

自然科学研究機構

基礎生物学研究所
共同利用研究報告書

2020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	109
統合イメージング共同利用研究	232
大型スペクトログラフ共同利用実験	278
生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究	298
研究会	318

重点共同利用研究

20-101 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

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021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 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-101		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 藤森 俊彦 職名 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	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>冬眠する哺乳類は、その冬眠の様式により幾つかに分類される。ジリスやクマなどの脂肪蓄積型冬眠動物は、夏の終わりから秋にかけて体脂肪を蓄積し、冬眠のあいだ脂肪を燃焼させて乗り切る。一方、シリアンハムスターやシマリスなどの餌貯蔵型冬眠動物は、体サイズが小さいため、体に脂肪を蓄積するだけでなく餌を巣穴に貯蔵し、長い冬を乗り切る。山口はこれまでに、後者のシリアンハムスターでは、脂肪蓄積型冬眠動物とは異なり、脂質の異化と同化の同時亢進が生じることを明らかにした (Chayama, 2019)。本研究ではこの知見が餌貯蔵型冬眠動物一般的に通じるものなのか、シマリスにおいても検討を行ってきた。本年度は、昨年度に解析しきれなかった検体について、白色脂肪組織、褐色脂肪組織、肝臓における RNA-seq のをさらに増やし遺伝子発現情報を得ることに成功した。またこの過程で、シマリスではマウス・ラット・ハムスターなどに存在する肩甲骨間の褐色脂肪組織が存在せず、脇下に大きく存在することを確認した。残念ながら Covid-19 により新たに解析個体を増やすことは不可能となっている。今後は、これまで得られた個体における定量 PCR 法による遺伝子発現パターンの解析をさらに進め、シマリス とハムスターの冬眠において共通する脂質代謝機構が存在するのか否かを明らかにする。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本年度に追加した RNA-seq の結果をこれまでの RNA-seq の結果と合わせた再解析を実施し、できる限り早く研究成果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。

モデル生物・技術開発共同利用研究

20-202 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 広島大学 両生類研究センター

20-203 エダアシクラゲを用いた新規刺胞動物モデルの研究基盤構築と研究コミュニティ
形成
中嶋 悠一郎 東北大学 学際科学フロンティア研究所

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	有尾両生類の新規モデル確立に向けた、イベリアトゲイモリの研究基盤の開発		
課題番号	20-202		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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	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
	岡山大学	准教授	佐藤 伸
鳥取大学	准教授	井上 武	

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>両生類のイモリは既知の脊椎動物の中で最も強い再生能力をもつ。このため、器官再生の優れた研究材料として価値が高い。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、モデル生物としての研究基盤整備を行ってきた。</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。昨年度までの研究により、約 20 Gb という巨大なゲノムサイズを持つイモリにおける効率的なゲノム情報の整備には、HiFi-seq 法を用いた 10kb 程度のゲノム断片の配列情報収集が有効であると考え、イモリのゲノム DNA に対する HiFi-seq の条件検討を行ってきた。</p> <p>今年度は、実際に HiFi-seq 法によるシーケンス作業を進めることで、最終的に 10G base 分の配列情報を取得することができた。これはイベリアトゲイモリゲノムの 50% をカバーする情報量となる。実際に、探索した遺伝子のうち、約半数の配列の配列が見つかったこと、配列の正確性も 99% を超えていることから、得られた配列情報の質も高いと言える。</p> <p>現在は、本研究の参加者の間でシーケンス情報をシェアしながら、各研修者の個別の研究テーマへの利用が進められており、本成果の波及効果が認められる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021 年度も引き続き研究を継続するが、HiFi-seq に関してはデータ取得を加速する。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） （※人数が多い場合 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	教授	竹内 隆
	中央大学	教授	福井 彰雅

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年 4月 26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 悠一朗

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	エダアシクラゲを用いた新規刺胞動物モデルの研究基盤構築と研究者コミュニティ形成		
課題番号	20—203		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信秀治 職名 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	教授	谷本拓
	東北大学大学院生命科学研究科	教授	熊野岳
	宮城教育大学 教育学部	教授	出口竜作
	県立広島大学 生命環境学部	准教授	菅裕
	東北大学大学院生命科学研究科	博士1年	富士田壮佑
	東北大学大学院生命科学研究科	修士1年	鈴木太一
	東北大学学際科学フロンティア 研究所	学術研究員(ポストク)	小澤ときは

記

(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、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) を用いた研究を発展させるために、ゲノム配列と各ステージの遺伝子発現を次世代シーケンス解析によって明らかにする。また、遺伝子操作法の確立を目指して、ノックダウンやトランスジェニック、ゲノム編集などを導入する。さらに、得られた情報を共有・公開することで、オープンな研究コミュニティの形成を目指すものである。本年度は、動物サンプルを送付して生物機能情報分析室によってゲノム DNA のシーケンスを行った。遺伝子発現解析に関しては、温度変化に応答して stolon と polyp の生活環を遷移する際の遺伝子発現解析を <i>de novo</i> RNA-seq で行った。また、遺伝子操作法を導入するために、ヒドロ虫綱に属する別種のクラゲである <i>Clytia hemisphaerica</i> を併用して、ノックダウンやゲノム編集を試みている。<i>Cladonema</i> 卵はサイズが小さい (直径~60 μm) ことから、マイクロインジェクションが困難であった。そこで、shRNA/siRNA をエレクトロポレーション法によって卵へ導入するノックダウンを行なっている。また成熟メス個体へ直接 Cas9 タンパク質をインジェクションしてゲノム操作するために、卵移行を促す P2C ペプチド配列を付加した Cas9 タンパク質を精製した。P2C-GFP-Cas9 が卵へ移行するところまで確認している。今後、<i>de novo</i> の genome assembly を行ない、また、発生の各ステージ (胚、プラヌラ幼生、初期 polyp、後期 polyp、stolon、メデューサ芽、メデューサ) における遺伝子発現解析の準備を進めて RNA-seq 解析を行う。また、遺伝子操作の確立に向けて、ノックダウンおよびゲノム編集を実現する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>以前「統合ゲノミクス共同利用研究」で支援されていた温度応答のプロジェクトは、モデル生物・技術開発共同利用を申請するにあたり、基礎となっており、今年度中に投稿論文としてまとめる予定である。</p> <p>ノックダウンおよびゲノム編集による遺伝子操作法については、ロバストな実験系が確立次第、早急に投稿論文として発表し、国際学会などで広く成果を発表する予定である。</p> <p>また、ゲノムや遺伝子発現のデータについても、アセンブリ作業を迅速に行い、投稿論文として発表するとともに、データベースなどで公開することで、研究コミュニティに還元していきたい。</p>
<p>備考</p>	<p>申請者の提案は令和3年度の「モデル生物・技術開発共同利用研究」に継続して採択された (課題番号 21-102)。この課題では、<i>Cladonema</i> のゲノム解読やステージごとの遺伝子発現情報について、引き続き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進展がみられているので、こちらについて引き続き取り組む予定である。</p>

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

個別共同利用研究

- 20-301 植物ステロールの合成制御因子の機能解析
島田 貴士 千葉大学 大学院園芸学研究院
- 20-302 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
- 20-303 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 分子生命科学研究所
- 20-304 The role of *polr1c* in regulating endodermal cells in Type 3 Treacher Collins syndrome
謝 家暉 九州大学 大学院農学研究院
- 20-305 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
- 20-306 尿細管上皮細胞境界の湾曲構造のライブイメージング
三浦 岳 九州大学 大学院医学研究院
- 20-307 動物多細胞性の進化：インテグリン - 細胞外マトリクス相互作用の起源
菅 裕 県立広島大学 生命環境学部
- 20-309 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 大学院農学研究院
- 20-310 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
- 20-311 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
- 20-312 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

- 20-313 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
- 20-314 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
内海 俊樹 鹿児島大学 大学院理工学研究科
- 20-315 ミヤコグサが維持する一年生・多年生の種内多型に関わる遺伝的要因の解明
若林 智美 奈良女子大学 理系女性教育開発共同機構
- 20-316 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 大学院農学府
- 20-317 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
- 20-318 オサムシの後翅退化の分子機構の進化の解明
蘇 智慧 J T生命誌研究館 研究セクター
- 20-319 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 新潟大学 佐渡自然共生科学センター臨海実験所
- 20-320 社会性アブラムシの兵隊カーストに関する生態進化発生学的研究
服部 充 長崎大学 大学院水産・環境科学総合研究科
- 20-321 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
- 20-322 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 熱帯生物圏研究センター
- 20-323 シロアリとアブラムシにおける不妊カーストの分化機構の解析
前川 清人 富山大学 学術研究部理学系
- 20-324 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

- 20-325 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3期)
酒巻 和弘 京都大学 大学院生命科学研究科
- 20-326 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
- 20-327 Functional investigation of ApoD gene family in fishes
Yang Liu Sun Yat-sen University School of Life Sciences Department of Ecology
- 20-328 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
- 20-329 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
- 20-330 鉄欠乏時に発現するクロロフィル含有タンパク質 IsiA と PSI 四量体の複合体構造
解析
河合 寿子 山形大学 理学部
- 20-331 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
- 20-332 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
- 20-333 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
- 20-334 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
- 20-335 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

- 20-336 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
- 20-337 歯周病のメダカ感染モデル作製についての検討
神谷 重樹 大阪府立大学 大学院総合リハビリテーション学研究所
- 20-338 神経細胞内外の微細構造の *in vivo* イメージング
檜山 武史 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞生理学
- 20-339 テントウムシを用いた特定の餌資源に対する嗅覚・味覚受容遺伝子解明のための実験モデル作出
松林 圭 九州大学 基幹教育院
- 20-340 蛍光酸素センサーを用いた光合成活性測定装置による光合成促進化合物スクリーニング法の開発
島田 裕士 広島大学 大学院統合生命科学研究科
- 20-341 花の構造色を発色する微細構造の形成メカニズム解明
越水 静 明治大学 農学部
- 20-342 メダカをモデルとした魚類の雄不妊化遺伝子の同定
吉浦 康寿 水産研究・教育機構 水産技術研究所
- 20-344 タデアイのインジカン生合成経路の解明
南 善子 岡山理科大学 理学部
- 20-345 重力感受細胞コルメラに特異的な PIN 輸送経路の解明
古谷 将彦 Fujian Agriculture and Forestry University College of Life Sciences
- 20-346 ニワトリ *pecten oculi* 連続切片の三次元再構成
荒木 功人 岩手大学 理工学部
- 20-348 多型性を示すアブラムシの各モルフと細胞内共生生物 *Buchnera* の量的関係の解明
秋元 信一 北海道大学 大学院農学研究院

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年4月5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院

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	植物ステロールの合成制御因子の機能解析		
課題番号	20-301		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 上田 貴志 職名 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、細胞動態研究部門・上田貴志教授とともに共同研究を行うことで、植物細胞が様々なストレスを受けた際に起こる細胞内動態についての解析を行った。</p> <p>葉にステロールを高蓄積するシロイヌナズナ <i>hise1-3 psat1-2</i> 変異体は、種子の発芽率が低下することを見出した。走査型電子顕微鏡観察により、種子の表面構造を観察したところ、<i>hise1-3 psat1-2</i> 変異体の種皮では、コルメラ構造が潰れた異常な形態を示した。また、透過型電子顕微鏡による観察から、種皮の細胞の収縮が起こっていないことが明らかになった。これらの種皮形態の異常について、研究論文発表（1）を行ったほか、学会発表を行った（1-3）。</p> <p>アブラナ科野菜類炭疽病菌をシロイヌナズナに接種すると、葉細胞のアクチン繊維が断片化するという現象を見出している。原形質流動の速度が低下した変異体であるミオシンの三重変異体を用いて、クワ炭疽病菌を接種したところ、ミオシンの三重変異体では植物が枯れやすくなることが明らかになった。また、ミオシン阻害剤である 2,3-Butanedione monoxime (BDM) を処理し、アブラナ科野菜類炭疽病菌を接種したところ、BDM 処理により、炭疽病菌の菌糸の組織侵入率が上昇することが明らかになった。これらの結果より、アクトミオシン系と炭疽病菌感染の関連が示唆された。今後は、炭疽病菌感染時のミオシン動態を探ることで、原形質流動と炭疽病菌感染の関係をより詳細に解析する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>研究論文発表</p> <p>1. Takashi L. Shimada, Takashi Ueda and Ikuko Hara-Nishimura, Excess sterol accumulation affects seed morphology and physiology in <i>Arabidopsis thaliana</i>, <i>Plant Signaling & Behavior</i>, 15, 1872217 (2021)</p> <p>学会発表</p> <p>1. 島田貴士、「小胞体における植物ステロールの合成制御機構」第93回日本生化学会大会「植物の小胞体の多彩な能力」、2020年9月、オンライン、口頭</p> <p>2. 島田貴士、「植物ステロール量を制御する分子機構の解明」日本植物学会第84回大会「植物の環境適応を支える細胞膜機能研究の新基軸」、2020年9月、オンライン、口頭</p> <p>3. 島田 貴士, 重信 秀治, 山口 勝司, 高橋 広夫, 福吉 修一, 上田 貴志, 西村 いくこ, 過剰なステロールはシロイヌナズナの種子、葉、根の生理機能に悪影響を与える、第62回日本植物生理学会大会、2021年3月、オンライン、口頭</p>
<p>備考</p>	<p>個別共同利用研究においては、コロナウィルス感染症拡大のため、予定していた研究が思うように進まなかった。そのため、2020年度は当初予定していた基礎生物学研究所への来所が叶わなかった。今後は2020年度の反省を踏まえ、感染症対策を取りながら、研究を進める工夫をしていきたいと考えている。</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（ 2020 年度）

2021年 4月 17 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	20-302		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者			
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	お茶の水女子大学大学院ライフサイエンス専攻	博士前期課程2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2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試み、ジェノタイプングを行っている。並行して、大腸菌を用いて Mapoly0038s0025 がコードするモチーフ B'メチルトランスフェラーゼを発現させ、組換え型酵素を作出した。¹⁴C-SAM をメチル基供与体とし、メチル基を受容する基質の探索を行った。その結果、本酵素はプリンアルカロイド、サリチル酸、ジャスモン酸等の植物の成長調節物質に対するメチル化活性を有さないことが判明した。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2022 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（2020年度）

