデータからアフリカツメガエル後肢芽組織の変形動態の定量解析を行い、以前に得られたニワトリ胚後肢芽の変形動態 [Morishita, Kuroiwa, and Suzuki, Development, 2015] との種間比較を行った。異種間で変形動態を直接比較するための数理解析手法を開発し、アフリカツメガエル幼生とニワトリ胚の後肢芽発生時のデータへ適用したところ、適切な座標下では 2 種の変形動態が一致することを明らかにした。この結果は、種に共通した形態形成則の存在を示唆すると考えられる。2020 年度の上半期での投稿を目指して、現在これらの結果を論文にまとめている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020 年 日本数理生物学会年会【口頭発表】 （2020 年 9 月 20 日～22 日 on line 開催）</p> <p>Keystone Simposia “Engineering Multi-Cellular Living Systems” 【口頭発表】（招待） （February 07 - 11, 2021）</p>
<p>備考</p>	

※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（ R1年度）

2020年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：(研究当時) 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-515		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020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	特任准教授	亀井 保博
	横浜市立大学	特任助教	爲重 才覚
	北海道大学	博士後期3年	友井 拓実

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>これまでの本共同利用研究の成果によって、見熱処理特異的な新規 HSP18.2 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)を作成した。形質転換第一世代集団を用いて定量的 PCR により 1 コピー挿入株として選抜した 2 株の第二世代 (T₂)、第三世代 (T₃) 種子を得て、それら集団を用いて導入遺伝子コピー数を定量的 PCR によって検証した結果、ハプロイド当たり 2 コピーおよび 4 コピー挿入株を得ていたことが判明した。そこでよりコピー数の少ない 2 コピー挿入体を今後用いることとした。本株を用いて、熱ショック特異的に Venus タンパク質を発現する株と交配し、両者のホモ挿入個体を得た。本個体を用いて、これまで根組織において熱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った。一方、葉組織においては一定の熱ショック条件(は組織全体)で Dex 特異的に Venus 蛍光が検出されることが明らかとなった。今後、IR—LEGO を用いてさらなる詳細な条件検討を行い、成果発表を行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>上記のように、現在得られた二コピー挿入 pHSP18.2ver2-CRE-GR 植物を用いて、葉組織での遺伝子誘導発現条件を検討し、論文発表を行いたい。</p>
<p>備考</p>	<p>報告者の別役は 2020 年 4 月より龍谷大学農学部植物生命科学科の准教授となっているが、変更届未提出のため、旧所属で提出させていただきます。</p>

※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 2019

13/5/2020

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

19-516

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

01/04/2019 – 31/03/2020

5. Host researcher

Dr. Kagayaki Kato

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name

7. Outline of research results and future prospects*

The aim of this collaboration was to establish a quantitative method to analyze the organization of actin cytoskeleton in the endothelial cell cortex after manipulating the levels of actin regulatory proteins. The expression level of MARCKSL1, an actin bundling protein, in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) was increased by transfection of MARCKSL1-EGFP or knocked down by siRNA. Superresolution images of the actin cytoskeleton were subsequently analyzed by Dr. Kagayaki Kato, who developed a software to quantify the density and thickness of actin bundles.

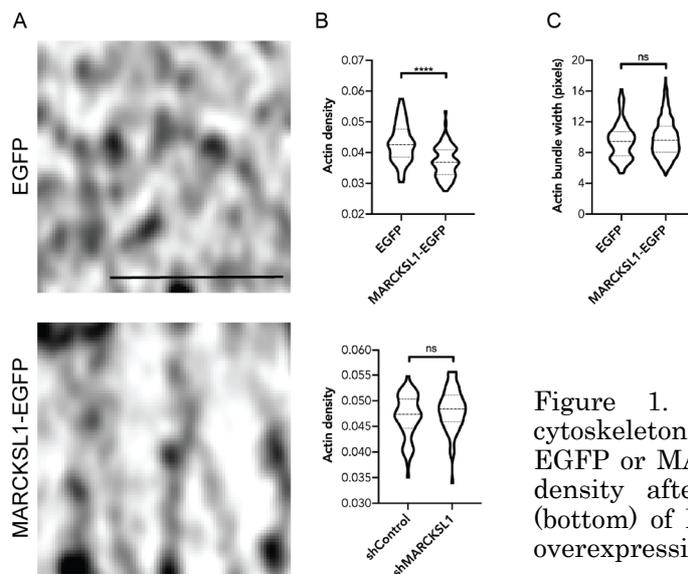


Figure 1. A) Superresolution images of actin cytoskeleton (Phalloidin) in HUVECs transfected with EGFP or MARCKSL-EGFP. Scale bar, 2 μ m. B) Actin density after overexpression (top) and knockdown (bottom) of MARCKSL1. C) Actin bundle width after overexpression of MARCKSL1.

This results support the hypothesis that MARCKSL1 has a role in organizing the actin cytoskeleton to regulate endothelial cell shape.

8. Publications or publication plan*

Results from this collaboration are included in Kondrychyn *et al.*, 2020, which is currently under revision to be published in Nature Communications.

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）

2020年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：沖縄科学技術大学院大学
細胞シグナルユニット

氏名：柳谷朗子

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	CCR4-NOT 脱アデニル化酵素複合体による転写後制御の生理学的機能解析		
課題番号	19-517		
研究期間	2019年 4月1日 ~ 2020年 3月31日		
所内対応者	加藤輝		
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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2019 度は、免疫組織染色してイメージング解析をするノックアウトマウスが解析に必要な匹数が揃わなかった為、誠に残念なことにイメージング共同利用研究を利用することが不可能であった。</p> <p>2020 年度は、イメージング解析に十分なノックアウトマウスを準備でき、また免疫組織染色も全て完了する予定である。撮影した蛍光免疫組織染色像の解析（面積、数、輝度の測定）の為に、2021 年度にイメージング共同利用研究を利用したいと考えている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>該当なし。</p>
<p>備考</p>	

※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 2019

Date (12/5/2020)

To Director General of NIBB

Principal Investigator Name : Tobias I. Baskin

Institution : University of
Massachusetts, Amherst

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

Targeted perturbation of root growth with IR-LIGO

3. Project number

19-518

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

30/06/2020 to 24/08/2020

5. Host researcher

Prof. Miyo Morita

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name
University of Massachusetts	Professor	Tobias I Baskin
“ “	Undergraduate	Melissa Elmali

National Inst. Basic Biol. Japan	Assoc. Prof.	Takashi Murata
National Inst. Basic Biol. Japan	Assoc. Prof.	Yasuhiro Kamei

7. Outline of research results and future prospects*

The project had two aims. The first was to demonstrate the feasibility of using IR LEGO to activate genes in single cells of the plant root at defined positions. The second aim was to characterize the effect on the dynamics of root growth when a single cell (or small group of cells) that remains meristematic (i.e., proliferative) moves through the elongation zone. To achieve these aims, we used a line of the model plant *Arabidopsis thaliana* engineered to express *PLETHORA2* (*PLT2*) under a heat-shock promoter. The gene was fused to a fluorescent protein so that its expression could be localized with microscopy. At NIBB, undergraduate student Melissa Elmali succeeded in working out conditions for analyzing kinetics of root growth at high resolution through a horizontal microscope and conditions needed for IR-LIGO to induce PLT2 expression in a small number of cells at a specifically desired location in the root. This satisfied the first aim. However, as for the second aim, at NIBB, the roots of the PLT2 line grew at about 1/8th of the expected rate. This rate was too slow for the aim and ways to improve the rate were unsuccessful. The reason for the slow growth of the line remains unexplained. Finally, Ms Elmali found that the dose of IR laser light needed for induction with IR-LIGO inhibited the growth of wild-type roots to a notable extent, a finding meaning that conditions for induction need to be optimized further.

8. Publications or publication plan*

Because the above results were largely negative, we have no publication plan at this time. In future, Professors Morita and Baskin hope to continue collaborating.

9. Remarks, if necessary

Melissa Elmali greatly enjoyed the experience of living and doing research in Japan. She made friends and her cultural horizons were enlarged.

*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）

2020年4月3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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	イモリ変異体の骨パターン解析		
課題番号	19-519		
研究期間	2019年 10月 1日 ~ 2020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
	鳥取大学医学部	助教	松原 遼
	鳥取大学医学部	学部4年生	戸澤 紗代

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>尾と後肢の構造に異常を示すイベリアトゲイモリ変異体の骨構造をマイクロ CT を用いて解析した結果、尾椎の数の変化、および後肢と骨盤の骨構造に大きな異常を発見した。今後はさらにこの観察を多くの個体や異なる変異体系統でも行い、この異常の原因遺伝子の機能を解明する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>今年度の解析結果を加えて年度内の学会、および来年度には論文として発表したい。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月30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：鈴木 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	コンピューター断層撮影法によるネツタイツメガエル近交系の 3D 表現型解析		
課題番号	19-520		
研究期間	2019年9月19日 ～2020年3月31日		
所内対応者	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
	広島大学両生類研究センター	教授	荻野 肇
	広島大学両生類研究センター	助教	井川 武
	広島大学理学研究科生物科学専攻	大学院生(博士課程前期2年)	石井 理央奈