2021年4月26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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-303		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 吉田 松生 職名 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>2019 年度に作製したグルコースセンサー (GreenGlifon) 系統および Mondo の核移行をモニターするための Mondo::mApple 系統の至適グルコース濃度範囲を検討した。これらのマーカーをゲノムに導入した幼虫から脂肪体を取り出し、培養した。培地中のグルコース濃度を 0~100 mM の範囲で変化させ、GreenGlifon の蛍光強度変化と Mondo::mApple の核輸送を観察した結果、0.1 m~100 mM の範囲において、両マーカーともに反応が見られた。反応は、グルコース濃度の増加、減少の両方向で観察された。</p> <p>ショウジョウバエ体液中のグルコース濃度は数 mM~数十 mM 程度と言われており、生理学的濃度で反応が見られることが明らかになった。</p> <p>2. 今後の展望</p> <p>生殖細胞研究部門の顕微鏡を用いて、ライブイメージングの条件を検討する。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>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、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。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	The role of <i>polr1c</i> in regulating endodermal cells in Type 3 Treacher Collins syndrome		
課題番号	20-304		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 高田 慎治 職名 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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>新型コロナウイルスの影響により、予定していた研究を実施できなかったため、本研究課題を2021年度にも継続して申請することとし、所内対応者と連絡を取りつつ必要な準備を進めた。実験内容や今後のスケジュールについて所内対応者との打ち合わせを電子メールで行った。</p> <p>Two papers with the funding acknowledgement is published. [1] R. Li, C. Huang, JCH. Ho, CCT Leung, RYC. Kong, Y. Li, X. Liang, KP. Lai, WKF. Tse*. The use of glutathione to reduce oxidative stress status and its potential for modifying the extracellular matrix organization in cleft lip. <i>Free Radic. Biol. Med.</i> 2021. 164: 130-138</p> <p>[2] KP. Lai, J. Chen, WKF. Tse*. Role of deubiquitinases in human cancers: Potential targeted therapy, <i>Int J Mol Sci.</i> 2020. 21: 2548-2020. 21: 2548.</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>We expect to have one to two research papers in the coming one or two years.</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（2020年度）

2021年4月5日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 大阪大学 大学院生命機能研究科

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-305		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 藤森 俊彦 職名 教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	大阪大学 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 で異常が出ることを判明し、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した。その一方、CENP-I-GFP を発現するマウスでは、ホモ個体が作成できた。その理由を突きとめるため解析を行なっている。KMN 結合ドメインは、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。さらに、CENP-C 以外のタンパク質として CENP-T の KMN 結合ドメインを欠損したマウスも進めている。</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>

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（2020年度）

2021年 4月 12日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 九州大学

氏名 三浦 岳

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	尿細管上皮細胞境界の湾曲構造のライブイメージング		
課題番号	20-306		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 藤森 俊彦 職名 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	助教	杉原 圭

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>腎尿細管の密着結合 (tight junction) の一部は湾曲構造を形成する。また、尿細管由来の MDCK 細胞は密着結合で湾曲構造を形成するが、静的な構造ではなく湾曲の生成と分解を繰り返し、結果としてある種のスケーリングを持った構造を形成する。本研究では、ZO1-EGFP マウスを用いて、このような密着結合の動的な構造形成が実際の生体内でも生じているか観察を行なった。</p> <p>まず生後 6 週及び 12 週の ZO1-EGFP マウスを用いて湾曲構造の観察を行なった。著しい湾曲が観察される尿細管は皮質と髓質の境界部に存在した。</p> <p>次に、酸欠による壊死を避けるため、腎臓をビブラトームで薄切して器官培養を行い、密着結合の湾曲構造の観察を行なった。その結果、著しい湾曲の見られる尿細管では、培養尿細管自身は壊死に陥らずに維持されるにも関わらず、ZO1 は培養数時間でバラバラにちぎれて細胞質内に点在してしまうことがわかった。湾曲の見られない尿細管（集合管と思われる）ではこのような変化は見られなかった。</p> <p>そこで、ビブラトームを用いず、腎臓を単に切断して、ZO1 構造の分解が起こる前のダイナミクスを観察する手法に切り替えたところ、一部の領域で動的な構造形成が観察された。今後例数を増やして生体内でも動的構造が起こることを実証する予定である。</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（令和2年度）

令和2年4月 日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 県立広島大学生物資源科学部

氏名 菅 裕

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	動物多細胞性の進化：インテグリン-細胞外マトリクス相互作用の起源		
課題番号	20-307		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 阿形 清和 職名 教授・所長		
分担者（研 究会は参加 者） (※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付してく ださい。)	所属	職名	氏名
	県立広島大学	学振特別研究員	傳保聖太郎
	県立広島大学	修士課程1年	日野礼仁
	基礎生物学研究所	修士課程2年	黒木義人

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>① カプサスポラ細胞の FACS による分離テスト カプサスポラは単細胞生物ではあるが、アメーバステージ、浮遊ステージ、群体ステージなど、環境によって複数の生育ステージを切り替えることが分かっている。FACS によってこれらの細胞を分離することが可能かどうか、パイロット実験を行った。カルチャーの基底や上清、また継代してからの経過時間を変えるなどして様々な細胞集団を用意し、FACS にかけた。その結果、浮遊ステージとアメーバステージを明確に分離することが可能なこと、またカプサスポラ細胞には弱いながらも自家蛍光があることがわかった。</p> <p>② プラナリア ECM body へのカプサスポラ細胞移植 カプサスポラは、単細胞生物でありながらインテグリンやラミニンなど、細胞外マトリクス(ECM)を介した多細胞体構築機能を示唆するような遺伝子を持つ。ではカプサスポラを後生動物の ECM のコンテキストにおいてやるとどのような反応をするだろうか？またそうした反応はプラナリアや哺乳類の多能性幹細胞を移植した時の反応と比較して何が異なるのか？Venus+のカプサスポラ細胞をプラナリア ECM body に移植した結果、カプサスポラが ECM body 前方に向かって集積していく様子が観察された。</p> <p>①②のパイロット実験の結果を踏まえ、令和3年度は一細胞 RNAseq 技術を用いた遺伝子発現解析に挑戦する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>令和2年度は、本来行う予定であった実験の多くが中止となったが、年度末にかろうじてパイロット実験を行うことができた。残念ながら、まだ論文や学会で発表できるようなデータは得られていないが、今回得られた結果は大変有望であると考えている。令和3年度に可能な限り実験を進め、学会や論文に発表していく予定である。</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）

2021年4月1日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 九州大学 農学研究院

氏名 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	20-309		
課題番号	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		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 渡辺 英治 職名 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 神経生理学研究室	准教授	渡辺 英治
	基礎生物学研究所 バイオリソース研究室	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>新型コロナウイルス感染拡大の影響により出張することができず、当初予定していた実験を行えなかった。RNA-seqとATAC-seqの複合解析を行うなど、可能な範囲で当該研究を進めた。これまでに、メダカ臀鰭の二次性徴発現領域で特異的に発現するAR標的遺伝子、ARと相互作用するパイオニア因子の候補を上記複合解析からスクリーニングし、ノックアウトメダカの作成を進めている。また、AR変異体の繁殖行動の解析や脳における遺伝子発現解析を行った。</p> <p>実験結果についてのディスカッションや今後のスケジュールについての打ち合わせは、所内対応者である渡辺英治準教授と電子メールで行った。また、可能な範囲で次年度以降の実験のためのARノックインメダカサンプル等の準備や予備実験を進めた。</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 sexual characters development in medaka (投稿準備中)</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（2020年度）

2021年4月2日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 東京理科大学基礎工学部

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-310		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 渡辺 英治 職名 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生 物工学科	准教授	宮川 信一
	東京理科大学大学院基礎工 学研究科生物工学専攻	大学院生	内田 翔
	東京理科大学大学院基礎工 学研究科生物工学専攻	大学院生	妹尾 衣里子
	東京理科大学大学院基礎工 学研究科生物工学専攻	大学院生	長谷川 真子
	東京理科大学大学院基礎工 学研究科生物工学専攻	大学院生	湊谷 紗妃
	東京理科大学基礎工学部生 物工学科	学部生	田中 恒星

(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、これまでに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。例えば、アンドロゲンを暴露したメスマウスの陰核は顕著なオス様の形態を示したが、陰核のサイズは正常なオスとメスの中間であった。また、アンドロゲン受容体阻害薬を暴露したオスマウスの陰茎の長さや内部の陰茎骨のサイズは、正常のオスマウスと比較して有意に小さくなった。このように本解析では CT による組織内部観察から、新たな外生殖器のホルモン環境に依存したパラメータを見出すこと成功し、マウス外生殖器の表現型を定量的に評価することが可能となった。今後もサンプル数を増やすとともに、遺伝子発現データとも比較しながら、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（2020年度）

2021年4月1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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-311		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 長谷部 光泰 職名 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>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。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り、日本産と台湾産のコダチスズムシソウは別分類群とすべきことが示唆された。基礎生物学研究所の温室において、2013年より栽培中の台湾・里龍山のコダチスズムシソウが初めて開花し、台湾の共同研究者に依頼して野外調査を行ったところ、現地集団でも一斉開花を確認することができた。これは台湾のコダチスズムシソウの中でも地域的に一斉開花が進化していることを示す成果である。</p> <p>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>台湾産の新たな周期的一斉開花種の発見について、第52回種生物学シンポジウムにおいて、ポスター発表を行った。現在、投稿論文を準備している。</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（2020年度）

2021年4月26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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-312		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 川口 正代司 職名 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IA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。

2020年度の個別共同利用研究において、自生地の共生系の再現試験を行った。同じプランターにナガボナツハゼの苗とマツの苗を植え付け、399日後に根を観察した結果、ナガボナツハゼとマツともに、菌根と菌糸が観察された (Fig.1, Fig.2)。また、これらの菌根からDNAを抽出し菌種を同定した結果、ナガボナツハゼとマツの菌根に共通の菌根菌 (Helotiales目, Suillus属) が検出された (Fig.1, Fig.2)。自生地のナガボナツハゼとマツにおいても Helotiales 目の菌が共通して検出されている。Helotiales はツツジ科特有のエリコイド菌として知られており、ナガボナツハゼとマツの3者間共生において重要な役割を果たしていると考えられた。今後は、ナガボナツハゼとマツ間の菌糸経由で養分の受け渡しについて調査する予定である。

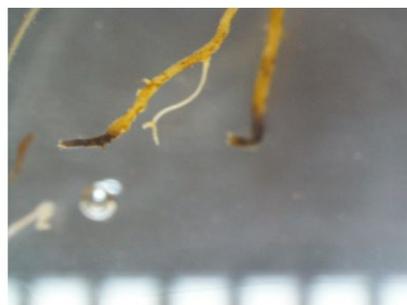


ナガボナツハゼ



マツ

Fig.1 Helotiales目の菌が検出された
ナガボナツハゼとマツの菌根形態



ナガボナツハゼ



マツ

Fig.2 *Suillus luteus*属の菌が検出された
ナガボナツハゼとマツの菌根形態

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（2020年度）

2021年4月23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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	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		
課題番号	20-313		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 川口正代司		職名 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2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>本研究は2018年度からCRISPR-cas9システムを利用したベクターの構築を開始し、昨年来本格的な形質転換を行なってきたが、カルスがほとんど誘導されないという現象に見舞われていた。そこで今年度は川口正代司教授のご指導を仰ぎながら徹底的にプロトコルを見直して、抗生物質の選択に誤りがあったことを発見した。それ以降プロトコルを修正して形質転換を行なっているが、カルスの誘導に成功している。したがってこれを継続していくことによって、近い将来形質転換体を得られ、表現型の解析が可能になると予想できる。現在も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（2020 年度）

2021 年 4 月 12 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-314		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 川口 正代司 職名 教授		
分担者（研 究会は参加 者） (※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付してく ださい。)	所属	職名	氏名
	鹿児島大学・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	博士前期課程1年	下川 友太
	鹿児島大学・大学院理工学研究科	博士前期課程1年	福田 将大

(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。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遺伝子発現の変化を RNA-Seq で網羅的に比較・検討した。その結果、マメ科植物との共生に必要な <i>bacA</i> 遺伝子は、イネとのエンドファイト共生にも関与している可能性があること、イネ破碎液によって根粒菌の酸素添加酵素などの遺伝子発現が有意に変化することが明らかとなり、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も出てきた。イネ破碎液には、根粒菌の培養菌体を根粒内で共生状態にある菌体（バクテロイド）によく似た形態に変化させる活性も見出した。これらの結果は、<i>Microbes and Environments</i> 誌に掲載（doi:10.1264/jsme2.ME20049）された。</p> <p><i>Bradyrhizobium</i> sp. SUTN9-2 の III 型分泌系の分泌装置を構成する遺伝子の破壊株は、本来の宿主ではないミヤコグサとも共生可能となった。この破壊株の共生特性は、イネとのエンドファイト共生における III 型分泌系、及び、そのエフェクタータンパク質の機能を検討するための基礎情報として非常に重要であり、<i>Microbes and Environments</i> 誌で論文発表（doi:10.1264/jsme2.ME20041）した。さらに、ミヤコグサとの共生を阻害すると考えられるエフェクタータンパク質の同定も試み、各種エフェクタータンパク質の遺伝子破壊株の中から、候補遺伝子を特定することができた。これら III 型分泌系関連遺伝子の破壊株について、イネに対する成長促進効果、及び、エンドファイト共生能の有無を検討する計画であったが、研究活動停止の期間などもあり、実験を予定通りに進めることができなかった。今後実施すべき、重要な実験の一つと位置付けている。</p> <p>遺伝子発現の変化と根粒菌の形態変化との関連付けについては、基生研を訪問して共同で取り組む予定であったが、残念ながら、コロナ禍の影響を受け、実施することはできなかった。イネ破碎液により発現が誘導される遺伝子などについては、破壊株の作出に取り組んでいる。これら破壊株について、イネとのエンドファイト共生を検討する実験も、今後展開すべき重要な課題である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>ミヤコグサとの共生を阻害すると考えられる III 型分泌系のエフェクタータンパク質の遺伝子、及び、その遺伝子破壊株の共生特性については、2021 年度中には論文として発表したいと考えている。その他、関連学会での発表も検討している。</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（2020年度）

2021年4月22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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	ミヤコグサが維持する一年生・多年生の種内多型に関わる遺伝的要因の解明		
課題番号	20-315		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 川口 正代司 職名 教授		
分担者（研 究会参加 者） （※人数が多 い場合は別紙 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	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>マメ科の草本であるミヤコグサは、種内に一年生・多年生の多型を維持することが、これまでの野外調査によりわかっている。本共同研究の内容は、以下の2つに大別される。</p> <p>A) QTL 解析による候補遺伝子の絞り込み</p> <p>National BioResource Project によって提供されているミヤコグサの RILLine は、一年生・多年生の系統をもとに作出されているため、これらの系統を用いた形質評価と QTL 解析により、これまでに第6染色体上に関連する領域を検出している。2020年度は、関連する領域を絞り込むべく、沖縄の圃場において栽培実験を行ったが、例年にない強風により植物体が吹き飛ばされてしまい、評価できた系統が不十分であったため、2021年度に改めて実験を行う。</p> <p>B) 栽培実験による関連する環境要素の推定</p> <p>本種の一年生の表現型は、自生地環境で確認されるが、実験室内で広く用いられる栽培条件では確認されてこなかった。そこでこれまでの栽培実験の結果をもとに、30度の高温条件下でそれぞれの表現型を示す実験系統を栽培したところ、一年生型の系統が開花後にほぼ枯死するような表現型を呈した。野外環境とは異なるため完全な枯死までは確認されなかったが、多年生型との差は明瞭で、一年生の表現型には30度の高温条件がトリガーとなっていると推定される。今後は、RILLine から選定されたいくつかの系統も合わせて用いることで、この表現型が再現されるかを栽培実験により明らかにする。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021年度の学会発表において成果発表の機会を検討中である。</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（2020年度）