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、広島大学両生類研究センターで作出されたネッタイツメガエル (<i>Xenopus tropicalis</i>) の近交系4系統 (Nigerian A, Nigerian H, Nigerian BH (旧名 Golden), Ivory Coast) の表現型について特に内部構造の差異を明らかにすることを目的として、マイクロ CT (Computed Tomography, コンピュータ断層撮影) 装置を用いた解析を行った。4系統を発生段階 66 (変態直後) と性成熟完了後の2段階で採集し、ホルマリンを含む溶液で固定処理した。硬骨組織のイメージングについては無染色のまま行うこととし、その他の軟組織のイメージングについてはヨウ素ヨウ化カリウムを主成分とし脂質性組織の染色に優れたルゴール溶液と、より均一な染色をもたらすリンタングステン酸液による2通りの染色法を併用した。以上の方法で調整したサンプルを基礎生物学研究所の小型実験動物用3D マイクロ X線 CT の R_mCT2 (Rigaku) を用いて観察した。得られた画像データはマイクロ CT 付属ソフトウェア又は画像処理ソフトウェア OsiriX (http://www.osirix-viewer.com)を用いて解析した。その結果、硬骨組織のイメージングについては変態直後と性成熟完了後の2段階の両方で成功し、全身骨格の可視化が可能になった。また Nigerian BH の爪状構造の低形成化の詳細な解析から後肢の指骨に変形を同定した。一方で軟組織のイメージングについては、幼生を用いた条件検討からリンタングステン酸液が有効であることが明らかになったが、変態後の個体では浸透度の問題から可視化の成功には至らなかった。今後さらに条件検討を進める予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究成果の一部は以下の学会発表で公表した。</p> <p>井川 武, 鈴木 誠, 柏木昭彦, 柏木啓子, 古野伸明, 鈴木菜花, 田澤一朗, 高瀬 稔, 三浦 郁夫, 鈴木 厚, 花田秀樹, 中島圭介, 彦坂 暁, 越智陽城, 加藤尚志, 森 司, 荻野 肇: ネッタイツメガエルを用いた遺伝学・ゲノム科学的 リソース基盤の形成とその活用. (第 42 回日本分子生物学会年会, マリンメッセ福岡, 福岡市, 2019.12.3-6, バイオリソース展示)</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月18日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：兵庫県立大 大学院生命理学研究科
氏名： 池谷 仁里

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	接合藻類アオミドロ傷害応答による原形質集積機構の解明		
課題番号	19-521		
研究期間	2019年 9月 19日 ～ 2020年 3月 31日		
所内対応者	野中茂紀 准教授（基礎生物学研究所 時空間制御研究室）		
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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>緑藻アオミドロ (<i>Spirogira hopeiensis</i>) を実験材料として用いた。 <i>S. hopeiensis</i> は細胞内の葉緑体が1本であるため、複数の葉緑体をもつアオミドロに比べて原形質流動が観察しやすい。</p> <p>アオミドロの障害応答は藻体切断直後から原形質が集積するだけでなく、切断された死細胞が新しく末端となった生細胞から解離する現象を伴うことが分かった。アクチンの重合阻害剤であるラトラキュリンB処理や細胞膜に存在する Ca^{2+} 透過性伸展活性化チャンネルの阻害剤である Gd^{3+}処理によって原形質集積が抑制された。また、以上の結果から、障害応答によるアオミドロの原形質集積は原形質流動の減速や停止によって誘起されることが示唆された。</p> <p>今後は原形質集積に対する原形質流動に着目し、間接抗体免疫法によるアクチン繊維の動態変化の解明、細胞内カルシウム濃度測定、アオミドロゲノム情報からの原形質集積に係る細胞骨格の関連遺伝子群の抽出や遺伝子破壊株確立と表現型解析を行う予定である。貴研究所において fluo-4 AM, fura-2 AM などのカルシウム蛍光指示薬を用いて褪色が少なく長時間観察が可能な二光子顕微鏡による細胞内カルシウム濃度測定を進めている。</p> <p>本研究は陸上植物に最も近縁なアオミドロの障害応答の分子機構を明らかにすることで、陸上植物につらなる系統で獲得された障害応答に関する新たな知見が得られ、植物の進化研究の飛躍に繋がることが期待される。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>植物細胞の原形質集積は海産藻類オオバロニアの不動孢子形成過程やジャガイモの過敏感細胞死の過程で観察されているが、障害応答による原形質集積に着目した研究は殆ど行われてこなかった。本研究は緑藻アオミドロにおいて機械的刺激による障害応答によって死細胞の隣の生細胞で原形質集積が起こることを見出している。今後、藻体切断直後から原形質集積に係る細胞骨格の動態変化や細胞内カルシウムの影響を明らかにした後、論文出版および学会報告を予定している。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月6日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：Rutgers University

氏名：中村 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	Establishment of 4D Single Cell Resolution Developmental Atlas of Zebrafish embryo		
課題番号	19-522		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	Rutgers University	Master student	Myles Jackson
	基礎生物学研究所	准教授	野中 茂紀
	基礎生物学研究所	教授	高田 慎治
	基礎生物学研究所	助教	矢部 泰二郎
	基礎生物学研究所	教授	東島 眞一
	基礎生物学研究所	特任教授	成瀬 清

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ゼブラフィッシュのヒレ発生における全細胞の追跡を可能にするため、Histone-H2B mcherry mRNA をゼブラフィッシュ受精卵にインジェクションして、その後ライトシート顕微鏡で蛍光で標識された核をライブイメージングした。本研究で、ゼブラフィッシュの受精卵の準備とインジェクションに必要な機器は高田慎治先生、矢部泰二郎先生、成瀬清先生に、またライトシート顕微鏡については野中茂紀先生に準備とセッティングを助けていただいた。</p> <p>大学院生である Myles Jackson が野生型ゼブラフィッシュ受精卵約50個に Histone-H2B mcherry mRNA をインジェクションし、その後28度で約36時間インキュベートした。36時間後に、蛍光実体顕微鏡を用いて、H2B mcherry の蛍光が明るい個体を選別し、低融点アガロースゲルを用いて、ライトシート顕微鏡用のシリコンチューブ内に固定した。その後、ライトシート顕微鏡内で約36時間培養し、受精後72時間まで胚発生を観察した。各細胞の動きを正確に観察するため、5分ごとにヒレ領域を3次元スキャンした。36時間の培養中に、ゼブラフィッシュ胚は正常に発生し、ヒレが成長する過程をイメージングすることに成功した。約2週間という短い滞在期間であったが、条件設定から開始して3回のライブイメージングに成功し、十分なデータが得られたと考えている。現在は、得られたデータを用いて3次元の細胞移動をコンピューターで解析し、ヒレ発生との関連を調べているところである。</p> <p>今後は、細胞移動の解析後、遺伝子組み換えゼブラフィッシュをイメージングに使用する可能性がある。私達は骨の発生を解析するために、sp7;EGFP トランスジェニックフィッシュを使用している。このトランスジェニックを用いることで、骨細胞が発生するのをリアルタイムに観察する事ができる。現在の実験の進行状況により、sp:7EGFP ラインに H2B-mcherry mRNA をインジェクションし、全ての細胞系譜と骨細胞の分化状態を同時にライブイメージングする予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	

備考	
----	--

※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

19-601 細胞内共生起源学 -光合成共生体を認識し、取込み、維持するメカニズムを探る-

丸山 真一郎 東北大学大学院生命科学研究科 大学院生命科学研究科

19-602 再生学異分野融合研究会

田村 宏治 東北大学大学院生命科学研究科 大学院生命科学研究科

19-603 異分野融合による次世代光生物学

寺北明久 大阪市立大学大学院理学研究科 大学院理学研究科

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（令和元年度）

2020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：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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	細胞内共生起源学 -光合成共生体を認識し、取込み、維持するメカニズムを探る-		
課題番号	19-601		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	高橋俊一		
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
	別紙参照		

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>細胞内共生の起源と進化、特にサンゴやイソギンチャクと褐虫藻、ヒドラと緑藻などの刺胞動物と藻類の共生モデルについて、最先端の話題を提供し議論し合い、またこうした共生モデル系に限らず幅広い共生関係に関する最新技術と知識を共有し合うことができる活発な研究会を行うことができた。</p> <p>実際に、この研究会をきっかけに新しい共同研究がスタートするなど、具体的な研究交流への貢献もあったことを確認でき、幹事として非常に有意義な研究会だったと自負している。また基生研が共同研究や研究会開催という点で優れた施設であることも参加者に認識されたという報告も受けており、さらなる発展が期待できる。今後も、この研究会が発端となり、新しい共生研究、共生工学や環境共生学への発展へ向けた交流が広がることが十分期待できる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>該当なし</p>
<p>備考</p>	<p>該当なし</p>

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

(別紙)

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（令和元年度）

課題番号：19-601

研究課題：細胞内共生起源学・光合成共生体を認識し、取込み、維持するメカニズムを探る

研究会発表者

東北大学 助教 丸山真一郎

基生研 准教授 高橋俊一

基生研 NIBB フェロー 酒井祐輔

東京大学 准教授 吉澤 晋

沖縄科学技術大学院大学 研究員 將口 栄一

東京経済大学 准教授 大久保 奈弥

筑波大学 助教 湯山 育子

北里大学 客員教授 丸山 正

お茶の水大学 教授 服田 昌之

岡山大学 助教 濱田 麻友子

北海道大学 教授 力石 嘉人

他一般参加者含め合計35名程度

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2019年9月12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：田村 宏治