2021年 4月 22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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-316		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 新美 輝幸 職名 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
	東京農工大学	准教授	井上真紀

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>コロナの影響により、研究を実施することができなかった。</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（2020年度）

2021年3月31日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 甲南大学工学部生物学科

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-317		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 新美 輝幸 職名 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>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「受精囊」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、受精囊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>2020 年度の共同利用では、コロナ禍の中で研究所を訪問することができなかったが、キイロシリアゲアリにおける dsRNA の効率的な導入方法について話し合いをした。</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否かを明らかにし、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。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年4月5日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 JT 生命誌研究館

氏名 蘇 智慧

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	オサムシの後翅退化の分子機構の進化の解明		
課題番号	20-318		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 新美 輝幸		職名 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
	JT 生命誌研究館	研究補助員	佐々木 綾子

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2020年度では、本研究の材料のうち、クロカタビロオサムシとヤコンオサムシ2種の飼育法を確立した。我々の飼育法によって、野外よりも比較的長い期間において、成虫が休眠せず産卵し続けることができた。その結果、十分ではないが、最低限の数の卵、幼虫、蛹を得て、翅の発生過程の観察と RNA-seq 解析用のサンプル採取ができた。</p> <p>2種のオサムシの後翅発生過程を観察した結果、前蛹期では、正常な後翅を有するクロカタビロオサムシと後翅が針状に退化したヤコンオサムシのどちらもほぼ同様な後翅原基が観察され、その後翅原基には翅脈も確認された。一方、蛹期では、カタビロオサムシの後翅は発生の進行につれて、翅脈間の組織が形成され、後翅膜の中で翅が発達するが、ヤコンオサムシの後翅は、蛹期2日目から明らかに翅脈が翅の前縁に集まり束ねていき、膜中が段々退縮していくことがわかった。羽化前には後翅はすでに針状になっていることも確認された。これらの観察結果から、後翅の退化は蛹期の発生過程において、後翅の翅脈間の組織が形成できないために生じることであると結論付けた。</p> <p>RNA-seq の解析については、ヤコンオサムシの前翅と後翅の間および発育ステージ間の比較解析を行ったところである。今後、正常後翅を持つカタビロオサムシの翅形成関連遺伝子の発現パターンを調べ、後翅退化に関わる遺伝子を特定し、RNAi 実験による特定遺伝子の機能検証を行う予定である。また、後翅が均等に萎縮した代表的な種と後翅が消失した種についても調べ、後翅退化の進化的分子機構を明らかにしたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021年度の日本進化学会で発表する予定である。また、RNA-seq 解析の結果が得られた後に、学術誌への投稿論文の作成に取り掛かる予定である。</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（2020年度）

2021年4月1日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 新潟大学佐渡自然共生科学センター臨海実験所

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-319		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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>十脚目甲殻類（エビ・カニの仲間）をモデルに、脱皮や幼生変態、卵成熟などの制御に関与していることが示唆されている脱皮ホルモン（20-hydroxyecdysone: 20E）と幼若ホルモン（methyl farnesoate: MF）の体内濃度を LC-MS を用いて定量する方法の確立を目指した。今年度は、クルマエビ、アメリカザリガニ、モクズガニ、ベニズワイガニ、ズワイガニ、ウチワエビの 6 種類から内分泌器官や体液サンプルを調整し、供試した。MF は体液サンプルを等量の 100%メタノールと混合する前処理により安定して分析が可能になり、現在は相対濃度を算出するために内部標準物質として fenoxycarb の性能を確認中である。</p> <p>20E については MF と同様の前処理方法では検出ができなかったため別の方法を探索した。十脚目の体液（血リンパ）サンプルは採決後に静置すると凝固するが、凝固後に冷凍し、EGTA を含むバッファー内で破砕することでピークの検出に成功した。現在は、EGTA の有無の検証や、抗血液凝固剤であるクエン酸ナトリウムを用いた体液サンプルの前処理法の検討を進めている。MF と 20E の両ホルモンの定量手法がかなり改善されてきており、今後は脱皮周期や雌雄間で両ホルモンの定量分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>現時点では具体的にありません。</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2年度）

2021年4月26日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 長崎大学水産環境科学総合研究科

氏名 服部 充

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-320		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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
	長崎大学	大学院生	須藤 啓
	九州大学	助教	小川 浩太

(裏面に続く)

本研究では既存の昆虫とは異なる生態をもつ社会性アブラムシに注目した。そして、その利他行動の生理学的背景を生体アミンのドーパミンに着目して明らかにしようとした。ドーパミンは、シロアリなどの社会性昆虫において利他行動の制御をつかさどっていることが分かっている。このことから、社会性アブラムシであるササコナフキツノアブラムシのカースト間（兵隊と通常個体）でドーパミン生成量が異なると予測し、そのドーパミン合成に関わる遺伝子 TH（チロシン水酸化酵素）と DDC1（ドーパ脱炭酸酵素）、DDC2 の発現量の比較を行った。

兵隊と同一の齢期（1 齢）の通常個体と兵隊、それぞれ 5 体を 1 サンプルとし、それぞれのカースト、遺伝子において qPCR 分析を行った（TH 遺伝子: 生殖個体 $n = 5$ 、兵隊 $n = 4$; DDC1 遺伝子: 生殖個体 $n = 6$ 、兵隊 $n = 5$; DDC2 遺伝子: 生殖個体 $n = 5$ 、兵隊 $n = 5$ ）。

その結果、TH 遺伝子、DDC1 遺伝子、DDC2 遺伝子の発現量が、1 齢通常個体と兵隊の間で異なることが明らかになった（Wilcoxon rank sum test, TH 遺伝子: $P = 0.56$; DDC1 遺伝子: $P = 1.0$; DDC2 遺伝子: $P = 0.56$; Fig. 1）。このことは、シロアリなどの社会性昆虫における利他行動に関する生理学的背景と社会性アブラムシの生理学的背景が大きく異なっていることを示唆している。つまり、シロアリなどにおける社会性とアブラムシにおける社会性の進化的背景も大きく異なっていることも考えられる。

今後は、兵隊の利他行動を制御している生理活性物質の引き続きの解明を目指して、TDC（チロシン脱炭酸酵素）などの遺伝子発現量のカースト間比較を行う予定である。

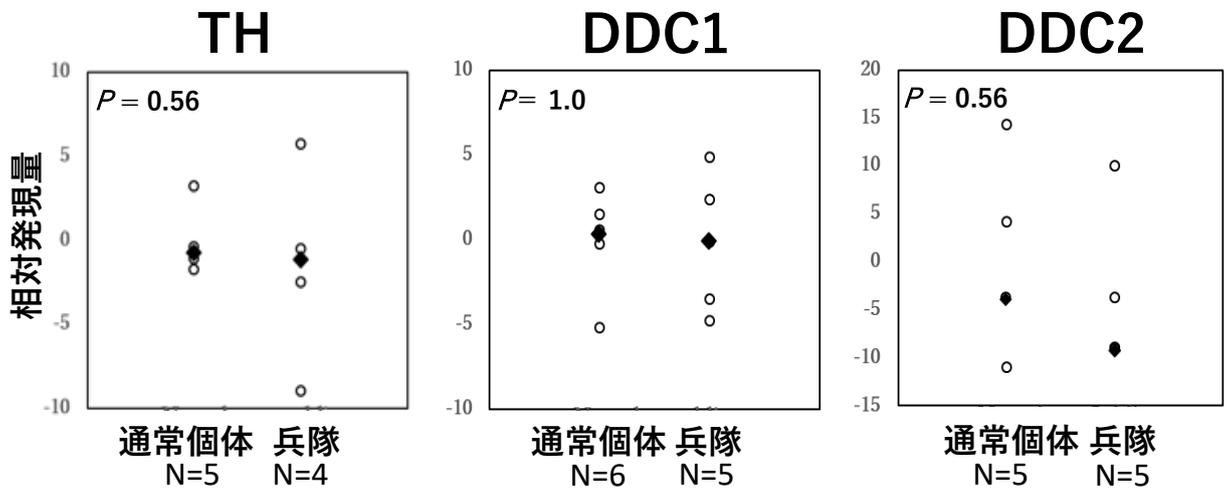


Fig 1. 各遺伝子における遺伝子発現量

これからの成果とともに国内学会、国際学術誌での発表を予定している。

の 予 定	
備 考	須藤啓、頼本隼汰、重信秀治、服部充、真社会性アブラムシのドーパミン合成に関する 遺伝子発現量のカースト間比較、日本生態学会第 68 回大会、ポスター発表 (P1-112)

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年 4月 24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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-321		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信秀治		職名 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>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が、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。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、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ている。今年度はこれらの角状管に付属する筋肉および軟性の膜の改変について着目し、これら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ことを突き止めた。今後は2次的に稼働性を失ったと思われる種について追加の解析を行い、角状管筋の進化および機能転換プロセスの全容を明らかにする。</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。進化学会および動物学会における発表を考えている。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>本年度はコロナのため基礎生物学研究所への滞在はできなかったが、代表者の所属講座に解析に必要な設備を整備し解析を行った。</p>

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年4月6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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-322		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 30日		
所内対応者	氏名 重信秀治 職名 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 種のキノシロアリ(台湾シロアリ)が分布している。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おり、これらの菌は子実体の発生様式が大きく異なることから、子実体発生における各組織の RNAseq を行い、子実体発生機構を明らかにする予定であったが、新型コロナウイルス感染拡大の影響によりオオシロアリタケのサンプリングを行うことができず、当初予定していた実験を行うことができなかった。今まで得られたデータの解析や、それを用いた成果報告については、所内対応者である重信教授と打ち合わせを電子メールで行った。</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。オオシロアリタケの子実体発生過程におけるサンプリングには、特定の時期に西表島まで行く必要があるが、次年度以降も現状ではサンプリングは非常に厳しい状況である。新型コロナウイルス感染症が落ち着き次第、本研究を遂行したい。</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（2020年度）

2021年4月20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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	シロアリとアブラムシにおける不妊カーストの分化機構の解析		
課題番号	20-323		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信秀治 職名 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
	産業技術総合研究所, 生物プロセス研究部門	主任研究員	杓掛磨也子
	関西学院大学理工学部	学術研究員	矢口甫
	農業・食品産業技術総合研究機構, 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(修士2年)	松谷拓紀
	富山大学・大学院理工学教育部	大学院生(修士2年)	松下誠
	富山大学・大学院理工学教育部	大学院生(修士1年)	藤原克斗

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ネバダオオシロアリの JH 受容体 (Met) および転写因子 HR39 の発現抑制の有無によるトランスクリプトーム解析を行い、候補遺伝子の機能解析を進めている。20E シグナル遺伝子には、兵隊脱皮に強く影響する遺伝子も取得されたため、アイソフォームの特定と役割を個別に解析している。さらに、兵隊形質を保有しながら、生殖腺も発達させる特殊な二次生殖虫 (兵隊型生殖虫) の分化と維持機構の解明のために、カースト間のトランスクリプトームを解析した。その結果、兵隊型生殖虫と二次生殖虫には DEGs が極めて少なく、遺伝子発現パターンはほぼ共通することが明らかになった。両者とも兵隊との比較では多くの DEGs が検出されたため、現在それらからピックアップした個別の遺伝子の発現・機能解析を進めている。また、ヤマトシロアリのゲノム解析と個別の発現解析の結果、昆虫で高度に保存される性決定遺伝子がユニークな特徴をもつことが明らかになった。今後は兵隊分化に対する影響など、種間での役割の違いを明らかにするために、複数種で遺伝子を同定し、発現・機能解析を行っていく予定である。</p> <p>ハクウンボクハナフシアブラムシを用いて、兵隊が高頻度で出現する高密度飼育群の 1 齢幼虫と、兵隊が殆ど出現しない低密度飼育群の 1 齢幼虫の間でトランスクリプトーム解析を行い、DEGs のリストアップを行った。新たに先進ゲノム支援に採択されたので、今後は高品質なゲノムの取得を目指すと共に、ゲノム配列をフレームとした JH/20E 関連遺伝子の発現解析を進める。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>平成 23-24 年度までの「次世代シーケンサー共同研究」、平成 25-29 年度の「モデル生物・技術開発共同利用研究」および平成 30 年度の「統合ゲノミクス共同利用研究」の課題として、ヤマトシロアリの新規ゲノム解読を進め、2021 年 4 月に論文を投稿した。ゲノムブラウザは、JBrowse ソフトウェアを基盤に作成し、論文投稿と同時に公開した (http://www.termite.nibb.info/retsp/webpage/)。現在、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（2020年度）

2021年4月1日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 北海道大学大学院薬学研究院

氏名 横井 佐織

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-324		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 成瀬 清 職名 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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>機能性 lncRNA 候補のひとつである#8 について、遺伝子の全長を欠失させたホモ個体を作製し、行動実験において不安様行動を強く示すことと、オスの求愛頻度が低いことを明らかにした。</p> <p>#8 は成体神経新生領域に強い発現を示すことから、#8 の欠失による神経新生異常が行動異常を誘導した可能性が高いと考えられた。今後は#8 変異体において神経新生異常がおきているかを、神経新生マーカー抗体を用いた抗体染色や、in situ hybridization 法によって検証する。</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、分担者の井ノ上俊太郎が The 26th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (2020 年 11 月 20 日)にて学会発表を行い、Best Presentation Award を受賞した。</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（2020年度）

2021年4月28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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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3期）		
課題番号	20-325		
研究期間	2020年 4月 1日 ～ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 成瀬 清 職名 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
	京都大学生命科学研究科	博士課程1年	ドゥソーザ リア サラ

(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、「生きた動物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系の開発」を目的とする継続研究である。具体的には、“光照射”により“アポトーシス実行因子”のカスパーゼ8を活性化し、その結果実行因子が発現した組織(例えば脳)で細胞死が起きる“トランスジェニックメダカ”の樹立と系統化を目指す。</p> <p>本年度は、当初の計画を変更し、光照射によりアポトーシス実行因子を活性化する系の効率化を図った。光受容体タンパク質の光反応ドメイン LOV1 とカスパーゼ8のプロテアーゼドメインを融合したタンパク質“LOV1-CASP8”についてアポトーシス誘導能を高めるためにLOV1の変異体作製とその活性化向上の有無について培養細胞を用いて検討した。真菌由来の光受容体タンパク質 Vivid において光照射により二量体形成の持続時間が長くなる変異体を参考に、LOV1 ドメインにおいて対応するアミノ酸の置換を行なった。1アミノ酸のみ置換と3アミノ酸の置換を行なったところ、野生型や1アミノ酸置換型に比べて3アミノ酸置換型のLOV1ドメイン変異体が、光に反応して二量体を形成しその持続時間も長くなることが判明した。この3アミノ酸置換型のLOV1をカスパーゼ8に繋げて作製した融合タンパク質“LOV1*-CASP8”をヒトHeLa細胞に発現させた後、光照射すると野生型LOV1ドメインを用いた時に比べて死細胞の数が増加することを認めた。改良型を用いると、少なくとも細胞レベルでは光照射によりアポトーシス誘導能が高まったことから、この改良型を今後メダカにおいて発現させることとする。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>特になし。</p>
<p>備考</p>	<p>本年度は新型コロナ禍により、基礎生物学研究所において遺伝子導入実験を試みることができず、当初の研究計画を変更せざるを得なかった。</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（2020年度）