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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2回 再生学異分野融合研究会		
課題番号	19-602		
研究期間	2019年 8月 26日 ～ 2019年 8月 27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	教授	田村宏治
	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
	鳥取大学・医学部	教授	竹内 隆
	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	<p><研究会開催概要></p> <p>開催日時: 2019年8月26-27日(2日間)</p> <p>開催場所: 基礎生物学研究所 会議室(明大寺地区)</p> <p>出席者: 33名(所外30名、所内3名)</p> <p>講演15名、ポスター9題</p> <p>主催: 基礎生物学研究所共同利用研究「研究会」(19-602)</p> <p>オーガナイザー: 田村宏治(東北大学)(代表者)</p> <p>梅園良彦(兵庫県立大学)・亀井保博(基生研)・竹内隆(鳥取大学)</p> <p><総括></p> <p>本研究会は、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している。</p> <p>第二回となる今回の研究会では、ゲノム科学・基礎医科学・数理生物学などの異分野研究を再生生物学へ融合するためのより深い議論をめざし、さまざまな動物を用いた再生生物学・幹細胞生物学・組織修復研究者15名による講演、およびポスター9題の発表がなされた。参加者は事前登録者計33名であった。</p> <p>第一回目において、より高角な研究分野を網羅した交流がなされたため、その内容を踏まえて今回は講演数を絞り、ひとつひとつの講演時間とくに質疑応答の時間を長くすることで徹底した議論を行うこととした。意図したとおり、すべての発表において濃密かつ建設的な議論がなされた。問題点の共有と適切なコメント、解析方法などの相互理解、動物間の違いと共通性の理解、などの点で、深い議論が繰り広げられた。ポスター発表においては大学院生を中心に発表が行われ、研究遂行上の問題点へのコメントや今後の展望についての議論が行われた。さまざまなレベルの融合が議論され、当初の目的を果たした。これら二回の成果を基盤に第三回の研究会を企画し、新展開している共同研究等を通じて再生学の発展につなげたい。</p>
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

【プログラム】

8月26日(月)

12:30- 受付(基礎生物学研究所 1F 玄関(研究交流室))

12:55-13:00 開催挨拶(代表: 田村 宏治)

セッション1(座長: 田村 宏治)

13:00-13:30 阿形 清和(基礎生物学研究所)

再生生物学は今、何を狙っているのか

13:30-14:00 竹内 隆(鳥取大学医学部)

イベリアトゲイモリにおける Hox 遺伝子の機能解析

14:00-14:30 佐藤 伸(岡山大学異分野融合先端研究コア)

四肢再生シグナルとパターン形成

14:30-14:45 Coffee Break

セッション2(座長: 竹内 隆)

14:45-15:15 井上 武(学習院大学)

プラナリアの脳機能再生における環境刺激入力への役割

15:15-15:45 三浦 正幸(東京大学薬学系研究科)

非アポトーシスカスパーゼ活性による組織形成と修復の調節

15:45-16:15 亀井 保博(基礎生物学研究所)

1 細胞レベルの細胞観察と操作技術

16:15-16:30 Coffee Break

セッション3(座長: 亀井 保博)

16:30-17:00 和田 浩則(北里大学一般教育部)

ゼブラフィッシュ鱗の発生と再生

17:00-17:30 檜尾 宗志朗(東京大学大学院薬学系研究科)

体内環境を介したショウジョウバエ成虫原基の遠隔的修復制御

17:30-19:30 ポスター発表(10-15 演題程度)、軽食

8月27日(火)

8:30- 開場

セッション4(座長: 和田 浩則)

9:00-9:30 川上 厚志(東京工業大学生命理工学院)

ゼブラフィッシュヒレの再生における位置情報と成長制御のメカニズム

9:30-10:00 山口 智之(東京大学医科学研究所)

異種間キメラから得られた知見

10:00-10:30 横山 仁(弘前大学農学生命科学部)

器官再生を実現する手がかりを Xenopus から探る

-異分野との融合は本当に可能か?-

10:30-10:45 Coffee Break

セッション5 (座長 : 川上 厚志)

10 : 45-11 : 15 正木 英樹 (東京大学医科学研究所)

How to make human-animal chimera?

11 : 15-11 : 45 田村 宏治 (東北大学大学院生命科学研究所)

魚類の四肢再生

11 : 45-13 : 00 Lunch 弁当

セッション6 (座長 : 正木 英樹)

13 : 00-13 : 30 林 利憲 (広島大学両生類研究センター)

イモリが見せる多様な再生様式

13 : 30-14 : 00 梅園 良彦 (兵庫県立大学大学院生命理学研究科)

再生過程における ATP 産生を考える

14 : 00-14 : 10 閉会の辞 (挨拶 : 梅園 良彦)

【ポスター発表】

P 0 1 多田玲美¹、東館拓也²、石川奨馬¹、川口茜³、薬師寺那由他⁴、越智陽城⁵、荻野肇⁶、田村宏治²、横山仁¹ (1 弘前大学、2 東北大学大学院生命科学研究所、3 Research Institute of Molecular Pathology、4 東京理科大学生命医科学研究所、5 山形大学医学部、6 広島大学両生類研究センター)

P 0 2 成澤勇斗¹、林真一²、越智陽城³、蓮瀧里帆¹、嶋田侑莉¹、田村宏治⁴、横山仁¹ (1 弘前大学農学生命科学部、2 徳島大学先端酵素学研究所、3 山形大学医学部、4 東北大学生命科学研究所)

P 0 3 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所動物発生分野)

P 0 4 吉田溪悟、阿部玄武、田村宏治 (東北大学大学院生命科学研究所動物発生分野)

P 0 5 富士田 壮佑¹、倉永 英里奈¹、中嶋 悠一郎^{1,2} (1 東北大学 大学院生命科学研究所、2 東北大学 学際科学フロンティア研究所)

P 0 6 松原遼¹、井上武¹、阿形清和^{2,1} (1 学習院大学理学部生命科学科、2 基礎生物学研究所)

P 0 7 浅田楓、森山恵太、梅園良彦 (兵庫県立大学)

P 0 8 横澤満聡、柴田恵里、川上厚志 (東京工業大学生命理工学院)

P 0 9 田牧輝久、柴田恵里、川上厚志 (東京工業大学生命理工学院)

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2019年11月13日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪市立大学 大学院理学研究科
氏名：寺北 明久

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	異分野融合による次世代光生物学		
課題番号	19-603		
研究期間	2019年 11月 7日 ～ 2019年 11月 8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
	別紙		

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>研究会開催概要 開催日時: 2019年11月7-8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:60名(所外54名、所内6名) 講演27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」(19-603) オーガナイザー:寺北明久(大阪市立大学)(代表者) 小柳光正(大阪市立大学)・亀井保博(基生研)(世話人)</p> <p>総括 本研究会は、生物の光利用に関する研究者と光を技術として利用している研究者という異分野の研究者の交流を積極的にはかることで、今後さらなる発展が期待されている次世代の光生物学について議論し、新しいコミュニティを形成することを目的とするものである。今回は、視覚やロドプシンに関する研究者15名、それ以外の多様な分野の研究者12名による計27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52名、当日参加者8名の60名であった。講演内容は非常に多様で、研究対象は霊長類からバクテリアまでと全生物界にまたがり、また、研究手法も生物物理学、生化学、分光学、組織学、生理学、行動学、ゲノム科学、光遺伝学、顕微鏡科学、ゲノム編集と多岐にわたっていた。このようなヘテロな集団の研究会であったが、いずれの発表においても非常に濃密な議論がなされ、さらに、異分野ならではの新鮮な疑問やコメントによってお互いの研究分野に新しい着眼点や問題意識がもたらされるなど、極めて高いレベルでの融合がみられた。また、一部で共同研究への展開も開始されるなど、当初の目的を果たした。今後は、この研究会で生まれたコミュニティと潮流を活かして、次世代の光生物学の発展につなげたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究会は、19th International Conference on Retinal Proteins (ICRP2020)のHPにおいて紹介している。</p>
<p>備考</p>	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

大型スペクトログラフ共同利用実験

- 19-701 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 大学院医歯薬学総合研究科
- 19-702 可視光線による皮膚細胞の応答
山本 博之 日本薬科大学薬学部 薬学部
- 19-703 視運動反応を用いた魚類における波長感受性の計測
深町 昌司 日本女子大学理学部 理学部
- 19-704 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 理工学部
- 19-705 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 瀬戸内海区水産研究所
- 19-706 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 木原生物学研究所
- 19-707 植物体内を通過して根へ到達した光による微生物共生の活性化
鈴木 章弘 佐賀大学農学部 農学部
- 19-708 遊泳藻類の集団による非対称パターン形成機構の解析
西上 幸範 北海道大学電子科学研究所 電子科学研究所
- 19-709 緑藻ミルの新規フォトレセプターの探索
藤井 律子 大阪市立大学複合先端研究機構 複合先端研究機構

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（令和元年度）

令和2年4月8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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input checked="" type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	19-701		
課題番号	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		
研究期間	平成31年 4月 1日 ~ 令和2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	2年	彌久末 晶子
	岡山大学薬学部	学部学生5年	望月 晴菜

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>これまでの研究に引き続き、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。</p> <p>研究の結果、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に付加体を形成することを見出し、構造同定した。その結果、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)を同定した。生成量の波長依存性を調べたところ、8位付加体(A1,A2)はNPROの光吸収曲線に沿っていたので、NPROのUVA吸収による光反応で付加体形成したことがわかった。さらに、DNAをNPRO共存下UVA照射したところ、dA付加体(A1,A2,P1,P2)およびdG付加体形成が照射量依存的に起こることがわかった。</p> <p>また、NPROの脱炭酸したN-ニトロソピロリジン(NPYR)をUVA照射したところ、光をOFFした後も遺伝毒性を保ち、ヒト由来皮膚角化細胞株(HaCaT)に小核誘発を起こすことを見出した。小核誘発率はNPYRの光吸収曲線に沿ったことから、NPYRが光エネルギー吸収して活性化し、光遺伝毒性を示すことが分かった。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がわかった。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>学会発表</p> <p>1) 17th Congress of the International Union of Photobiology; 発表者: Sakae Arimoto-Kobayashi, Shuhei Aoyama, Chiharu Asahi, Kayoko Sano, Tsutomu Hatano, Sachiko Kimura; 演題: Identification and characterization of new photoadducts from UVA mediated reaction between N-nitrosoproline and DNA; 会期会場: August 25-30 (2019), Barcelona, Spain</p> <p>研究成果論文: 投稿中</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

2020年 4月 10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

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input checked="" type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	皮膚に発現する光受容体の活性化と細胞応答		
課題番号	19-702		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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