2021年 4月 30日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 早稲田大学 教育・総合科学学術院

氏名 加藤 尚志

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-326		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 成瀬 清 職名 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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>[目的] 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を解明する。</p> <p>[方法] ① <i>Csf3a1</i> 欠損メダカの表現型解析 <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、<i>o</i>-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た。<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 (G-CSFR;遺伝子名 <i>csf3r</i>) , 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> ② 血球細胞機械計数法の確立のための DiOC ₆ (3)を用いた赤血球分画 赤血球に DsRed を発現する GATA-1;DsRed メダカの末梢血球を DiOC ₆ (3)で染色した。フローサイトメトリー解析を行い、DiOC ₆ (3)を用いて赤血球を分画できるか確認した。 <p>[成果] 末梢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。赤血球数も <i>csf3a1</i> ヘテロ欠損メダカでは減少傾向を認めた。腎臓における MPO と G-CSFR の遺伝子発現量の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可能性という新たな知見を得た。また、フローサイトメトリー解析により DiOC₆(3) 弱陽性画分に DsRed 陽性の赤血球が分画されることを明らかにした。末梢血球の 0.35%を占める DsRed 陰性の白血球は DiOC₆(3)強陽性画分に濃縮された。</p> <p>[今後の展望] 今後はより正確なメダカ血球の機械計数法を確立するために、赤血球以外の血球細胞についても分画し画分を決定する。<i>csf3a1</i> 欠損メダカの血球数を確立した機械計数法で再度解析するとともに、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>csf3r</i> 欠損メダカも作出し、同様の表現型を示すか解析する。</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 62nd American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition (2020/12/07) にて学会発表を行った。 なお、2021年度は 50th 国際実験血液学会 (International Society for Experimental Hematology), 第92回動物学会米子大会に演題登録予定である。 また、本課題に関連する成果を国際誌へ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（2020年度）

2021年6月10日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 Sun Yat-sen University

氏名 Yang Liu

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	Functional investigation of ApoD gene family in fishes		
課題番号	20-327		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 成瀬 清		職名 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
	School of Life Sciences	Research Fellow	Langyu Gu

(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Gu博士が来日してCRISPR/Cas9によりApoD遺伝子群のすべてについて変異体を作成した。F1同士の交配により次世代を取り、変異を同型接合に持つ系統を樹立した。1遺伝子の変異体ではいずれの場合も顕著な表現型は見られなかったことから二重変異体の作成を開始した。このころ新型コロナウイルスのパンデミックによりGu博士の来日が困難となったことから、変異体より凍結精子を作成した。今後はコロナウイルスパンデミックが収束して、日中間の往来が可能になり、実験を再開できる態勢が構築でき次第、二重変異体の作出を進める。</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（令和2年度）

令和3年4月22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	20-328		
研究期間	平成2年 4月 1日 ~ 令和3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
	長岡技術科学大学大学院 工学研究科	修士課程学生	黒澤 和
	長岡技術科学大学大学院 工学研究科	修士課程学生	若林 荘太郎

(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新しい植物育種法を開発するため、DNA メチル化修飾を改変するためのベクター開発を行ってきた。本年度は、新型コロナウイルスの影響により、基礎生物学研究所を訪問して研究打ち合わせや実験を行うことができなかったが、研究参加者間で Web 会議を複数回行い、情報を共有しながら各所属機関にて可能な実験を行う形で共同研究を遂行した。特に本年度は、DNA メチル化編集の効率を高めるため、化膿レンサ球菌 Nickase 変異型 Cas9 (nSpCas9) を用いた系の検討に重点を置いて研究を進めた。化膿レンサ球菌 Nickase 変異型 Cas9 (nSpCas9) に、シロイヌナズナの DNA メチル化酵素あるいは DNA 脱メチル化酵素を融合させたタンパク質と、ターゲット sgRNA を同時に発現させるベクターを作製した。これをシロイヌナズナに形質転換し、ターゲット領域の DNA メチル化を解析したところ、DNA メチル化が変化していることを確認した。今後は、引き続きターゲット遺伝子の発現や次世代以降への効果について解析を進める。また、他の植物を対象を広げて有効性を検討することを計画している。</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法を確立し、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（2020年度）

2021年4月2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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-329		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 星野 敦 (多様性生物学研究室) 職名 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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>昨年度、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 ベクターの CaMV35S プロモーターと入れ替えた。その後、Gateway 法により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と考えていたが、今年度、シーケンスを行い確認したところ、予想外の配列が検出された。RNAi 用に同じ配列を反対向きにタンデムに挿入する必要があるとあり、そこで組換え等予期せぬことが起きてしまっている可能性が考えられた。今後は Gateway 法によるオートファジー関連遺伝子の一部の挿入を複数回を行い、目的のコンストラクトの完了を目指す。</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（2020年度）

2021年 4月 5日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 山形大学・理学部

氏名 河合寿子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	鉄欠乏時に発現するクロロフィル含有タンパク質 IsiA と PSI 四量体の複合体構造解析		
課題番号	#20-330		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 皆川純 職名 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>シアノバクテリアは細胞が鉄欠乏状態にさらされると、鉄ストレス誘導性クロロフィル結合タンパク質である <i>IsiA</i>(iron stress induced gene A)を合成して光化学系 I(PSI)の集光を助けるという仕組みを持っている。本研究で注目している窒素固定シアノバクテリア <i>Anabaena</i> の PSI は四量体を形成するという珍しい特徴を持っており、本研究では <i>Anabaena</i> において <i>IsiA</i> が PSI 周囲にどのように配置されるかについて明らかにすることを目指している。</p> <p>昨年度は、まず <i>IsiA</i> が発現する鉄の濃度や培養時間を検討した。<i>IsiA</i> の発現はクロロフィル分子の 77K 低温蛍光スペクトルを測定して確認した(皆川研究室・Kim さん)。この <i>IsiA</i> が発現しているチラコイド膜を可溶化し、PSI を含む画分を精製した。その後 PSI と同じ画分に <i>IsiA</i> が含まれていることを質量分析にて確認した(基生研生物機能情報分析室の牧野さん、森さん)。この <i>IsiA</i> を含む PSI 画分を負染色して電子顕微鏡像を取得後に単粒子解析を行った(皆川研究室・渡邊さん)。しかしながら <i>IsiA</i> の占有率が低く PSI 周囲に <i>IsiA</i> が確認できなかった。今後は <i>IsiA</i> が安定的に結合した状態で精製する方法を検討する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021 年度も引き続き研究を行い、成果が得られた後に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 (R3 年度)

2021 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-331		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 亀井 保博 職名 特任准教授		
分担者 (研究会は参加者) (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	北海道大学大学院農学研究院	修士課程	中西 登志紀
	北海道大学大学院農学研究院	博士課程	関口 真理
	北海道大学農学部	学士4年	佐藤 拓海

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>生命現象をシステムレベルで理解するには現象に関わる要素を同定するだけではなく、要素間の動的な相互作用・制御を明らかにする必要があります。本研究ではカイコ核多角体病ウイルス (<i>Bombyx mori</i> nucleopolyhedrovirus, BmNPV) 感染における多角体遺伝子発現をモデルとし、システムレベルで、そして多角体遺伝子プロモーター活性化を制御できるレベルで理解することを目的としている。</p> <p>BmNPV は 143 個の ORF をコードすると推定される 128kb の環状二本鎖 DNA をゲノムとして持つウイルスであり、ゲノム DNA からの mRNA 発現が本ウイルスの感染において重要な役割を果たしている。これまでに多角体遺伝子プロモーターから mScarlet-i を、感染後期における多角体遺伝子プロモーター活性化に必要な遺伝子群 (Ono et al. 2012) に sfGFP を発現するデュアルレポーターウイルスを構築し、多角体遺伝子発現カスケードの 2 点の活性を測定できる系を構築した。今年度は 13 遺伝子の多角体遺伝子発現制御遺伝子のデュアルレポーターウイルスを構築し、タイムラプス解析・統計モデリングを行い、多角体遺伝子プロモーター活性化の強弱を予測できる制御遺伝子プロモーター活性化パターンを同定した。ここまでの成果は第 91 回蚕糸・昆虫機能利用学術講演会で分担者・中西が発表した。</p> <p>今後は RNAi 等の遺伝子ネットワークへの阻害と本レポーターウイルスを用いた解析を組み合わせ、BmNPV 遺伝子ネットワークモデルを構築する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>遺伝子ネットワークへの阻害と本観察系を組み合わせた方法を構築し、多角体遺伝子プロモーター活性化の制御遺伝子 10 遺伝子の遺伝子ネットワークを構築した時点で、論文を執筆・投稿する。また、蚕糸学会、ウイルス学会、分子生物学会等での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（2020年度）

2021年 4月 16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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-332		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井保博 職名 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
	新潟大学	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>われわれは、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て、シロイヌナズナの雌性配偶体特異的な遺伝子発現誘導系を構築した。これを用いた優性欠損変異体の発現誘導を利用し、雌性配偶体形成過程の極核融合に核内膜の <i>SUN</i> タンパク質が関与していることを示した。<i>SUN</i> タンパク質は核外膜の <i>KASH</i> タンパク質とともに <i>LINC</i> 複合体を形成するが、<i>SUN</i> タンパク質と <i>KASH</i> タンパク質との相互作用が極核融合に必要であることも示された。</p> <p>本年度はこの実験系を用いて、重複受精過程の精核融合にも <i>SUN</i> タンパク質が関与していることを示唆する結果を得た。現在、詳細な解析を進めている。また、極核融合過程で機能する <i>KASH</i> タンパク質の同定を目指し、雌性配偶体で <i>KASH</i> タンパク質に関する様々な変異体の発現を誘導可能な形質転換植物を作製した。</p> <p>今後は、形成過程の雌性配偶体を用いた <i>KASH</i> タンパク質変異体の発現誘導実験によって、極核融合過程に必要な <i>KASH</i> タンパク質の特定を目指す。また、<i>IR-LEGO</i> による発現誘導と極核融合過程のライブイメージング解析を行い、<i>SUN</i> タンパク質および <i>KASH</i> タンパク質の機能欠損によって極核融合のどのステップが影響を受けるかを明らかにする。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>結果がまとまり次第、まず学会などで報告し、論文の出版を目指す。</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（2020年度）

2021年4月26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。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施			
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	20-333			
研究期間	2020年4月1日～2021年3月31日			
所内対応者	氏名	亀井保博	職名 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
		名古屋大学大学院創薬科学研究科	教授	人見清隆
		名古屋大学大学院創薬科学研究科	技術補佐員	渡邊優子
		名古屋大学大学院創薬科学研究科	大学院生	Meng Qi
		名古屋大学大学院創薬科学研究科	大学院生	小栗莉奈
		名古屋大学大学院創薬科学研究科	大学院生	石川雄太

記

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>タンパク質架橋化酵素は幅広い生物界において、タンパク質同士の不可逆な架橋接着やアミン付加などを通じて、タンパク質の構造・機能変換を行い、血液凝固や皮膚表皮形成など多様な生理機能の発揮に必須である。我々は本酵素の機能解明にメダカをモデル生物として扱い、遺伝子欠損体の作製を通じて新規機能を明らかにしてきた。また架橋される基質や制御因子についても、特に血液凝固因子（フィブリン、トロンビン）なども対象に含め、遺伝子変異個体の作製を行った。</p> <p>これらの変異個体の作製にあたって個別共同利用を行っており、当該年度は、TG2 という普遍的分布の変異体が行動異常を示す論文の作製における協力と今後の展開について討論の機会を得た。また、血液凝固に関わるトランスグルタミナーゼ (Factor XIII) を制御する因子、トロンビンの相当遺伝子（オルソログ）変異個体作製についての論文データにつき討論を行った。また、基質であるフィブリン相当遺伝子の変異個体の作製についても共同利用した。</p> <p>今後発展的に、組織特異的なこれら遺伝子の変異個体を作製する目的で、Cre - recombinase 遺伝子を組織特異的（肝臓・上皮組織）で発現させるトランスジェニックメダカの作製を共同利用にておいて行い、継続している。これを今後は確立して、対象遺伝子のより詳細で新奇な機能探索をする。このような組織特異的な Cre 発現個体は、他の遺伝子についても組織特異的な変異個体の確立に極めて有用であるため、より詳細に検討するとともに確立後は寄託したい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本年度の共同利用により以下の 2 つの論文を発表した。</p> <p>1. Watanabe Y., Okuya K., Takada Y., Kinoshita M., Yokoi S., Chisada S, Kamei Y., Tatsukawa H., Yamamoto N., Abe H., Hashimoto H., Hitomi K. Gene disruption of medaka (<i>Oryzias latipes</i>) orthologue for mammalian tissue-type transglutaminase (TG2) causes movement retardation. J. Biochem. (2020) 168(3):213-222. DOI: 10.1093/jb/mvaa038</p> <p>2. Watanabe Y., Oguri R., Suzuki R., Ishikawa Y., Tatsukawa H., Hashimoto H., Hitomi K. Thrombin-deficient mutant of medaka, a model fish, displays serious retardation in blood coagulation. Biosci. Biotechnol. Biochem. (2021) 85(4): 824-833. https://doi.org/10.1093/bbb/zbaa098</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）

2021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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-334		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井保博 職名 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・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	特任教授	成瀬清
	名古屋大学大学院生命農学研究科	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	助教	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	エルトゥンチェヌルジャー
	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 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>我々は、2014年度（平成26年度）までに、本共同研究の一貫として Medaka TILLING ライブラリーから CSS の点変異体メダカ M1 と M2 の 2 種類を樹立した。また、その後、独自に TALEN 法によって CSS ノックアウトメダカも樹立した。これらの解析を進めた結果、いずれも致死表現型を示すこと、ヘテロ交配により得られたホモ体メダカについては、M1 が孵化直前(8.5 日胚)に致死となる一方、M2 とノックアウトは 3 週間で (21 日胚) 致死となることがわかった。さらに、表現型の解析を進めたところ、M1 は脳領域に顕著なアポトーシスが起ることがわかり、それが致死性に関わると考えている。一方、とくに 2020 年度の取り組みによって、M2 はタンパク質発現後、多量体形成が不全になり不溶化することが判明し、可溶性 CSS が殆ど存在しない状況になることがわかった。この結果と符合して興味深いことに、この表現型は CSS 欠損メダカと類似していた（詳細な解析は来年度に行う予定）。また、M2 の当該点変異体の変異アミノ酸を性質の異なる数種のアミノ酸に置換して酵素の安定性を調べた結果、M2 変異は熱安定性が低く不溶化することが判明した。以上の M2 に関する結果は論文投稿中である。今後は M1 メダカの致死性の分子基盤の解明、CSS ノックアウトメダカの病態の解明を行う予定である。とくに、8.5 日杯の脳でアポトーシスが観測されるため、その理解を深めるには脳特異的ノックアウトメダカの作出が有効と考えており、今後、その計画に取り組む。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>TILLING ライブラリーから得られた CSS の点変異メダカ M2 については、国際的ジャーナルに掲載する予定である。もうひとつの M1 メダカについても準備ができ次第、論文を投稿する予定である。</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、2019 年度に引き続き、実施できなかった部分も多々あり、残念に思っています。</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（2020年度）