（裏面に続く）

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>皮膚細胞である線維芽細胞や角化細胞、メラノサイトに発現するオプシン受容体を RT-PCR 法により探索したところ、細胞により発現する種類は異なるもののいずれの細胞においてもオプシン受容体が発現しており、光を受容する可能性が示唆された。</p> <p>オプシン受容体の活性発現にはシスレチナールの生合成が必要である。そこで、皮膚組織においても網膜と同様に視サイクル（トランスレチナールをシスレチナールに変換する回路）が存在しているのかを視サイクルに関わる酵素発現を RT-PCR 法により解析した。その結果、視サイクルに関わる酵素のすべてが皮膚組織に発現していることが示された。これらのことから、皮膚組織において、オプシン受容体が光を受容して機能を発現していることが推察された。</p> <p>光を受容した後、細胞内の機能について発現が変化するタンパク質を探索することにより評価した。その結果、光線の曝露により中間系フィラメントの翻訳後修飾や成長因子のプロセッシングが変化していた。当初の課題の一つであった細胞内シグナル伝達までは解析が進んでいないため、今後 cAMP や細胞内 Ca^{2+} 濃度、リン酸化タンパク質の解析を実施する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>光線曝露後の細胞内シグナル伝達機構が視細胞と同様の機序により起こっているのかを明らかにして論文投稿を行いたい。</p>
<p>備考</p>	

※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：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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input checked="" type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	視運動反応を用いた魚類における波長感受性の計測		
課題番号	19-703		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	日本女子大学	学術研究員	松尾恵
	日本女子大学	学部4年生	増田理沙子
	日本女子大学	学部3年生	大野はる菜
	日本女子大学	学部3年生	榊原真菜

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>今年度は、特に青錐体オプシン (short wavelength sensitive 2) KO メダカ (青色盲メダカ) に着目し、視運動反応を利用して青色光感受性を調べた。OLS の出力を半分にし、スリット幅を最大限狭くしても、光量が多すぎるようで、波長 400 nm 前後の青色光の感受性は、野生型と青色盲とで違いが検出されなかった。そこで、各種 ND フィルタ (10%、2.2%、1.0%) を使うことで青色光の光量を下げて実験を行なったが、やはり野生型と青色盲とで違いが検出されなかった。</p> <p>赤錐体オプシン (long wavelength sensitive) KO メダカの研究では、明らかな赤色光感受性の低下が検出されたため (Homma et al. 2017; Matsuo et al. 2018)、青錐体オプシンの KO に失敗しているとは考えにくい。赤色光は LWS しか吸収できないのに対し、青色光は SWS2 の他に紫錐体オプシン (short wavelength sensitive 1) や緑錐体オプシン (rhodopsin 2) も吸収することができるため、SWS2 KO の影響が出にくい／出ないと考えられる。</p> <p>今後は、すでに作出した紫色盲メダカと青色盲メダカを交配することで紫青二重色盲メダカを作出し、紫色光および青色光の感受性を野生型と比較する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>青色盲メダカに関し、上述の青色光感受性に関して論文を執筆、投稿した。現在 <i>Frontiers in Genetics</i> 誌で査読中である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月22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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input checked="" type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-704		
研究期間	2019年 4月 1日 ~2020年 3月 30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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、ナンキョクカワノリが持つ長波長光吸収タンパク質の機能とメカニズムを解明することを目指している。大型スペクトログラフにより測定した光合成の作用スペクトルの結果を論文に発表した (Kosugi et al. 2020)。本年度は発現における光波長依存性をリアルタイム PCR により調べることを目的としていた。これまでに、長波長の光成分が多い光源で発現が誘導されることが明らかになっているため、その条件下で前実験を行った。その結果、培養株に標的タンパク質を発現する系統と発現しない系統が混在していることが判明した。長期間、発現を誘導しない条件で培養したことが原因と考えられる。野外採集サンプルに比べて培養株における標的タンパク質のクロロフィル辺りの発現量は少なかった。発現しない細胞の割合が多い状態では mRNA の発現量の比較は難しいため、現在、発現誘導条件での培養株のスクリーニングを行っている。</p> <p>今後は、標的タンパク質を発現する株を単離し、リアルタイム PCR でプライマーの品質を確認する。解析条件が決定した後に大型スペクトログラフを利用した発現の波長依存性を測定する。標的タンパク質を発現しない株も単離し、照射実験のコントロールとして用いる予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>成果論文 Kosugi, M., Ozawa, S., Takahashi, Y., Kamei, Y., Itoh, S., Kudoh, S., Kashino, Y. and Koike, H. (2020) Red-shifted chlorophyll a bands allow uphill energy transfer to photosystem II reaction centers in an aerial green alga, <i>Prasiola crispa</i>, harvested in Antarctica, <i>Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.</i> 1861, 148139.</p> <p>今後、大型スペクトログラフの照射による発現誘導実験を行い、結果を論文にまとめ、学会等で発表する。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 30 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。

記

分類 (いずれかを選択してください)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input checked="" type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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	19-705		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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 *Karenia mikimotoi* (以下、カレニア) KmUW3 とそのウイルス KmV (KmDNAV3) 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、殺藻性の強いウイルス株を用いて実験を行った。24 穴培養プレートの 1 ウェルに、KmUW3 培養液 2 mL および KmDNAV3 溶液 0.2 mL を入れ、以下の条件で試験を行った。通常光照射のもと (6:00~18:00)、UV~可視域 (280~680 nm) の波長の光を 1 日 3 時間照射した。光強度は $50 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 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 KmDNAV3 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、波長 320, 360, 440, 600 nm の照射、通常光のみ (対照区 2) の試験を開始したところ、2 日目 (1 回照射後) から全試験区において KmUW3 の細胞密度の減少が認められた。特に 320, 360nm では著しく減少した。ウイルス非接種区は増殖した。KmDNAV3 は、2 日目に増殖が認められたが、3 日目以降はやや減少傾向であった。

〔考察及び展望〕昨年度までと比べ、今年度用いた KmDNAV3 は感染力が非常に強いため、320, 360nm 照射区において KmUW3 細胞の死滅速度は高かったものの、他の照射区でも細胞密度の減少とウイルスの増殖が認められた。従って、細胞密度の減少にどのくらい KmDNAV3 が関わっているかについては、今年度の結果だけからは明らかにならなかった。ウイルスの感染過程には、吸着して侵入してからウイルスが宿主の DNA に組み込まれる、いわゆる潜伏期 (ウイルス粒子が認められない時間) が存在することから、今後、短時間での追跡調査や長時間の追跡調査など、ターゲットを絞った試験を実施し、知見を蓄積していくことが必要となると考えられた。また、細胞

	<p>死の判定を顕微鏡下で行うことが難いため、ウイルスによる感染死については、昨年度より開発中である核の崩壊を蛍光顕微鏡で測定する手法を引き続き検討していく予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>なし</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input checked="" type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 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テン色素濃度計測系の開発		
課題番号	19-706		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望	<p>異なる照明条件でデジタルカメラ撮影された同じ被写体（本研究では植物）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。本研究では天候が刻々と変わる野外環境で栽培したコムギを対象に、色の変化を非破壊的に調査することを目指して、いくつかの色見本をコムギ（またはコムギを模した緑色板）と同一視野内に置いて撮影し、色見本部分の RGB 値が揃うように補正し、コムギの同一の葉が近い RGB を示すか否かを検討した。安価な耐候性印刷物の色見本を用いた結果、撮影時刻および天候がある程度異なる二枚の画像間で補正する場合には、緑色板の RGB 値が補正によって近付いたが、非常に近い二枚の画像間で補正する場合には、むしろ誤差が増大する場合が見られ、野外環境で一般的なデジタルカメラによって撮影された画像間での補正には精度の限界があることが判明した。これらの限界は RGB 各チャンネルで、256 階調における 5 から 8 程度であった。</p> <p>他に市販品の色見本となるものを 4 種類程度検討した結果、上記の耐候性印刷物よりも良い補正結果を得たものがあった。</p> <p>今後さらに色見本ごとの補正限界を正確に評価し、安価かつ優れた色見本と、それに適した画像補正法を探索し、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。</p>
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	

※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）

2020年4月22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	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input checked="" type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	植物体内を通過して根へ到達した光による微生物共生の活性化		
課題番号	19-707		
研究期間	2019年5月30日 ～ 2020年3月31日		
所内対応者	亀井保博特任准教授		
分担者（研究会 は参加者） <small>（※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。）</small>	所属	職名	氏名
	佐賀大学農学部	教授	鈴木章弘
	佐賀大学大学院農学研究科	修士2年	手嶋恭子
	佐賀大学大学院農学研究科	修士1年	平岡令央奈

（裏面に続く）

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>高等植物の地上部へ照射された光のうち700～910 nmの光が茎の中を通過して根まで伝達され、その光の一部は根から放射されることが知られている。それを受けて「土中の根から発せられる光に菌根菌が応答し共生が活性化される」という仮説を立て、それを証明するための研究を推進している。本年度は大型スペクトログラフを用いて、菌根菌 (<i>Rhizophagus irregularis</i>) へ主に700～880 nmの光を照射して菌糸の伸張や分岐などの応答を調査した。</p> <p>初回(7月)の照射実験では黒フィルムを用いて光を減衰させたが、菌糸の分岐数および菌糸の伸長において対象区と比較して有意に促進された波長は見出せなかった。2回目(10月)の照射実験では事前に菌根菌孢子の選抜を行い、スレッシュホールドボックスを用いて約 0.0225, 0.0025, 0.00028 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の強さの光を 32 時間照射した。その結果、菌糸の分岐数と伸長において有意に値が低下した処理区が見られたが有意に増加したものは見られなかった。そこで予備実験として 730 nm, 28°C, 96 時間照射の条件で、菌糸の状態を照射前後で比較したところ照射区において菌糸の分岐、伸長のいずれもが有意に促進された。そこで3回目(1月)の照射実験では、20 nm 毎に 700-880 nm の光をスレッシュホールドボックスを用いて照射した。その結果、対象区と比較して有意に値が増加したものも見られたが照射時の温度の制御が芳しくなく(22-23°C程度)、再試験をおこなう必要が残された。</p> <p>現在は照射室の温度制御が可能になったことから3回目と同じ条件で照射実験を行う必要がある。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>菌根菌の菌糸分岐や伸長を正に制御する光の波長や強さ等を明らかにできれば、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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月29日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：北海道大学電子科学研究
氏名： 西上 幸範