2021年5月19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	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		
課題番号	20-335		
研究期間	2020年 4月1日 ～2021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	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>本年度は新型コロナ感染状況の下、研究の進捗が滞り、本研究で計画していたトランスジェニック動物の作成が行えなかった。</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（2020年度）

2021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 井川 武

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-336		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井 保博 職名 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	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・ロ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、引き続き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。今年度は 100 倍のカバレッジ深度となる 300Gbp の illumina データに加えて 10Gb 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 を越える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。また低温に適応したカジカガエルの幼生における温度依存的な遺伝子発現変動を観察する。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 92 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（2020年度）

2021年 4月 20日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：大阪府立大学 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	20-337		
研究期間	2020年4月1日 ～ 2021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1年	上木 綾乃
	大阪府立大学 総合リハビリテーション学研究科	博士前期課程1年	藤井 智也
	大阪府立大学 総合リハビリテーション学研究科	博士前期課程1年	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	4年	彦坂 悠衣
	東北大学大学院生命科学研究科	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>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>昨年度までの研究からさらに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することにした。</p> <p>ヒトにおいて歯周病との関連が示唆されている生活習慣病のうち、非アルコール性脂肪肝炎(NASH)および骨粗しょう症についてのメダカのモデルに <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て、合併症あるいは重症化を検討することにした。</p> <p>1) NASH モデルメダカについて</p> <p>まず新潟大の寺井教授らが報告している NASH モデルの実験を行った。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。これらを3つのグループに分け、そのうちの2つにはそれぞれ異なった濃度の慢性歯周病原細菌 <i>P. gingivalis</i> の細菌膜成分リポポリサッカライド(Pg-LPS)を1回摂取し、3ヶ月後に麻酔下で解剖した。肝臓、腸管などを摘出し、現在、qPCR、western blotting などで NASH 病態の進行度に違いがあるかを検討中である。また腸内細菌叢や肝臓の病理切片などについても検討予定である。</p> <p>2) 骨粗しょう症モデルメダカについて</p> <p>東北大の安齋助教が作製した <i>tph2</i> 遺伝子ノックアウトマウスが骨粗鬆症モデルとして利用可能か、<i>tph2KO</i> 型の成魚を作製した。その結果、野生型と比べて加齢により3ヶ月齢以降で背骨の変形が顕著に認められた。またマイクロ CT を用いて、標準品のハイドロキシアパタイト(ファントム)を基準に骨密度の測定を行ったところ、野生型に比べて <i>tph2KO</i> 型で骨密度の低下傾向が認められた。今後、骨量、カルシウム含量及び破骨細胞マーカーの TRAP 活性などを検討する。さらに Pg-LPS を投与した場合の病態への影響も検討する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定及び実績</p>	<p><i>Tph2</i> ノックアウトメダカについては骨粗しょう症モデルメダカとして日本分子生物学会などで発表予定である。</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（2020年度）

2021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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	神経細胞内外の微細構造の in vivo イメージング		
課題番号	20-338		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名	亀井保博	職名 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		
	所属		職名
	氏名		
	所属		職名
	氏名		
	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>マクロファージが赤蛍光を発する LysM-Cre/LSL-tdTomato マウスの頭蓋骨を薄く削り、2光子顕微鏡を用いて、くも膜下腔のマクロファージを観察した。Alexa488 を結合した bovine serum albumin (BSA) を投与したマウスでは、緑色蛍光が速やかにマクロファージに取り込まれ、1週間にわたり残存することが確認された。また、乳がん細胞由来のエクソソームを回収し、PKH26 により標識した上で Iba1-EGFP マウスの静脈に投与したところ、速やかにミクログリアに取り込まれる様子が観察された。また、脊髄の観察のため、特注の脊髄イメージングチャンバーを用いた。Thy1-YFP マウス背部を切開して脊椎を露出し、固定器具にて両側から挟み込んだ。脊椎骨を剥がし、イメージングチャンバーを設置し、観察したところ、後根神経節の細胞体を捉えることに成功した。さらに、座骨神経の観察には、自作の吸引チャンバーを用いた。大腿部を切開して座骨神経を露出し、切開部を引圧をかけたチャンバーに吸着させて固定した。Thy1-YFP マウスの坐骨神経内部の神経束を長期間観察することができた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021 年度にデータを追加して、論文発表の予定である。</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（2020年度）

2021年4月30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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	テントウムシを用いた特定の餌資源に対する嗅覚・味覚受容遺伝子解明のための実験モデル作出		
課題番号	20-339		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 新実 輝幸 職名 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	助教	安藤 俊哉

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究はテントウムシ科での嗅覚味覚の大規模な多様化がどのようなメカニズムで生じているかを明らかにするという将来目標へ向けての第一段階である。まず①肉食・植食・菌食性テントウムシそれぞれにおいて実験材料となる種の選定と飼育系の確立、②嗅覚・味覚受容に関わる部位の特定、③RNAiを用いた嗅覚・味覚受容体関連遺伝子の機能解析系の確立を目的とした。</p> <p>肉食性テントウのグループに関しては新たな人工飼料を作成することで、すでに累代飼育が可能になっているナミテントウに加え、ヒメカノコテントウ、ムーアシロホシテントウ、ダンダラテントウの飼育が可能になった。また植食性テントウではニジュウヤホシテントウとルイヨウマダラテントウが生育可能な人工飼料が作成できた。一方、菌食性テントウについては採集できた個体数が少なく、産卵させることができなかった。また、触角と小顎髭を除去する実験で、肉食性・植食性のどちらのグループも、食物の選別には触角と小顎髭が強く関わっていることが判明した。さらにナミテントウを用いて嗅覚共受容体 (Orco) 遺伝子をノックアウトあるいはノックインするようなトランスジェニックの系統を作成する準備が整った。</p> <p>今後はまず Orco 遺伝子をノックアウトした肉食性・植食性テントウムシで実際に摂食選好性がどれくらい変化するかを確認し、触角で発現している遺伝子を使ってノックアウトとアッセイを繰り返すことで、摂食選好性をコントロールする遺伝子の特定を目指す。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>まだ予備的な結果に留まるが、肉食性テントウムシの摂食選好性のデータはこれまでほとんど報告がないことから、2021 年度にデータを追加して論文化の予定である。また、テントウムシの人工飼料について特に植食性テントウムシのものは新奇性が高いため、論文化を考えている。</p> <p>嗅覚共受容体のノックアウトなどの実験結果については、今後さらに調査を進めてより詳細な遺伝子の特定と機能解析につなげ、選好性に関わる脳領域の特定とともに論文化を目指す。</p>
<p>備考</p>	<p>共同研究開始時には数回の基生研訪問を予定していたが、Covid19による緊急事態宣言を受けてすべてキャンセルし、メールによる協議と情報交換を行って共同研究を継続した。</p>

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年 4月 7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 島田 裕士

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	蛍光酸素センサーを用いた光合成活性測定装置による光合成促進化合物スクリーニング法の開発		
課題番号	20-340		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 高橋俊一 職名 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
	名古屋大学・ITbM	特任准教授	佐藤 綾人

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本申請研究代表者と所内対応者、分担者によって共同で蛍光酸素センサーを用いた光合成活性測定装置を開発し、国内特許申請とともに国際出願（PCT 出願）を行った。</p> <p>本光合成装置で使用しているアクリルチャンバーの耐久性に問題が生じていたが、装置の改善を行い長期間・多数回測定に耐えうるシステムへと改善した。</p> <p>また、本装置を用いて光合成促進効果のある化合物のスクリーニングを行い、2種類の候補化合物を見つけた。これらの化合物については光合成促進効果の濃度依存性を調査し、どちらも至適濃度が 10 μM であることを示した。今後はこれら化合物の光合成活性促進効果についてさらなる検討を進め、光合成活性を促進させる構造の特定とより安価で低濃度で光合成活性促進効果を示す化合物の特定を行う。また、今回の検討は Leaf disc で行ったが、植物個体レベルで光合成活性を促進させうるのかを検討し、化合物の肥料として実用化へと繋げていきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究で開発した光合成活性測定装置について、学会発表ならびに論文投稿を 2021 年度内に行う予定である。</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（2020年度）

2021年4月23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 越水 静

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	花の構造色を発色する微細構造の形成メカニズム解明		
課題番号	20-341		
研究期間	2020年 7月 15日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 星野 敦 職名 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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>【研究成果の概要】</p> <p>今年度は新型コロナウイルス感染拡大の影響により、一時期研究の進行が滞ったが、検討予定であった、アグロバクテリウムを介したギンセンカの形質転換方法について、感染効率の高い条件を決定するに至った。また、過剰発現に使用するプロモーターの検討も行い、安定かつ高発現するプロモーターを決定した。</p> <p>また研究計画では、ギンセンカのゲノム配列解読を予定しているが、これに関して、Illumina ショートリードの配列データを得た。今後、ゲノム配列解読時のシーケンスエラーコレクションに使用する事ができる。</p> <p>さらに、本研究研究課題の成果を、日本植物学会・第 84 回大会（2020, 名古屋 [オンライン開催]）にて発表した。</p> <p>【今後の展望】</p> <p>研究計画では CRISPR/Cas9 システムによる遺伝子のノックアウトを予定しており、そのためのオフターゲット予測にゲノム配列の決定が必要となる。今後は PacBio 社の SequelII シーケンサーにより高品質なロングリード配列得ることで、ギンセンカゲノムの配列を解読する。</p> <p>また、構造色を発色する微細構造がいつどの段階で形成されるのか、電子顕微鏡を用いて観察を行うと共に、既に得られている候補原因因子の機能仮説を検証する。その後、候補因子のノックアウトを試みる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>日本植物学会にて口頭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（2020年度）

2021年4月##日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 水産研究・教育機構 水産技術研究所

氏名 吉浦康寿

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施			
	研究課題	メダカをモデルとした魚類の雄不妊化遺伝子の同定		
課題番号	20-342			
研究期間	2020年 7月 15日 ~ 2021年 3月 31日			
所内対応者	氏名	成瀬 清	職名	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
		水産技術研究所屋島庁舎	研究支援職員	黒柳美和
		基礎生物学研究所光学解析	特任准教授	亀井保博

記

(裏面に続く)

研究成果の概要及び今後の展望

雄の不妊化遺伝子候補として精子形成および受精に関わる下記の3つの遺伝子について KO メダカの作製を試み、一部第1世代 (G0) の表現型解析を行った。

①IZUMO1

IZUMO1 は精子の細胞膜に局在する膜タンパク質で、卵との融合に不可欠である。この遺伝子の exon3 にガイド RNA を設計し、CRISPR/Cas9 のゲノム編集ツールをメダカ受精卵に導入した。ふ化仔魚の変異導入率を調べた結果、標的の領域に 87% の高効率な変異導入を確認した (図 1)。変異導入雌と野生型雄の交配では正常な受精および発生を確認した (図 2-A)。一方、変異導入雄と野生型雌の交配ではほぼ未受精卵で発生も認められなかった (図 2-B)。さらに、変異導入雄の精子は正常な運動能を有していた。このことからメダカでも、哺乳類と同様に、IZUMO1 は卵に影響はなく、精子と卵の融合に関与することが示唆された。現在、雌から次世代を作出し、系統化を行っている。今後は、系統化した個体を用いて表現型解析を行い、IZUMO1 の受精における役割を明らかにする。また魚類の受精は卵門を介し、卵門のない哺乳類の受精とは異なる。IZUMO1 の機能解明は比較生殖学の観点からも興味深い。

②SYCP3 (Synaptonemal Complex Protein 3)

SYCP3 は減数分裂中の接合期に形成される対合複合体の構成タンパク質である。この遺伝子の exon1 にガイド RNA を設計し、CRISPR/Cas9 のゲノム編集ツールをメダカ受精卵に導入した。ふ化仔魚の変異導入率を調べた結果、標的の領域に 90% 以上の高効率な変異導入を確認した。G0 での表現型解析を進めつつ、次世代を作製し、系統化を進めている。今後は、系統化した個体を用いて表現型解析を行い、SYCP3 の減数分裂における役割を明らかにする。

③PRM (protamine)

PRM は精子核クロマチンの高度な凝集に必要な高塩基性タンパク質で、精子 DNA を保護する。この遺伝子についてメダカのゲノムデータベースを探索したが、反復配列が多く、ゲノム上の遺伝子の位置を特定することができなかった。そのため、ゲノム編集による変異体の作製は断念した。

今後の新たな試みとして、次年度からは精巣で特異的に発現する未知の遺伝子に注目する。そこでメダカ精巣の発現遺伝子データベースから高発現かつ精子での特異的発現が期待できる遺伝子候補を探索し、それらの遺伝子欠損メダカをゲノム編集で作製し、精子形成や受精に影響があるかを明らかにする。

<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>IZUMO1 および SYCP3 の生理機能の一端が明らかになった段階で、学会および学術雑誌での公表を行う予定。</p>
<p>備考</p>	<p>本研究課題は 2021 年の個別共同利用研究で継続。</p>