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input checked="" type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	遊泳藻類の集団による非対称パターン形成機構の解析		
課題番号	19-708		
研究期間	2019年9月19日 ～ 2020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
	北海道大学電子科学研究所	准教	佐藤 勝彦
	北海道大学大学院生命科学院	修士課程学生	飯塚 洸介

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>単細胞、多細胞を問わず、多くの細胞が集団になると単一細胞では実現できない行動を行うことが報告されている。我々は、ある種の遊泳微細藻類が新規な集団運動を行うことを発見した。具体的には高濃度の遊泳微細藻類に光照射する際に、照射部位を特定のパターンとした際に、パターンは左右対称であっても、集合パターンに左右非対称性が生じるというものである。本現象は細胞自身が持つマイクロオーダーの左右軸が、どのようにしてマクロオーダーへのパターン左右非対称性として発現するかを調べることを目的とする。</p> <p>本年度は上記の目的を達成するため、光照射装置としてホロライトを用い、照射パターンや、照射角度を変動させ、細胞の集合パターンの変化および、個々の細胞の遊泳を観察した。その結果、光の照射角度がパターンの非対称性の形成に重要であることが示された。また、この際、一細胞レベルでの観察した結果の遊泳が非対称になっていることが分かった。</p> <p>今後は、これらの観察結果を元に細胞遊泳の非対称性がどのようにパターン形成に関与するかを精査するために、遊泳の数理モデルを作成し、細胞自身の遊泳左右軸が、パターン形成に与える影響を調べる予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在、原著論文投稿に向け準備を進めている。</p>
<p>備考</p>	

※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）

年 月 日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪市立大学複合先端研究機構
氏名： 藤井 律子

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input checked="" type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	緑藻ミルの新規フォトレセプターの探索		
課題番号	19-709		
研究期間	2019年11月18日 ～ 2020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
	大阪市立大学大学院理学研究科	M1	関 莊一郎
	大阪市立大学 理学部化学科	卒研究生	秋山 智有

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>多核単細胞（シフォナス）緑藻ミルは、潮間帯の幅広い水深に生育する。海中の太陽光は水深とともに青～緑色の弱光になることが知られており、これらの種に共通して結合するシフォナキサンチンという特殊なカロテノイドが緑色光を光合成に利用しているが、シフォナキサンチンの生合成を担う酵素については全くわかっていない。我々は、緑藻ミルの細胞を未分化のまま培養し、1週間程度様々な光条件に暴露すると、青、緑においてのみシフォナキサンチンの前駆体（新規物質）が蓄積することを初めて見出した。赤い光では顕著にこの蓄積量が減少したため、そのほかのカロテノイドとは別の青～緑色に感度の高いフォトレセプターがこの生合成酵素を制御していると考えている。そこで本実験では、より波長精度の高い大型スペクトログラフを用いた光暴露により、前駆体の蓄積量のアクションスペクトルを取得し、この現象の波長依存性を明らかにすることを目的とし、今年度は条件検索を実施した。実験室内 LED での光照射条件は24時間1週間であったのに比較し、大型スペクトログラフでは光照射8時間、暗所16時間の光サイクルを1週間という条件をまず試したところ、変化量は減少したが実験室内 LED で得られていた結果をおよそ再現することがわかった。しかしながら変化量が減少したために誤差が大きくなり、予定していた繰り返し数ではデータの信頼性が不十分であり、青緑色領域の光応答のはっきりしたプロファイルを得るには至らなかった。そこで今後は繰り返し数を上げる、光照射に用いる藻の密度を下げる等、測定誤差を抑える実験条件を検討し、データの精度を上げ、目的を達成する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>実験室内 LED を用いた成果についてはすでに学会発表[国内6件、国際1件、国際会議では excellent poster prize 受賞]を行い、現在論文作成中である。 大型スペクトログラフを用いた実験については、データの質向上に成功すれば、学会、論文での発表を行う予定である。</p>
<p>備考</p>	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究

- 19-901 ナミテントウにおける凍結保存技術の確立と非モデル昆虫への応用
新美 輝幸 基礎生物学研究所進化発生研究部門 進化発生研究部門
- 19-902 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 東京大学大気海洋研究所 大気海洋研究所
- 19-903 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 獣医学部
- 19-904 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 愛知医科大学解剖学講座 解剖学講座
- 19-905 ニホンザルを中心としたマカク属精子凍結保存法の開発
今井 啓雄 京都大学霊長類研究所 霊長類研究所
- 19-906 魚類の精子凍結保存成績向上に向けた冷蔵保存ならびに凍結条件の検討
藤本 貴史 北海道大学大学院水産科学研究院 大学院水産科学研究院
- 19-907 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 理工学部
- 19-908 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 バイオサイエンス教育・研究サポートセンター
- 19-909 サトイモの茎頂超低温保存法の確立と世界中から収集した 2000 系統の維持
本橋 令子 静岡大学学術院農学領域 学術院農学領域
- 19-910 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 土壤肥料研究領域 中央農業研究センター 土壤肥料研究領域
- 19-911 低毒性の保存液を用いた哺乳動物胚の平衡ガラス化凍結法の開発
枝重 圭祐 高知大学農林海洋科学部 農林海洋科学部
- 19-912 新規モデル両生類、イベリアトゲイモリの精子凍結保存法の開発
林 利憲 鳥取大学医学部 医学部

- 19-913 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 大学院農学研究院
- 19-914 磁性特性に基づく氷晶損傷阻止技術を適用した遺伝子資源保存方法の開発
木原 久美子 熊本高等専門学校生物化学システム工学科 生物化学システム工学科

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2019年度）

2020年 4月 30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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ナミテントウにおける凍結保存技術の確立と非モデル昆虫への応用		
課題番号	19-901		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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・進化発生研究部門	助教	中村 太郎
	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	特任研究員	川口 はるか

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ゲノム解析技術やゲノム編集技術の急速な進展により、非モデル昆虫に特有な興味深い生命現象の解明も可能になりつつある。しかしながら、非モデル昆虫は飼育に多大な労力を要する場合が多く、形質転換体やゲノム編集システムの維持に要する労力とコストが大きな課題となってきた。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認し、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。</p> <p>昨年度までの本共同利用研究により、ナミテントウの卵巣の移植技術を参考に精巣移植技術を既に確立した。さらに、精巣の凍結条件を迅速に判定するため、ヘキストと PI 染色による生細胞と死細胞の割合から細胞生存率の測定法を確立した。この測定方法を用いることで、精巣の凍結保存および移植により適するドナーとレシピエントの発育ステージなどの条件検討を行い、最適な終齢幼虫のステージを決定した。最適移植ステージの精巣を凍結して移植した個体の受精率などの詳細な実験データに基づきナミテントウ精巣の凍結保存技術の確立を進めた。現在、論文投稿に必要なデータの取得を行っている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 23日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：東京大学 大気海洋研究所
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 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	19-902		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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 大学院水産科学院	准教授	井尻 成保
	北海道大学 大学院水産科学研究院	准教授	藤本 貴史
	東京大学 大気海洋研究所	特任研究員	藤森 千加

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、目的としていたスポットテッドガーの精子保存条件について検討を行った。緩慢凍結法によってこれまでに確立されている数々の真骨魚類精子凍結保存液を用いて検討したところ、サケマス用の保存条件(0.18M Glucose, 9% Methanol で緩慢凍結、1mM CaCl₂, 20mM Tris, 30mM Glycine, 125mM NaCl, pH 9.0 で運動開始)、メダカ用の保存条件(FBS:DMF = 9:1 で緩慢凍結、水で運動開始)において凍結後の精子の運動性について確認できることができた。したがってこれらの保存条件を用いることによってスポットテッドガーの精子の保存は可能であることを明らかにした。一方で、進化系統的にはスポットテッドガーにより近いチョウザメの保存液に関しては解凍後に運動性が戻らなかった。すなわち、進化系統的に考えて適した保存液を見つけることは非常に困難であることと同時に、これまでに確立された複数の条件を同時に試せば、いずれかの保存溶液によって凍結保存が可能であるということが示唆される。前年度はピラニアの精子を用いたがサケマスの保存液ではうまくいかずメダカ用の保存液で精子凍結に成功したことから、進化系統的な関係とあまり相関しないのは魚類全般にあてはまるのかもしれない。スポットテッドガーを排卵させる計画に関しては、サケ脳下垂体抽出物を入手し、繁殖期に試みようとしていたが、世界的なコロナウイルス蔓延の影響により、繁殖期である現在に実験ができない状態となっている。この部分に関してはスポットテッドガーを引き続き維持し、次年度以降に再び試みたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Cryoconference2019 において本成果は口頭発表として発表した。今後、現在進めているスポットテッドガーの繁殖メカニズムに関する研究成果として論文発表予定である。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年3月6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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 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	19-903		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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 稲盛フロンティア研究センター	特任助教	竹鶴 裕亮
	麻布大学 獣医学部	博士研究員	影山 敦子