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

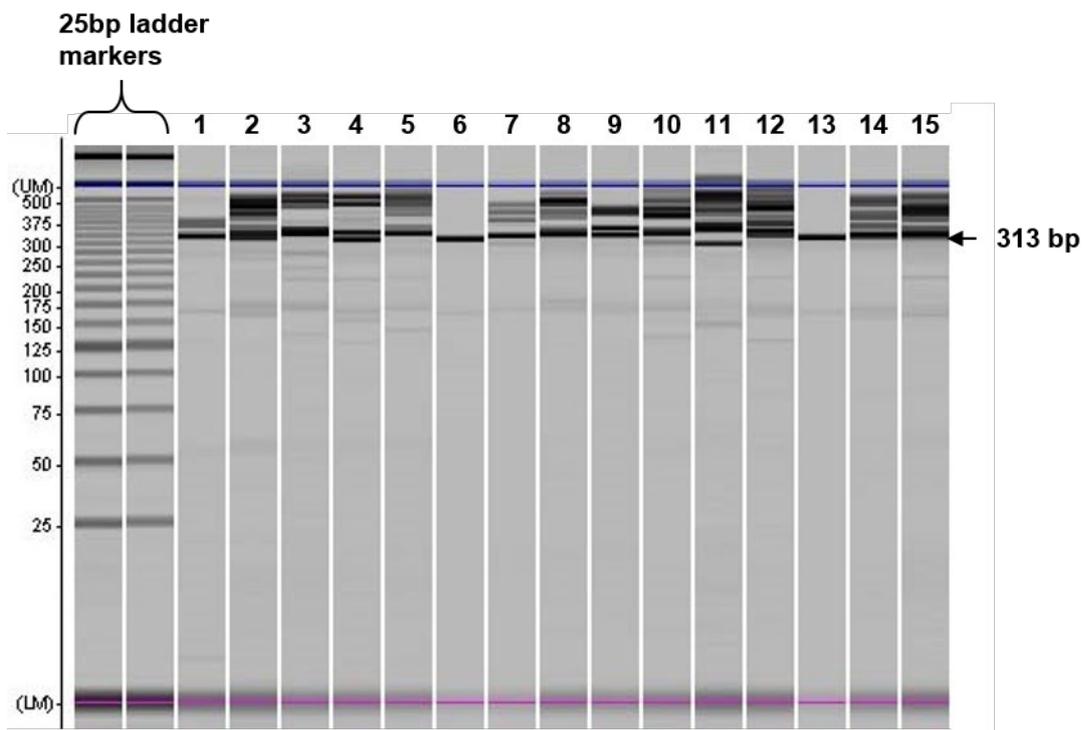


図 1. ゲノム編集した IZUMO1 第一世代における変異導入

IZUMO1 のゲノム編集ツールを顕微注入した受精卵より得られたふ化仔魚からゲノム DNA を抽出し、IZUMO1 の標的領域を PCR で増幅して、電気泳動した。その結果、高頻度の変異導入（複数のバンド）が 15 尾中 13 尾（87%）で認められ、高効率な変異導入を確認した。野生型は 313bp にバンドが認められる。

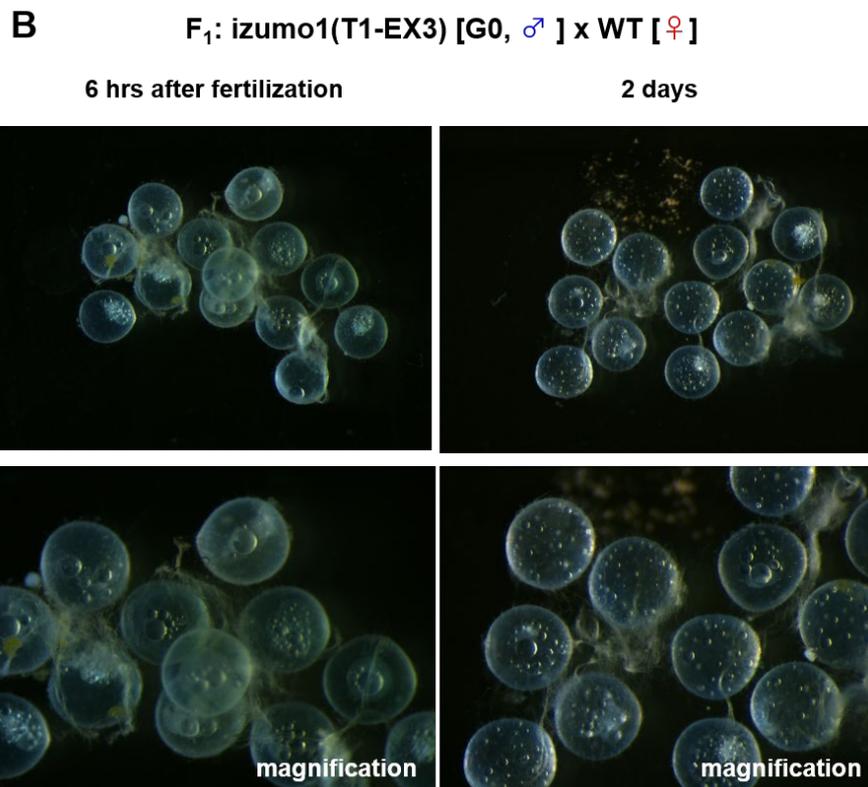
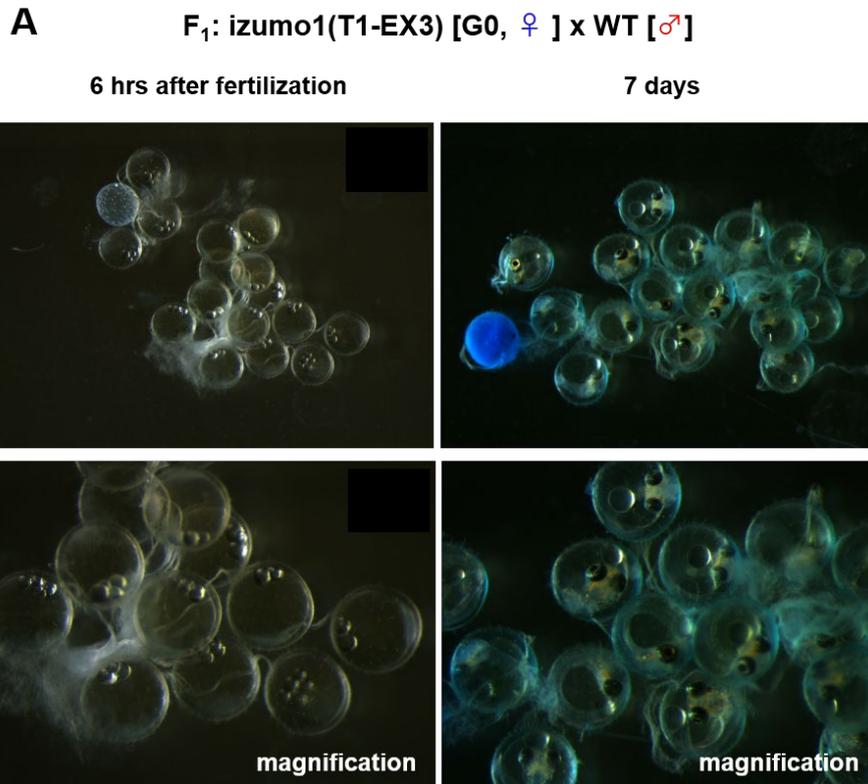


図 2. ゲノム編集した IZUMO1 第一世代 (G0) における表現型解析
 IZUMO1G0 雌と野生メダカ雄の交配卵 (A) : 受精後 6 時間には油球の融合、囲卵腔の形成が認められ、正常な受精を確認した。7 日後には発眼した胚体が認められ、正常は発生を確認した。IZUMO1G0 雄と野生メダカ雌の交配卵 (B) : 受精後 6 時間にも油球の融合、囲卵腔の形成が認められず、正常な受精が確認できなかった。7 日後でも胚は確認できず、受精していないことが確認できた。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書 (2020 年度)

2021 年 3 月 30 日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 岡山理科大学・理学部

氏名 南 善子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	タデアイのインジカン生合成経路の解明		
課題番号	20-344		
研究期間	2020 年 8 月 17 日 ~ 2021 年 3 月 15 日		
所内対応者	氏名 真野 昌二 職名 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
	岡山理科大学・理学部	大学院生	井上 慎太郎

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>タデ科植物アイの葉に含まれる二次代謝産物インジカンの生合成経路および輸送経路に関わるタンパク質の同定を目的として研究を進めた。これらのタンパク質はメタボロンのような反応複合体を形成すると予想し、その実態を捉えるために、Yeast two hybrid 法によるタンパク質間相互作用解析を行った。</p> <p>新型コロナウイルスの影響のため、事前に所内対応者の真野昌二准教授との電子メールと WEB 会議で、十分な打ち合わせと実験準備を進めた。その後、所内で2回の実験を実施した。</p> <p>これまでに得られている共免疫沈降などの解析データから、相互作用が予想される数種のタンパク質を選別し、複数の組み合わせを検討した。しかしながら、いずれの組み合わせにおいても、相互作用は見られなかった。</p> <p>研究結果は、その後、真野准教授との電子メールでディスカッションを行い、最終的にこれまでの結果も含めて WEB 会議で議論を行った。今後は、実験方法を再検討し、モデル植物を使った共発現・顕微鏡観察などにより、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>現時点の共同研究内容での成果発表は予定していない。 今後、さらにデータを付け足して、学術論文の発表を目指す。</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（2020年度）

2021年4月22日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 福建農林大学・生命科学学院

氏名 古谷 将彦

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	重力感受細胞コルメラに特異的な PIN 輸送経路の解明		
課題番号	20-345		
研究期間	2020 年 10 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 森田 (寺尾) 美代 職名 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>(研究成果の概要)</p> <p>重力感受細胞コルメラにおけるオーキシン排出担体 PIN-FORMED 3 (PIN3)の小胞輸送経路を明らかにすることを目的に、薬理的解析を行なった。低分子量 GTPase ARF の活性化阻害剤である Blefeldin A (BFA)を投与し、コルメラ細胞において PIN3 および ARF-GEF である GNOM、GNOM ホモログである GNOM-LIKE1 (GNL1)、そしてそれらのターゲットである ARF1 の局在を調べた。その結果、BFA 処理により小胞に存在していた PIN3-GFP が消失し細胞膜上およびその近傍にのみ局在が限定化され、細胞質中に局在化していた GNOM-GFP は細胞膜へと局在を変化させることを発見した。一方で、ARF1 と GNL1 の局在変化は観察されなかった。また、コルメラ以外の細胞においては、PIN3、GNOM、GNL1 および ARF1 が BFA 処理により形成される小胞の凝集体 BFA コンパートメントに局在化することを確認した。これらの結果は、コルメラ細胞において GNOM/GNL1-ARF1 が制御する小胞輸送経路が特殊化している可能性を強く示唆している。さらに、恒常的不活性型の ARF1 をコルメラ細胞特異的プロモーター制御下で発現誘導すると、細胞膜上の PIN3-GFP が劇的に減少することを見出した。コルメラ以外の細胞では、恒常的不活性型 ARF1 は PIN2 を小胞の凝集体に局在化させることがすでに報告されており、コルメラ細胞において ARF1 を介した小胞の輸送経路が他の細胞とは著しく異なることが明らかとなった。</p> <p>(今後の展望)</p> <p>今後、コルメラ細胞において GNOM が活性化する ARF の同定およびその機能解析を行うことにより、コルメラ細胞に特殊化した GNOM の機能を明らかにすることができるであろう。また、透過電子顕微鏡 TEM 法によりコルメラの細胞内微細構造を解析することにより、より詳細に BFA 処理の影響を解析することが可能となり、コルメラ細胞特異的な小胞輸送経路の解明につながるであろう。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>今後さらなる解析（コルメラにおける GNOM の機能解析および TEM 法によるコルメラの細胞内微細構造の解析）を行い、本研究成果と合わせて 2022 年度に論文として発表することを計画している。また、2022 年度に国際学会に参加し研究成果を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）

2021年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 岩手大学工学部

氏名 荒木 功人

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	ニワトリ pecten oculi 連続切片の三次元再構成		
課題番号	20-346		
研究期間	2020年 9月 9日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 藤森 俊彦 職名 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>ニワトリ胚（孵卵開始 5.5 日目（E5.5）, E6, E7, E8, E9, E10, E12, E14, E16, E18）の右眼（3 個ずつ）の固定試料から以下の手順で連続切片試料（トータルで 1500 枚以上）を作成した：自動包埋装置でパラフィン包埋、連続切片を作成、自動染色装置により HE 染色、封入。更に作成した試料の画像をスライドスキャナーでデジタル化した。ただ、スライドスキャナーが不調のため、当初 9 月中旬に行うはずだった研究所における上記の作業が、11 月後半にずれ込んだ。更に、この作業中にもスライドスキャナーが再度故障し、デジタル化データが得られたのが 3 月中旬であった。今回は眼球丸ごとを使用したのが、試料の包埋までに特に後期胚の眼球に、恐らく硝子体の収縮によると推測される大きな変形が発生した。このため当面の目標として、pecten oculi からのレンズ原基への血液供給の程度を明らかにするため、pecten oculi 全体ではなく、pecten oculi の「フック」とチン小帯・毛様体・レンズ原基との接続部分の三次元再構成による構造解析に向けて、現在、画像データの位置合わせを行っている。pecten oculi 全体の三次元再構成のためのより質の良いデータ取得に関しては、試料の変形を回避するため、眼球丸ごとではなく pecten oculi およびその周囲の眼球組織のみの試料を作成することで再度トライしたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本年度中に、pecten oculi の「フック」とチン小帯・毛様体・レンズ原基との接続部分の構造に関するデータをまとめ、論文の投稿を行う予定である。</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（2020年度）

2021年4月28日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 北海道大学大学院農学研究院

氏名 秋元 信一

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	多型性を示すアブラムシの各モルフと細胞内共生生物 Buchnera の量的関係の解明		
課題番号	20-348		
研究期間	2020年10月14日～2021年3月30日		
所内対応者	氏名 職名		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合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	教授	秋元信一
	基礎生物学研究所	教授	重信秀治
	北海道大学農学院	博士課程3年	童 欣

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ワタムシ亜科のアブラムシは、春にはニレ科の植物の葉にゴール（虫こぶ）を形成し、夏には草本の根に寄生する。ワタムシは 2 つの寄主植物を季節によって使い分けるだけでなく、年間を通して数多くのモルフを生み出すことが知られている。アブラムシの細胞内には、様々な種類の共生細菌が住み着いており、アブラムシと共生関係を維持している。本研究は、形態的・生理学的に多型を示すワタムシと共生する各種の細胞内生物が、世代や寄主植物によって、どのような影響を受け、各種の相対比率がどのように変化するのかを明らかにすることを目的としている。</p> <p>ゴール形成アブラムシである <i>Tetraneura sorini</i>, <i>T. nigriabdominalis</i> および <i>Eriosoma harunire</i> の 3 種を用いて次世代シーケンサーを利用し、ゲノムアセンブリを行い、それぞれの種の一次共生生物である <i>Buchnera</i> の全ゲノムを決定することができた。<i>Tetraneura sorini</i>, <i>T. nigriabdominalis</i>, <i>Eriosoma harunire</i> のゲノムサイズは、それぞれ 534074, 530822, 627279bp であり、タンパク質コード領域(CDS)は、それぞれ 503, 489, 494 箇所であった。アノテーションにより、<i>Tetraneura</i> 2 種は アスパラギナーゼ遺伝子(<i>ansA</i>)を持つが、<i>Eriosoma harunire</i> はその遺伝子を持たないことが明らかとなった。これまでの研究で、各種の <i>Buchnera</i> の全体的傾向が明らかになったことから、モルフ間での各種共生生物の相対量の定量化が容易となった。今後継続課題として、このテーマを着実に進めて行く予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現時点では未定</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。

統合ゲノミクス共同利用研究

- 20-401 ミズタマシヨウジョウバエ模様形成因子の探索
越川 滋行 北海道大学 大学院地球環境科学研究所
- 20-402 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 大学院理学研究所
- 20-403 キューバアノールトカゲのゲノム配列比較による進化可能性
河田 雅圭 東北大学 大学院生命科学研究科
- 20-404 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
- 20-405 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
- 20-406 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
- 20-407 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
- 20-408 アキノキリンソウ群（キク科）の生態ゲノム学的研究
阪口 翔太 京都大学 大学院地球環境学堂
- 20-409 キイチゴ属をモデルとした種分化と多様化の解明
三村 真紀子 岡山大学 大学院自然科学研究科
- 20-410 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
檜山 武史 岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科
- 20-411 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