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>【目的】哺乳類において生殖細胞を液体窒素下で保存する(超低温保存)技術は、実験動物や家畜における遺伝資源の保存やヒトの生殖補助医療において重要である。近交系である C57BL/6J(B6)系統マウスは、遺伝子改変マウスの作製に用いられている。これら多数の遺伝子改変マウスは現在、精子および初期胚(2細胞期胚)の状態液体窒素下にて保存されているが、未成熟卵(GV 卵)での保存が可能となれば、さらに応用範囲が広がると考えられる。本研究では、B6 マウスの未成熟卵におけるガラス化保存法の開発を行った。【方法】(実験 1) B6 雌マウス(4~8 週齢)から未成熟卵を回収した。回収した未成熟卵は 14 時間体外成熟培養(IVM)し、体外受精を行った。体外受精後、受精率(前核形成率)、2 細胞期胚率および胚盤胞率を調べた。(実験 2)実験 1 と同様にして回収した未成熟卵を平衡液で 3 分間静置した後、超急速最小容量ガラス化法にてガラス化保存した。加温後、IVM を行い、成熟卵への発生率(極体放出率)を調べた。さらに一部の卵は IVM 後、体外受精を行い、前核形成率、2 細胞期胚率および胚盤胞率を調べた。【結果】(実験 1) 体外受精後の前核形成率、2 細胞期胚率および胚盤胞率はそれぞれ、55.0%、53.3%および 51.7%であり、IVM した卵でも多くが胚盤胞への発生能を示すことが明らかとなった。(実験 2)加温後の極体放出率は、55.4%であり、ガラス化未成熟卵の多くが、成熟卵への発生能を有していることが明らかとなった。さらにガラス化した卵を IVM 後、体外受精を行った時の前核形成率、2 細胞期胚率および胚盤胞率はそれぞれ、23.9%、22.9%および 19.3%であった。以上の結果より、B6 マウス未成熟卵においてもガラス化保存が可能であることが示された。本研究で開発したガラス化保存法は、遺伝子改変マウスの効率的個体復元に貢献できると考えられる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>データの一部は Cryopreservation Conference2019 にて発表を行った。また現在、データをさらに追加し、論文を作成中である。</p>
<p>備考</p>	

※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（令和元年度）

令和元年 10 月 31 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 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	19-904		
研究期間	平成 31 年 4 月 1 日 ～ 令和元年 10 月 23 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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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。この過冷却状態の水に、変動磁場を印加しながら凍結すると、氷晶の形成が少なく、均一な氷ができることが知られている。一方、魚卵は、凍結保存が困難であり、その凍結法の開発が期待されている。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応用して、魚卵の新しい保存法の開発に挑戦した。</p> <p>方法：ゼブラフィッシュを交配し、魚卵を採取した。魚卵の表面を保護するため、1.5ml チューブ内に底から 0.1MCaCl_2aq 1ml、オリーブオイル 0.5ml の層を作成し、魚卵をチューブ内へ自然沈下させて、コーティングを行った。その後、コーティングされた魚卵をチューブごと、プログラムフリーザーで-20℃に凍結した。凍結する際に、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。24 時間後にチューブに入った魚卵を流水で解凍した。その後、孵化液 (27℃) に魚卵を注入して孵化を試みた。</p> <p>結果：解凍後に魚卵を顕微鏡下で観察したところ、変形が激しく、表面所々に亀裂が認められた。また、魚卵はすべて孵化しなかった。コーティングの条件を変更して、3 度試みたが、全く変化がなかった。これらの結果は、磁場印加なし群と変動磁場印加群でも差がなかった。</p> <p>考察：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応用して、魚卵の凍結に挑戦した。しかし、我々の実験条件では、その効果は認められなかった。この凍結法において、コーティング方法や磁場の印加条件等、様々な条件を検討する余地が残っており、今後の改善が必要である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在のところ未定</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 4月 13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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	ニホンザルを中心としたマカク属精子凍結保存法の開発		
課題番号	19-905		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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 獣医学部	助教	柳川 洋二郎
	京都大学 霊長類研究所	教授	岡本 宗裕
	北海道大学 大学院獣医学院	大学院生	鳥居 桂子
	北海道大学 獣医学部	学部学生	中島 愛理
	帯広畜産大学 共同獣医学課程	学部学生	對馬 隆介
	帯広畜産大学 共同獣医学課程	学部学生	黒澤 拓斗

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>これまで IBBP 共同利用研究（希少霊長類遺伝資源の保存）や霊長類研究所共同利用研究により、条件検討を重ねてきた。ニホンザルの精液は射出直後に凝固するが、2018年度までは既報に従い 37℃で培養し液状化後、液状精液を培地で希釈したのち 1～2 時間かけ 4℃まで冷却し、その後凍害保護物質としてグリセリンが入った卵黄添加保存液をグリセリン終濃度 5%として添加し、精液をストローに封入して液体窒素の蒸気中で凍結を実施した。融解直後においては運動性を示す精子は 20%程度存在するが、受精に関わると考えられる活発な運動性を示す精子（高活力精子）は 2～3%と低くこれがニホンザルにおいて凍結精液による人工授精での産子獲得に至っていない理由の一つであると考えられた。</p> <p>2019年度は、cryoconference2019 においていただいたアドバイスをもとに、精子採取後の処理方法と凍結方法を工夫した。具体的には、精液採取の際に凝固精液を培養して液状化するのではなく、精液保存液に直接採取し凝固物の形成を可能な限り防止した。精子浮遊液を 4℃まで約 2 時間かけて温度を下げた後グリセリン加保存液を添加してから凍結した。凍結には 0.25 もしくは 0.5ml のストローに封入し液体窒素の蒸気で凍結するか、ドライアイス上に 200 μl の精液を滴下しペレットを作製した。どの凍結方法においても凍結直前において高活力精子が多いものは、凍結方法の違いによらず融解後の性状が良好で、最大で高活力精子が 30%と高い凍結精液を作製することができた。今後は凍結直前までに活力を低下させない方法を検討する必要がある。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Ryunosuke Kitajima#, Risako Nakai#, Takuya Imamura, Tomonori Kameda, Daiki Kozuka, Hirohisa Hirai, Haruka Ito, Hiroo Imai, *Masanori Imamura#. Modeling of early neural development in vitro by direct neurosphere formation culture of chimpanzee induced pluripotent stem cells. Stem Cell Research 44: 101749 (2020)</p> <p>Zachary Yu-Ching Lin#, Risako Nakai#, Hirohisa Hirai, Daiki Kozuka, Seiya Katayama, Shin-ichiro Nakamura, Sawako Okada, Ryunosuke Kitajima, Hiroo Imai, Hideyuki Okano, Masanori Imamura#. Reprogramming of chimpanzee fibroblasts into a multipotent cancerous but not fully pluripotent state by transducing iPSC factors in 2i/LIF culture. Differentiation 112: 67-76 (2020)</p>
<p>備考</p>	<p>これまで 2 年間、今井が代表として活動してきた結果、凍結保存に関する出版することができました。大変感謝しております。2019 年度の最後は COVID-19 の影響で十分には実験を実施することはできませんでしたが、今後柳川を代表にして精子凍結法に集中したいと考えていますので、今後ともどうぞよろしくお願いいいたします。</p>

※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）

2020年4月6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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	魚類の精子凍結保存成績向上に向けた冷蔵保存ならびに凍結条件の検討		
課題番号	19-906		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>① サケ科魚類精子における高い凍結成績を示す保存条件の検討 凍結保存を行うにあたり、サクラマス¹の精液を用いて凍結前の冷蔵保存（培養）による精子の運動性維持あるいは運動性回復の条件検討を行った。その結果、pH 8 のサクラマス用人工精漿により希釈することで希釈 2 日後まで高い運動率が維持されることが示された。本条件において、不飽和脂肪酸、酸化防止剤、抗生物質などの添加剤を加えて、2 日間の冷蔵保存を行った結果、添加物による運動率への影響は見られなかった。一方、希釈精液の凍結保存後の精子運動率は、冷蔵保存を経た群は採精当日よりも低値を示した。さらに、高濃度の酸化防止剤を用いた場合には、希釈直後から運動性の有意な低下が観察された。しかしながら、不飽和脂肪酸添加による効果は採精した個体ごとに凍結耐性における効果が異なったことから、添加する精子のクオリティーに関連することが考えられた。今後は冷蔵保存による運動率低下の原因を細胞学的に明らかにする必要がある。</p> <p>② コイ科小型魚類の精子凍結保存にむけたキンギョモデルの構築 少量の精子の凍結保存には希釈による運動性の維持と凍結条件の検討を行った。3 種類のコイ人工精漿を比較した結果、1 種類が希釈 6 時間後にも採精直後よりも高い運動率を示した。また、グルコースとメタノールを主成分とした希釈液による精子凍結保存を検討した結果、凍結前の平衡化をスキップし、最終グルコース濃度が 333mM の時に最も高い解凍後の精子運動率が得られた。今後、より少量の精液に本法を応用するためには、凍結ストローなどのデバイスの開発が必要となる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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、2019 年度に実施した研究成果は、Cryopreservation Conference や水産学会などの学術研究集会において成果発表を予定している。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年 3月 17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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 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	19-907		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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 稲盛フロンティア研究センター	特任助教	竹鶴 裕亮
	岩手大学 大学院総合科学研究科	修士1年	和家 由依

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>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、ラット前核期胚の凍結保存に対する凍結保護物質の影響について検討した。</p> <p>ラット前核期胚は自然交配により採取した。エチレングリコールおよびプロピレングリコールを主体とした組成で構成された凍結保存液 (Taketsuru and Kaneko, <i>Cryobiology</i> 67, 230-234, 2013) およびプロパンジオールを主体とした組成で構成された凍結保存液を用いて凍結保存した。凍結保存後の胚は、スクロースを用いて融解した。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、ラット前核期胚はプロパンジオールを主体とした組成で構成された凍結保存液を用いた時に高い生存率を示した。また、これらの前核期胚に CRISPR/Cas9 の核酸を我々の開発した受精卵エレクトロポレーション法 (テイク法、Kaneko T et al., <i>Scientific Reports</i> 4, 6382, 2014) を用いて導入した結果、目的の遺伝子変異を持つゲノム編集ラットを作製することができた。今回得られた研究成果の一部は、<i>Cryobiology</i> に学術論文として受理され掲載予定であり、また令和元年11月に行われた Cryopreservation Conference 2019 を含む複数の学会で報告した。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p><u>学術論文</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ Takehito Kaneko, Yuki Nakagawa. Genome editing of rodents by electroporation of CRISPR/Cas9 into frozen-warmed pronuclear-stage embryos. <i>Cryobiology</i>, 2020, In press. <p><u>学会発表</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 金子武人 マウス・ラット生殖技術の開発とゲノム編集・バイオリソースへの応用 第30回東北動物実験研究会 令和元年12月13日 岩手 ・ 金子武人 ラット遺伝子改変システム作製における生殖技術の応用 Cryopreservation Conference 2019 令和元年11月18～19日 つくば ・ 金子武人、竹鶴裕亮 ラット胚の発生ステージがガラス化保存後の発生に及ぼす影響 第112回日本繁殖生物学会大会 令和元年9月2～5日 札幌 ・ 金子武人 動物の繁殖技術と遺伝子工学 SPERC (理工学部附属ソフトパス理工学総合研究センター) 研究交流発表会 平成31年5月24日 岩手 ・ 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 66 回日本実験動物学会総会 令和元年 5 月 15 日～17 日 福岡
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（令和元年度）

2020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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 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	19-908		
研究期間	平成31年 4月 1日 ~ 令和2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	技術専門員	福田 康義
	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

研究成果の概要

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している。

(マウス1細胞期胚の簡易ガラス化保存法の開発)

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細胞期を含む低濃度のガラス化溶液 (5 μ l) をクライオチューブに移し、液体窒素に直接浸すことで超低温保存し、融解は37 $^{\circ}$ Cあるいは50 $^{\circ}$ Cのスクロース液1ml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 $^{\circ}$ Cのスクロース液1ml添加では胚の発生は停止したが、50 $^{\circ}$ Cのスクロース液1ml添加により、胚の発生がすすむことが確認された (特許出願)。ラットについては、それらの胚が胎仔にまで発生するかどうかを調べるために、胚移植を実施したところ無処理の胚と比較して同じ効率 (有意差なし) で胎仔まで発生した。急速融解に着目し、ラット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に成功した。データが揃い次第、学術論文として投稿する予定である。また、ウサギについてもガラス化保存した胚についても胚移植を行うことで、胎仔までの発生に影響がないことを確認したのちに、学術論文として投稿する予定である。

研究成果発表

国際学会発表 口頭発表

- 1) **Seki S**, Obata T, Basaki K, Komatsu Y, **Fukuda Y**, Yano M, Higashiya M, Matsuda Y, **Nishijima K** (2019) Vitrification of mouse and rabbit zygotes; effect of rapid warming. The 56th Annual meeting of the society for Cryobiology Cryobiology (San diego, U.S.).
- 2) **Nishijima K**, Tajima S, **Fukuda Y**, Basaki K, Yano M, Higashiya M, Sato Y, Obata T, **Seki S** (2019) Improvement of embryo use efficiency in generation of gene-modified rabbit. The 8th International Congress of Rabbit Biotechnology (Guangzhou, China).

	<p>国内学会発表 招待講演</p> <p>1) (招待講演) <u>関 信輔</u> (2019) 実験動物メダカの生殖幹細胞移植による遺伝資源保全. 第30回 東北動物実験研究会, 東北動物実験研究会 講演要旨集:2 (国内研究会 招待講演)</p> <p>国内学会発表 口頭発表</p> <p>1) <u>福田康義</u>, 東谷美沙子, 小畑孝弘, 場崎恵太, 矢野愛美, 尾野恭一, 大場貴喜, 岡本洋介, <u>西島和俊</u>, <u>関 信輔</u> (2019), クライオチューブを用いた低濃度耐凍剤液でのラット1細胞期胚のガラス化保存, 2019年11月16日, 第51回 東北生理談話会, 仙台市, 口頭発表.</p> <p>2) <u>福田康義</u>, 東谷美沙子, 小畑孝弘, 場崎恵太, 矢野愛美, 尾野恭一, 大場貴喜, 岡本洋介, <u>西島和俊</u>, <u>関 信輔</u> (2019), クライオチューブを用いた低濃度耐凍剤液でのラット1細胞期胚のガラス化保存, 2019年11月19日, Cryopreservation Conference 2019, つくば市, 口頭発表.</p> <p>特許出願</p> <p>1) <u>関 信輔</u>, <u>福田康義</u>, <u>西島和俊</u>, 場崎恵太, 矢野愛美, 小畑孝弘, 東谷美沙子, 尾野恭一 (特許出願, 整理番号: R0105161, 特願 2019-133275) 哺乳動物初期胚の凍結保存方法, 2019年7月19日</p> <p>受賞</p> <p>1) <u>関 信輔</u>, 令和元年度 秋田わか杉科学技術奨励賞, 生殖幹細胞の凍結保存と代理親への移植による絶滅危惧種の復元, 秋田県あきた未来創造課 (2019)</p> <p>新聞掲載</p> <p>1) 秋田魁新報掲載, 2019年11月27日, 3面, わか杉科学技術奨励賞 <u>秋大・関さん</u>、松本さん受賞</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>口頭発表予定 日本卵子学会 2020年5月23-24日</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年3月31日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：静岡大学 学術院農学領域
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	サトイモの茎頂超低温保存法の確立と世界中から収集した 2000 系統の維持		
課題番号	19-909		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	進化生物学研究所	研究員	小西 達夫
	静岡大学 学術院農学領域	研究補佐員	岡林 恵美
	静岡大学 学術院農学領域	研究補佐員	切岩 典子

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望

私たちはサトイモ（タロ）の遺伝資源保存を進めるために、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超低温保存を試みたが、再生個体は得られなかった。そこで、超低温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。再生率は上げるためには、均一な材料が必要であり、薬剤浸透率の良いソフトな組織が材料として好ましいのではないかと思われた。また、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1mm程度のサイズが良い事が解った。供試試料の幼苗の無菌培養継代培地のショ糖濃度は、3%または6%が最適であった。サトイモのPVS2（ガラス化液）の薬害について、液体窒素による超低温処理を行わず調査した結果、生存率は80~100%を示し、薬害はない事が解った。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、PVS2による処理時間や温度等の諸条件を検討した結果、PVS2処理は低温(0℃)で2時間かけて緩やかに脱水処理を行うことが重要であった。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、8週間後生存率が70%以上と高くなることが分かった。

多数のサトイモの遺伝資源保存を行うために、汎用性が高く、再生育率の高い方法を検討するために、品種を「丸土垂」以外に、「しょうが芋」「石川早生」「大和早生」「赤芽」の4種を用いた。3%ショ糖のMS培地で生育した植物体から単離した茎頂を、0℃、PVS2で2時間脱水処理し、液体窒素に浸漬した茎頂を急速昇温し、MS培地に置床し、4週間後に正常に成長している個体を生存として生存率を検証した。この急速昇温は、26~28℃の6月7月の室温条件の生存率が高いことがわかった。最終的に、3%ショ糖のMS培地で生育した植物体から単離した「赤芽」茎頂を、0℃、PVS2で2時間脱水処理する条件が現在最も再生育率が高く、90%を示した。しかし、土垂系であるが新潟の品種である「大和早生」や主要品種の一つである「石川早生」は、他の3品種に比べ生存率が低かった。生存率の悪い「大和早生」、「石川早生」について単離した茎頂を4℃、暗所で22時間前培養(0.3Mショ糖のMS培地)し、ガラス化処理を行った結果、生存率が50~70%に上がり、改善した。

再生育率の高いサトイモ培養植物の茎頂超低温保存法が確立でき、大きな成果を上げる事ができた。今後は、国内品種や系統の保存を開始するとともに、確立した茎頂超低温保存法では高い生存率が得られない事が予想される熱帯地域のタロ（サトイモ）系統など低温に弱い系統などで、更なる方法の検討が必要になると考えられる。

<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>論文：サトイモの遺伝資源整備 本橋令子 アグリバイオ（北隆館）4（3）P45-49 学会発表：サトイモ茎頂の効率の良いガラス化保存法の確立 切岩典子，岡林恵美，田中大介，成瀬清，小西達夫，本橋令子 Cryopreservation conference 2019 11月19日 サトイモ茎頂のガラス化保存法の確立 岡林恵美，切岩典子，田中大介，成瀬清，小西達夫，本橋令子 2019年度日本植物細胞分子生物学会 9月8日</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月15日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 農研機構 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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 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	19-910		
研究期間	2019年 4月 1日 ～ 2020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	准教授	小八重善裕

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>フタバネゼニゴケを用いて胞子を介さず栄養的に土着菌根菌をトラップし、土と葉状体の塊をそのまま - 20℃で2週間凍結して室温に戻したものの感染能力は失われていた。複数の菌根菌ストック（バヒアグラスを主な宿主としてポット栽培したのちに一ヶ月乾燥したもの）を-80℃で保存した後にミヤコグサを宿主として感染力を検定した場合、多くの菌株で感染力が維持されていた。</p> <p>今後、以下の試験を計画している。（1）乾燥過程が凍結耐性に及ぼす影響を確認するため、小スケール（50ml チューブ）で増殖栽培したものを異なる湿度環境下で乾燥し、その後 4℃または-80℃に保存して感染力を比較する （2）より多くの菌根菌菌株について-80℃のストックを作成し、長期間（数ヶ月～1年）保存後の感染活性を 4℃保存のサンプルと比較する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>結果を取りまとめて菌根研究会で発表する。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月18日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：高知大学 農林海洋科学部
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	低毒性の保存液を用いた哺乳動物胚の平衡ガラス化凍結法の開発		
課題番号	19-911		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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	助教	関 信輔
	高知大学 農林海洋科学部	准教授	松川 和嗣