- 20-412 Cilia での輸送を担う IFT139 の結合分子の探索
橋本 寛 名古屋市立大学 大学院医学研究科
- 20-413 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
- 20-414 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
- 20-415 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
- 20-416 昆虫の性行動・社会行動のゲノム基盤解析
岡田 泰和 東京都立大学 理学部
- 20-417 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
- 20-418 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
- 20-419 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 麻布大学 生命・環境科学部
- 20-420 オミクス解析を用いたシジミチョウ-アリ共生系の分子基盤研究
北條 賢 関西学院大学 理工学部
- 20-421 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
- 20-423 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 総合研究大学院大学 先導科学研究科

- 20-424 膵 β 細胞の恒常性維持に必要な転写後制御の解析
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
- 20-425 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
古賀 隆一 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門
- 20-426 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
- 20-427 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 遺伝形質研究系
- 20-428 スギの全ゲノム配列の解読
上野 真義 森林総合研究所 樹木分子遺伝研究領域
- 20-429 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
- 20-430 上皮恒常性維持過程における平面内細胞極性の維持機構の解明
藤森 俊彦 自然科学研究機構 基礎生物学研究所
- 20-431 昆虫新奇形質の形成メカニズムの解明
新美 輝幸 自然科学研究機構 基礎生物学研究所
- 20-432 胎仔から成体に至るマウス生殖細胞の系譜ダイナミクスの解析
吉田 松生 自然科学研究機構 基礎生物学研究所
- 20-433 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 東京慈恵会医科大学 臨床医学研究所
- 20-435 Homeostatic plasticity の制御機構の解明
高木 豪 愛知県医療療育総合センター 発達障害研究所
- 20-436 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

- 20-437 新しい進化指標を用いての数十億年前の生体システムの仕組みの解析
堀越 正美 東京大学 定量生命科学研究所
- 20-438 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 大学院農学研究科
- 20-439 トランスクリプトーム解析による有害赤潮プランクトンの光および栄養塩に対する応答解析
紫加田 知幸 水産研究・教育機構 瀬戸内海区水産研究所
- 20-440 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
- 20-441 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
- 20-442 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
- 20-443 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 法政大学 マイクロ・ナノテクノロジー研究センター
- 20-444 根圏における植物-放線菌相互作用の分子機構の解明
白須 賢 理化学研究所 環境資源科学研究センター
- 20-445 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
- 20-446 プラナリア無性個体の「性」への貢献：幹細胞の変異が果たして多様性を産むか？
小林 一也 弘前大学 農学生命科学部
- 20-447 緑藻の光防御反応から見出した概日リズム形成の分子機構の解明
得津 隆太郎 基礎生物学研究所 環境光生物学研究部門

- 20-448 アンプリコン解析用ソフトウェア (CLiCKAR: click to analyze pooled amplicon sequence data using R) の大規模計算機システムでの運用
飯田 緑 九州工業大学 大学院情報工学研究院
- 20-449 ATAC-seq とシマヘビのゲノム解読による種に固有の仙椎の位置決定機構の解明
鈴木 孝幸 名古屋大学 大学院生命農学研究科
- 20-450 メダカ全脳シングルセルトランスクリプトームリファレンスアトラス作成
竹内 秀明 東北大学 大学院生命科学研究科
- 20-451 茎寄生植物ネナシカズラの特定ゲノム領域の選択的取得
青木 考 大阪府立大学 生命環境科学研究科
- 20-452 真核生物ゲノムにおけるドメインレベルのオーソログ分類
千葉 啓和 情報・システム研究機構 ライフサイエンス統合データベースセンター
- 20-453 精子幹細胞のステート転換の動態とその制御機構
吉田 松生 基礎生物学研究所 生殖細胞研究部門
- 20-454 栄養摂取に応じた腸内分泌細胞の脱分化メカニズム解析
長井 広樹 東北大学 学際科学フロンティア研究所
- 20-455 比較ゲノム解析ツール MBGD と機能評価ツール Genomagle を連携した微生物機能解析手法の開発
高見 英人 東京大学 大気海洋研究所
- 20-456 集団ゲノミクスによる性染色体進化プロセスの解明
菊池 潔 東京大学 大学院農学生命科学研究科附属水産実験所
- 20-457 局所適応のモデルとなりうるマツ科針葉樹トドマツ (*Abies sachalinensis*) のゲノム解読
後藤 晋 東京大学 大学院農学生命科学研究科

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年4月5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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-401		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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 guttifera</i>) の翅をモデル系として用いた。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。前年度までに、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。今年度はこれらの結果の解析を進め、論文にまとめた。さらに、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だ。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020 年度までに得られた成果の一部は、査読論文として国際誌上で発表された (Fukutomi et al. 2021 FEBS J) ほか、日本動物学会第 91 回大会でも報告された。残りの成果については追加的な解析を行い、国際査読誌上で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（2020年度）

2021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

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-402		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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
	北海道大学大学院理学研究院	准教授	鎌田 瑠泉
	北海道大学大学院総合化学院	博士課程1年	谷 愛海
	北海道大学大学院総合化学院	修士課程2年	坂口 周弥
	北海道大学大学院総合化学院	修士課程2年	牛尾 早百合
	北海道大学大学院総合化学院	修士課程1年	宇野 早映
	北海道大学大学院総合化学院	修士課程1年	塚本 敏生

(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>これまで、好中球の分化モデル細胞 HL-60 を用い、PPM1D を阻害して分化誘導した細胞が免疫抑制的な機能を持つサブセットに分化することを見出している。2020 年度は 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が見られた遺伝子について機能解析を実施している。また、各分化条件における miRNA-seq を実施している。これまで、miRNA-seq のライブラリーを作製しており、Sequence データが得られ次第データ解析を実施し、PPM1D により制御されている miRNA を同定する。</p> <p>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。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サブセット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 94 回日本生化学会大会（2021 年 11 月 3 日～5 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 (2020 年度)

2021 年 4 月 2 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	20-403		
課題番号	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		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 重信秀治		職名 教授
分担者 (研 究会参加 者) (※人数が多 い場合は別紙 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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>[展望] 遺伝子予測のト[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 (A. allogus、A. sagrei) についてはアセンブリが終了していたが、新たに 4 種 (A. isolepis、A. allisoni、A. porcatius、A. homolechis) 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 A. allogus、A. sagrei、A. homolechis 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 A. sagrei 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。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（2020年度）

2021年4月28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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-404		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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>(1) 寄生植物を寄生させたトマト道管液の解析 寄生植物を寄生させたトマトの道管液の質量分析の結果を再度解析した。同定された多数のペプチド断片の中には寄生植物のタンパクデータベースにヒットするペプチド断片もあることを確認した。しかしながら、それらの中には本来はトマトのタンパク質に由来するがデータベースから漏れているため、寄生植物のタンパク質にヒットしたという偽陽性の可能性が示唆されたものもあった。今後はヒットしたペプチド断片の数を判断基準に加えたり、トマトのデータベースについて、再度検討を行ったりすることで、偽陽性の可能性を極力抑える必要がある。</p> <p>(2) 長距離移行性ペプチドの機能解析 ダイズ道管液から同定されたペプチドの一つに光合成産物の欠乏に応答するものがある。そのペプチドの機能を解明するために、シロイヌナズナのホモログに着目した解析を行った。その過程で、シロイヌナズナ道管液からホモログペプチドを検出することに成功している。2020年度はその結果を含むシロイヌナズナのホモログペプチドの機能に関する論文を投稿した。現時点では論文の受理には至っていないが、2021年中には受理されることが期待できる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>【学会発表】 Satoru Okamoto*, Azusa Kawasaki, Yumiko Makino, Takashi Ishida, Shinichiro Sawa, “Long-distance mobile peptides maintain root sucrose level and root growth” (第62回日本植物生理学会年会 (zoom) /シンポジウム)</p> <p>【論文 (投稿中)】 Satoru Okamoto*, Azusa Kawasaki, Yumiko Makino, Takashi Ishida, Shinichiro Sawa, “Long-distance mobile peptides maintain root sucrose level and root growth”.</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）

2021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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	麹菌 <i>Aspergillus oryzae</i> の比較ゲノムによる多様性創出機構の解明		
課題番号	20-405		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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> 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>2020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、前年度までに得たシーケンス情報の比較解析を行った。その結果、祖先とされる <i>Aspergillus flavus</i> にはない、<i>A. oryzae</i> に特異的な約 120 kb の染色体領域の存在が示唆された。また、これと相同性を示す染色体領域が醤油麹菌 <i>Aspergillus sojae</i> にも存在し、その祖先とされる <i>Aspergillus parasiticus</i> には存在しないことが示唆された。以上の結果から、見いだした特異的領域が、日本の醸造微生物のゲノム進化に関係する可能性が示された。さらに、特異的領域の機能を調べるため、<i>A. oryzae</i> においてゲノム編集技術を利用して大規模欠損を行った。</p> <p>2021年度も本共同利用研究を継続し、<i>A. oryzae</i> の多くの株を対象としたゲノム構造のさらなる比較解析、見いだした特異的領域について醸造における機能解析を行う。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年度に日本農芸化学会等で学会発表を行ったが、2021年度には継続する本共同利用研究で成果を得て、さらなる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（2020年度）

2021年 4月 19日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者) 入江 直樹
 所属 東京大学大学院理学系研究科
 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20 — 406		
研究期間	2019 年 6 月 25 日 ~ 2021 年 03 月 31 日		
所内対応者	氏名 重信秀治		職名 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	特任教授	成瀬清
	基礎生物学研究所	教授	高田慎治
	東京大学	修士課程生	藤川真琴
	東京大学	学部生	米原克磨
	理化学研究所	研究員	上坂将弘

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>受精卵から動物の体を作り上げる発生過程には、なぜか動物種間で保存されている段階が存在することが遺伝子発現プロファイルの比較解析から明らかになっている。この保存された発生段階は様々な器官原基が作られる器官形成期であり、脊索動物や節足動物など複数の動物門で、遺伝子発現プロファイルの保存性が報告されてきた。器官形成期は各動物門の基本的な解剖学的特徴（ボディプラン）が現れるタイミングであるため、この発生段階の保存性とボディプランの進化的保存の間には密接な関係が存在する可能性が指摘されている。一方で、器官形成期における遺伝子発現プロファイルとボディプランの間の理解のギャップは未だ大きいと言わざるを得ず、どのような細胞集団が保存されているのか、など細胞レベルの研究は殆ど行われていない。そこで本研究課題では、脊椎動物の器官形成期において進化的に保存されている細胞集団を特定することを目指し、全胚をサンプルとした single nucleus RNA-seq (snRNA-seq) 法の導入と、細胞レベルの遺伝子発現プロファイルの種間比較解析を進めてきた。</p> <p>本研究で使用する脊椎動物胚には様々な細胞種が含まれるため、胚を細胞単位に解離する際にバイアスが生じる可能性が考えられる。このバイアスを軽減するため、細胞ではなく核を使用する snRNA-seq 法を導入した。現在、メダカ胚を用いたパイロット実験から、全胚から核の単離、ソーティング、snRNA-seq ライブラリ構築、シーケンシングまで問題なく進めることができている。現在、取得したデータの解析を進めており、snRNA-seq 法の評価を行っている。また、他の脊椎動物種（ニワトリやゼブラフィッシュ）でも、この snRNA-seq 法が適用可能かどうかも並行して検討している。</p> <p>コロナウイルスの感染拡大の影響もあったため、当初の計画通りに複数脊椎動物種の snRNA-seq データの収集および比較解析を完遂できなかった。全胚 snRNA-seq 法についても、まだ完全にプロトコルが確立したとは言い難く、様々な脊椎動物胚でクオリティの高いデータが得られるかは検証できていない。そのため、我々は本研究課題について研究継続申請を行っており、引き続き実験・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>現在、脊椎動物全胚をサンプルとした snRNA-seq 法のプロトコルの開発を進めている。本手法の確立後、複数の脊椎動物種間で比較解析を行う。本研究課題から得られた知見は、学会発表や論文発表を通して公開する予定である。また、本研究で得られた脊椎動物胚の snRNA-seq データは、進化発生学研究において重要なリソースとなりうるため、公共データベースに登録し公開する予定である。</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）

2021年4月6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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-407		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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生科学研 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。これらデータ解析を完了し、本年度学術論文を投稿する予定であった。しかし、産休・育休から復帰した主担当者は出産にかかる体調不良により現在再度休職しており、研究活動が滞っているのが現状である。</p> <p>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ている。2020年度は、Hi-C法を用いたシーケンスによる染色体構造の解析も行い、ラン科植物の中でも質の高いゲノム情報を得ることで、他の既報のラン科植物のゲノム配列との差別化を行った。</p> <p>コロナウイルスの影響で、本年度は一度も基礎生物学研究所へ訪問できなかった。研究の進捗の発表や論文のまとめ方についての打ち合わせができなかったため、次年度は是非訪問したい。</p> <p>寄生的菌根共生システムに関連する研究を重信教授らと共同で実施し、以下の論文を公表した。</p> <p>Tominaga, T., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., Yamato, M. and Kaminaka, H.: The effects of gibberellin on the expression of symbiosis-related genes in Paris-type arbuscular mycorrhizal symbiosis in <i>Eustoma grandiflorum</i>. <i>Plant Signaling & Behavior</i>, 178454 (2020)</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のデータについては生理学的な解析データと合わせてた形での論文を、主担当者の復帰を待って完成させたい。ゲノム解析に関しては、次年度不足する実験データを実施するとともに、論文の執筆も始め、早めに論文投稿できるようにしたい。重信教授らと共同で実施している寄生的菌根共生システムに関連する様々な研究についても、次年度以降論文として順次発表していく予定である。</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（令和2年度）

2021年4月10日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 京都大学地球環境学堂

氏名 阪口 翔太

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-408		
研究期間	2020年 4月 1日 ～ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信秀治		職名 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
	東京大学総合文化研究科	教授	伊藤元己
	東京大学総合文化研究科	助教	久保田涉誠