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>従来のガラス化法による哺乳動物胚の凍結保存では、胚は非平衡状態で保存されているため、-80°Cにすると速やかに細胞内氷晶が形成され、死滅してしまう。我々は、高濃度の細胞非透過性耐凍剤(ショ糖, $0.9\sim 1.0\text{ M}$)を添加した保存液を用いて細胞の脱水を促進することにより近平衡状態で胚を凍結保存できる平衡ガラス化法を開発し、実用化に成功した。この方法で凍結したマウス2細胞期胚は-80°Cで4~7日間保持することができ、ドライアイス入り簡易輸送箱で凍結胚を輸送できる。しかしながら、この保存液の細胞透過性耐凍剤濃度は35~40%(v/v)と高く、浸透圧も極めて高いため、耐凍剤毒性や高浸透圧に対する耐性が低い胚(ラット胚等)では有効ではなかった。そこで本研究では、細胞透過性耐凍剤濃度が低く(20%(v/v))、細胞非透過性耐凍剤(ショ糖)濃度も低(0.4 M)、浸透圧も比較的低い保存液を用いて、近平衡状態でガラス化凍結保存できるかどうかをしらべた。5%(v/v)エチレングリコール(EG)と5%(v/v)DMSOを含む25°Cの前処理液でマウス2細胞期胚を処理した後、10%(v/v)EGと10%(v/v)DMSOと0.4 Mショ糖を含む25°Cの保存液で処理して液体窒素でガラス化凍結し、-80°Cで4日間保持して融解し、融解直後の生存性と発生能をしらべた。融解直後のマウス2細胞期胚の生存性は高く、胚盤胞への発生率も高かった。また、液体窒素でガラス化凍結したマウス2細胞期胚をドライアイス入り輸送箱で輸送し、ドライアイスに入れてから4日後に液体窒素で再冷却して液体窒素で保存した後、融解して偽妊娠マウスに胚移植したところ、高率に産子にまで発育した。したがって、低濃度の耐凍剤を含む毒性と浸透圧が低い保存液を用いても、マウス2細胞期胚を近平衡状態でガラス化凍結できることがわかった。今後は他の発生ステージのマウス胚や卵子への応用、耐凍剤毒性と高浸透圧に対する耐性が低い胚(ラット胚等)への応用が期待される。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>間もなく学術論文として投稿する予定</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月29日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属： 広島大学
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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	新規モデル両生類、イベリアトゲイモリの精子凍結保存法の開発		
課題番号	19-912		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	広島大学（旧所属：鳥取大学）	大学院生	客野 瑞月
	広島大学	教授	荻野 肇
	広島大学	技術員	鈴木 菜花

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>これまで、イモリやアホロートルといった有尾両生類の精子を凍結保存する方法は全く存在していない。研究代表者らは、新規のモデル動物として普及しつつあるイベリアトゲイモリを用いて精子の凍結保存法の開発を行った。イベリアトゲイモリの場合、凍結に用いる精子は輸精管から採取できること、ウシ胎児血清とジメチルホルムアミドの混合液を凍結保護剤として用いて、1分間当たり-20-40℃の速度範囲で凍結を行うことで、受精能を保持した凍結が可能であることがわかっていた。しかし、殆どの試行において、受精率は1%程度にとどまるため、受精効率を上昇させることが必要であった。また、採取できる量が少量であるため、凍結のための適切な容器がないことも課題であった。</p> <p>本研究ではまず、イモリの生死に適した凍結容器の検討を行い、小型の家畜精子凍結用ストローを利用することで、凍結時に破損させることなく均一な温度コントロールができることがわかった。また、受精率向上には凍結の際の温度コントロールが重要であるが、これについては養殖魚用の精子凍結容器を用いることで解決できると考えられる。</p> <p>今後は、様々な凍結速度でこうらせた精子を用いて受精率の判定を行い、イモリの精子凍結法を確立していく計画である。</p> <p>なお本研究の成果はCRYO PRESERVATION CONFERENCE 201（茨城県つくば市）において発表した。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年も引き続き研究を継続し、得られた成果は速やかに国際科学雑誌等に発表する。</p>
<p>備考</p>	

※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）

2020年4月8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：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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 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	19-913		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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 大学院農学研究院 遺伝子資源開発研究センター	学術研究員	福森 寿善
	信州大学 学術研究院繊維学系	教授	梶浦 善太

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>カイコの胚子は硬い卵殻に覆われており、水分を通さず超低温保存の妨げとなる。そこで卵殻のみを物理的に除去し、漿液膜に包まれた胚子（除殻卵胚子）を用いてガラス化による超低温処理を試みた。</p> <p>除殻卵胚子の保存に適するようにガラス化液の改良を検討した。スクロースやフィコールを添加したガラス化液、および他の昆虫種胚子のガラス化で既に報告されているガラス化液を用いて胚子への影響を検討したが、いずれのガラス化液でも胚子生存率の改善は認められなかった。ガラス化処理した胚子は、昇温後の培養で孵化直前の状態まで発育を進行した。しかし、培地から取り出すと摂食する前に干からびて死亡した。胚子が干からびて死亡する要因を探るため、孵化直前の段階まで発生の進行できたガラス化処理胚子から切片を作製し、組織の損傷状態を観察した。その結果、ガラス化処理により表皮クチクラが部分的に損傷を受け、中腸壁の細胞の大部分が腸管内に脱離していることが明らかになった。また、他の近縁野蚕種への応用の可能性を検証するために、エリサンを用いて同様に処理を行った。その結果、ガラス化処理後の胚は生存していることが確認できた。しかし発育を進行できず、エリサン胚子の保存はカイコ胚子の保存よりもさらに困難であることが明らかになった。</p> <p>除殻卵胚子の超低温保存の確立は、現時点では非常に困難である。そのため、今後はカイコですでに実用化されている生殖巣移植技術を用いてカイコの近縁野蚕種の保存を確立させる予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>当研究成果を Cryobiology に発表予定である。 Fukumori, H., Yoshida, M., Tanaka, D. and Banno, Y. (2020) Embryonic stage selection for cryopreservation of the silkworm <i>Bombyx mori</i> and the effects of cryopreservation on embryo tissues. Cryobiology, (in preparation).</p>
<p>備考</p>	<p>なし</p>

※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）

2020年5月31日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：熊本高等専門学校
 生物化学システム工学科
 氏名：木原 久美子

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)	<input type="checkbox"/> 重点共同利用研究 <input type="checkbox"/> モデル生物・技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 個別共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合ゲノミクス共同利用研究 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
研究課題	磁性特性に基づく氷晶損傷阻止技術を適用した遺伝子資源保存方法の開発		
課題番号	19-914		
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020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
	東京工業大学 地球生命研究所	研究員	小林 厚子

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本申請研究では、作物等の磁性特性に基づく氷晶損傷阻止技術（Kobayasi., et al., PNAS, 2018）を適用した新しい凍結防御法の適用による超低温保存法の開発と適用を目的としている。植物の細胞は水分の含有量が高く、凍結時の氷晶形成が細胞を損傷するため、凍結保存が難しく、様々に方法が検討されているという実情がある。</p> <p>特に栄養繁殖性作物では品種や系統の保存に圃場栽培が繰り返されており、株数に応じた広大な敷地と世話に多大な労力が必要となる。申請代表者の研究拠点である熊本県は、工芸作物イグサの国内生産量の95%以上を維持しているが、そのような重要な農産物ですら、国産イグサの品種・系統は圃場で維持されている。その一方で、栄養繁殖性作物を管理空間で超低温保存する方法の開発が望まれており、イグサでは培養茎頂のPVS2液処理後に超低温保存するガラス化法によって42品種の超低温保存を成功させている（Tanaka et al., 2007）。</p> <p>そこで本申請研究ではまず、まだ超低温保存されていないが、現在のイ業において主要な生産品種であるイグサ新品種を対象に、ガラス化法による保存法を適用すべく実験を進めている。これを基準として、磁性特性に基づく氷晶損傷阻止技術の適用の効果について検証する予定である。</p> <p>また、イグサのような工芸作物だけでなく、食料としての栄養繁殖性作物で超低温保存に成功しているニンニクについても、磁性特性に基づく氷晶損傷阻止技術を適用した方法によって、超低温保存を可能とする可能性について、田中大介博士（農研機構）の御協力を得て実験を進めている段階にある。</p> <p>磁性特性に基づく氷晶損傷阻止技術によって、対象とする植物の種類ごとに適切な冷凍条件、すなわち過冷却の促進や無氷晶に近い状態をもたらす冷却速度や磁場条件がわかれば、これまでに知見が蓄積されているガラス化法と、超低温凍結保存後の生存率を比較したい。</p> <p>ガラス化法の詳細メカニズムは明らかではない部分もあるが、本研究によって生体試料の氷晶形成に関する物理現象が解明される可能性も期待される。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>イグサ、及び、その他の農作物（ニンニク等）において、本凍結保存法による保存後の生存率や、生育時の形質・表現型について、結果が得られ次第、学会又は論文等において発表する予定である。</p>
<p>備考</p>	<p>本研究費による研究準備・研究会での発表・議論・実験によって、これまで面識がなかった研究者との議論の上での共同研究や、本研究共同研究者による新たな研究費（科研費）への申請へとつなげることが出来た。このようなチャンスを与えていただき、大変に感謝している。しかしコロナウイルス関連の対応のために、年度末の実験は現時点においても未だなお延期した状態にあることや、研究報告書の提出が大幅に遅れてしまったことについては、申し訳ありませんでした。</p>