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>生態的種分化では、異なる環境条件への適応に関わる形質が同時に生殖隔離を生じさせる。生態的種分化の初期段階では生態型間で隔離が生じるため、生態的隔離に関する遺伝子を特定することが種分化初期における進化動態の理解につながる。本研究では、北海道内の異なる土壤にみられるアキノキリンソウの土壤生態型（蛇紋岩型と一般型）に着目した。2型はそれぞれ蛇紋岩土壤と一般土壤に適応しており、結果として複数の生活史段階で隔離が生じている。このように複数の形質に基づいて隔離が生じる場合、隔離遺伝子の数や連鎖関係が選択効率に影響する。そのため本研究では全ゲノム分析によって候補遺伝子を網羅的に調査することとした。HiC法によって得られた染色体スケールのスキャフォールドをリファレンス配列として、北海道の異なる土壤型（蛇紋岩土壤と一般土壤）に分布する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った。土壤型に関連して顕著な分化を示すゲノム領域を抽出した結果、複数のイオン輸送体（例：K, Ca, Mg, Mn, NO₃ の輸送体）遺伝子およびリン脂質代謝経路に含まれる酵素遺伝子、開花経路における主要遺伝子が検出された。これらの遺伝子はアキノキリンソウの9つの染色体上で1-3個ずつに分かれて分布していた。本地域の蛇紋岩土壤ではマクロ栄養元素に乏しい一方でMgや重金属が過剰に含まれており、遺伝子機能との対応性を考慮するとこれらの遺伝子が土壤適応に関与している可能性が考えられた。そこで分析対象を他地域の12ペアに拡張して候補遺伝子群をリシークエンスし、地理的に離れた集団でも同様に候補変異が選択されているか検証した。その結果、遺伝子によって程度の違いはあったものの、生態型間でアレル頻度が共通して分化する傾向が確認された。また候補変異の空間分布は中立遺伝子における地理的な構造とは一致しなかった。以上から、本種の蛇紋岩地帯への侵入は平行的に生じたが、そのときに選択された遺伝子群には相当の共通性があることが示唆された。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>令和3年度以降に論文出版を予定している。</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（2020年度）

2020年4月7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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-409		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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><研究背景>本研究では、特に迅速な進化を可能にする浸透交雑に着目し、様々なタイムスケールにおいて、浸透交雑が種分化と多様化プロセスにどの程度寄与してきたのか明らかにする。特に1) 姉妹種間の分布域末端で起こる種分化の維持と2) 系統間で見られる同一の気候帯への繰り返す多様化に着目している。キイチゴ属では異なる系統グループで繰り返す亜熱帯気候へ種分化を経た進出が見られること (Okada et al 2020)、亜熱帯と温帯種の交雑帯で形質に強い分断化選択が働いていること (Mimura and Suga 2020) が明らかとなっている。今年度では、異なる系統グループに属するキイチゴ属のゲノム解析のために、Chromium シーケンスによるオオバライチゴのドラフトゲノムの構築を目指した。</p> <p><研究成果>2019年度末に協力いただき、モミジイチゴ (<i>Rubus palmatus</i>) のドラフトゲノムの精度向上のための scaffold の染色体上への ordering およびアノテーションの付け替え作業を完了した。ゲノム系統解析のためにこのドラフトゲノムが、異なる系統グループに属する種のリファレンスとして使用できるか検証した。その結果、外群とした同属種においても、良好なマッピング率が示された。モミジイチゴと同じ系統グループに属する種で 92%、異なる系統グループに属するオオバライチゴで 89.3%、さらに外群とした種でも 81.7%のマッピング率であった。GATK ベストプラクティスに基づいた SNP calling では、最終的に解析用にフィルターされた 4.7millions SNPs を検出できた。リファレンスとして十分な変異を抽出できたために、またコロナ禍と重なったため、当初予定していたオオバライチゴのドラフトゲノム作成よりもバイオインフォマティクス環境の構築を優先することをした。</p> <p>姉妹種の交雑帯における種分化の維持機構に関する課題では、再解析を行ったドラフトゲノムを使用して、RAD データによるゲノム勾配解析を再度行った。全ゲノム情報によるベイズ推定では、予測よりもかなり時間かかったため、対象2種間で AISs (Ancestry-Informative SNPs) を選抜し、それを用いてゲノム勾配解析を行った。良好な収束が見られたため、この AISs データを用いて、適応的浸透交雑に関わる統計解析がほぼ終了した。</p> <p><今後の展望>良好なドラフトゲノムが得られたため、これを用いて新たに解析中のリシーケンスデータと表現型を用いて GWAS を行う予定である。亜熱帯進出に伴う遺伝的背景への解明にさらに発展できると期待される。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>研究成果の一部は、種生物学会の和文誌 (文一出版からの書籍「種分化の生態学」) に掲載予定である。また、国際誌に学術論文を投稿する準備を進めている。</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（2020年度）

2021年6月7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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-410		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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>2020年度に、1サンプルを解析した。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たところ、大部分の血球系細胞がミクログリアのマーカを発現していることから、当初はミクログリアが中枢神経だけでなく、末梢神経にも存在しているものと思われた。しかし、この細胞集団をより詳細に解析した結果、ミクログリアではあまり発現の見られない、スカベンジャー受容体、抗原提示受容体が強陽性となっており、更には、ミクログリア分化に重要な転写因子が陰性であることから、ミクログリアとは全く異なったマクロファージの一種であることが示唆された。単離した神経マクロファージの遺伝子発現解析から、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も考えられるが、未だその機能はよくわかっていない。神経マクロファージの機能的特徴を把握するため、ならびに、神経マクロファージ特異的遺伝子改変マウスを作製するためのマーカー探索のため、次の戦略として網羅的遺伝子発現解析が必須であると判断された。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る。しかし、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>研究成果発表等の予定</p>	<p>今後、データを追加の上、発表する予定であるが、現時点では、具体的な発表は未定である。</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。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（R2年度）

2021年 4月 19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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	異なる染色体レース間に見られる遺伝構造: サッポロフキバツタを用いた解析		
課題番号	20-411		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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・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 ソフトウェアで出力したデータを再解析し, 集団間での遺伝子浸透の度合いを地域間で比較した. 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予定である. 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>過去の成果を早めに論文投稿する. 今後新規に排出予定のデータを加えた解析を実施する.</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（2020年度）

2021年4月27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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-412		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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>繊毛タンパク質である IFT139 の結合分子を同定するために、FLAG タグの付いた IFT139 タンパク質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。予備実験において、Stage 12 と Stage 25 のサンプルでの IFT139 TPR domain 結合タンパク質にはほぼ違いが認められなかったことから、繊毛の形成がされている Stage である Stage 21-22 で共免疫沈降 MS 解析 (IP-MS) を行った。その結果、繊毛形成に関与するいくつかのタンパク質が濃縮された。特にその中で、中心体局在タンパク質である PCM1 が再現良く濃縮していたことから、IFT139 結合分子の候補として考えられた。また、PCM1 近傍に存在する別の繊毛タンパク質の IP-MS を行った。今後は、IFT139 とこのタンパク質の結合の生物学的な意味を解析していく予定である。また、Lysate によるプロテオーム測定 (ラベルフリー data dependent acquisition) の条件検討を行った。その結果、同定されたペプチドの定量値は過去に報告されているデータと比べ、Intensity が低く同定量は比較的少なかった。これは使用している質量分析装置の違いによる制約である部分が多いが、一方、定量されたペプチド同士の相関は高かったことから、サンプル調製と測定自体はうまくいっていると考えられた。ペプチドフラクショネーションを行うことで同定されるペプチド種類の増加が見込まれるため、サンプル数の少ない実験系の場合において、この測定は使用できると考えられた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>同定された結合タンパク質の生物学的意味の解析の進捗に応じて、今後行う予定である。</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（2020年度）

2021年 4月 20日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 兵庫県立大学生命理学研究科

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-413		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信秀治 職名 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	教授	上野直人
	兵庫県立大学	教授	八田公平

(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、イメージングに優れたゼブラフィッシュ をモデルとして、RNA-seq の手法を用いて、1) 腸の機能を制御する各種腸神経細胞の分化に関わる転写因子の単離を行う。さらにその結果を利用し、2) これら腸神経細胞の光遺伝学的機能解析のための遺伝子導入魚作成も目指している。また、腸の運動の制御には、中胚葉生の介在細胞（ペースメーカー細胞など）も関与しており、その発生やイメージングを利用した運動時の機能解析のため、3) 同様に RNA-seq を用いたマーカー遺伝子の単離と、4) それを活用した遺伝子導入魚の作成も目指している。</p> <p>当該年度は、昨年度までに成体と受精後 5 日の幼生の腸の RNA-seq による比較で得た、介在細胞に発現するとされる <i>Pdgfra</i> 遺伝子と、興奮神経ペプチド遺伝子 <i>Tachykinin3a</i> についての解析を進めた。両者とも腸に発現しているのは確認できたため、現在はこれらの発現細胞を可視化し発生過程を解析したり、腸運動時の機能をカルシウムイメージングや光遺伝学で解析したりするための遺伝子導入魚の作成を行っている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p><i>Pdgfra</i> 陽性の介在細胞と <i>Tachykinin3a</i> 陽性の神経細胞の両者について、作成中の上記の遺伝子導入魚を使った発生過程や機能の解析を進めた上で、学会発表を経て、論文発表する計画である。2020 年度は、熊本で開催の発生生物学会に発表した。</p>
<p>備考</p>	<p>2020 年度の発生生物学会はコロナ禍で開催自体は見送られたが、要旨が参加者に公表された。</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（2020年度）

2021年4月2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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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ケンス解析		
課題番号	20-414		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信秀司		職名 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
	遺伝学研究所	助教	川島武士
	遺伝学研究所	特任准教授	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>ヘイケボタル全ゲノム解析の成果をさらに発展させるためにヘイケボタル飼育個体ならびに野外個体を用いた研究を進めた。今年度はとくに、継代飼育中現れた黒化系統のゲノムリシーケンスによる責任遺伝子の特定を試み、候補遺伝子の絞り込みを行っている。</p> <p>ホタルゲノム解読により、ホタル科のルシフェラーゼ遺伝子がコメツキムシ科（ヒカリコメツキ）のルシフェラーゼ遺伝子と並行進化により出現したことが示されたが、今回、それらの共通祖先遺伝子を配列推定し、その発光活性を調べた。また、同時にホタル科の共通祖先のルシフェラーゼ遺伝子配列を推定復元し、その発光活性も調べた。その結果、ホタル科とコメツキムシ科の共通祖先が持っていたルシフェラーゼ遺伝子の起源となる遺伝子には発光活性がないこと、一方、ホタル科の祖先においては現生ホタルと同等の発光強度で緑色の発光をすることが確かめられた。今後は、ホタルの全ゲノム情報を用いてより詳細な祖先配列復元を行う。また、メタボロミクスによる有機化学物質の分析も行う。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>黒化個体のリシーケンス結果がまとまった段階で論文発表予定。祖先ルシフェラーゼに関する成果は、2020年の Science Advances に報告した。</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（2020年度）

2021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・基礎工学部
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	20-415		
研究期間	2020年4月1日 ～ 2021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・基礎工学部生物工学科	准教授	宮川信一
	東京理科大学・基礎工学部生物工学科	博士研究員	赤司寛志
	東京理科大学・基礎工学部生物工学科	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>) とアカミミガメ (<i>Trachemys scripta</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。これらの動物では、胚発生ステージの約 10 日間 (温度感受期) 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。</p> <p>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 RNA-seq 解析を行っており、これまでの解析で、<i>de novo assembly</i> から DEG 解析、<i>gene ontology</i> 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ている。</p> <p>また、網羅的遺伝子解析の結果から、温度感受期の生殖腺において特定の代謝産物の蓄積量に雌雄差があることを見いだした。そのうちのひとつの代謝物の蓄積量を LC-MS 分析によって測定を行った。昨年度の実験で導き出された LC-MS の検出条件に基づき解析を行ったところ、温度感受期のオス生殖腺ではメスよりも高蓄積する傾向がみられた。今後は LC-MS を用いたさらなる解析を行う他、この代謝物が性決定に与える影響を調べるために代謝経路の阻害実験や過剰発現実験を計画している。</p>
<p>研究成果発表等の予定及び実績</p>	<p>クサガメの発生時系列 RNA-seq 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成果をまとめ、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（2020年度）

2021年4月26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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	昆虫の性行動・社会行動のゲノム基盤解析		
課題番号	20-416		
研究期間	2019年 4月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信秀治 職名 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>これまで、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からドラフトゲノム情報を得ており、アノテーションの充実を図っている。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>性的形質の進化遺伝モデルとしてシステムを構築中のオオツノコクヌストモドキでも、同様にChromiumとRNAseqを用いた良質のゲノム情報が得られており、これを活用した精緻な発現解析・機能解析を行っている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021年度にオオツノのトランスクリプトーム解析、2022年度までをメドにトゲオオハリアリとオオツノのゲノム情報を論文発表し、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（2020年度）

2021年4月6日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 上智大学理工学部

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-417		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信秀治		職名 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>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している。</p> <p>本研究では、タツノオトシゴのゲノム配列の決定を目指し、サンプルの調整を行った。今後は、ゲノム配列を決定し、遺伝子の転写調節領域やゲノムシンテニーを解析し、育児嚢の形成に関わる遺伝子の進化を考察する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>研究成果は、まとまり次第、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（2020 年度）

2021 年 4 月 14 日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 東洋大学生命科学部

氏名 梅原 三貴久

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-418		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 教授		
分担者（研 究会は参加 者） （※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付してく ださい。）	所属	職名	氏名
	東洋大学生命科学部	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>植物は切除が刺激となって再生に関わる遺伝子の発現や内生植物ホルモンの量が変動する。一般的に、組織培養で植物の再生を維持するには、オーキシシンやサイトカイニンの添加が必要であるが、薬用植物トコン (<i>Carapichea ipecacuanha</i> (Brot.) L. Andersson) では、節間切片を切り出して、ホルモンフリーの培地に置床するだけで不定芽形成を誘導できる。トコンの不定芽は節間切片の茎頂側に偏って形成される。また、節間切片の切除後、培養 1 週目に内生オーキシシンとサイトカイニン量が大きく増加する。しかし、このときに発現変動する遺伝子群は明らかになっていない。本実験では、トコンの培養 1 週目の節間切片の茎頂側および基部側で発現変動する遺伝子を網羅的に解析するために RNA-seq を行った。</p> <p>切り出した直後の節間切片とホルモンフリーの培地で 1 週間培養した節間切片を、それぞれ茎頂側と基部側の半分に切り分け、RNA 抽出を行い、illumina HiSeq 2500 を用いて paired-end で RNA-seq を行った。得られたリード (各約 700 万個) から Trinity による <i>de novo</i> アセンブリを行ってリファレンス配列を作成し、Bowtie 2 でリード配列をマッピングした。その後、eXpress および edgeR を用いて、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、および 1 週目の茎頂側と基部側で発現の差異解析およびクラスタリング解析を行った。MDS plot を作成し、遺伝子の発現量の類似性を調べた結果、0 週目の茎頂側と基部側、1 週目の茎頂側、1 週目の基部側の 3 つのグループに分類された。1 週目の茎頂側と基部側で 2 群間比較を行った結果、62491 個中 1558 個の遺伝子が発現変動していた (FDR < 0.01)。さらに遺伝子のアノテーションを BLAST で検索した結果、1 週目の節間切片の基部側よりも茎頂側で発現変動した遺伝子の中に、器官形成や植物ホルモンの関連遺伝子が多く含まれていた。今後、2 週目のサンプルあるいは不定芽形成促進物質を処理した時のデータを取得し、不定芽形成に関わる遺伝子の候補をさらに絞る。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>学会発表</p> <ul style="list-style-type: none"> ・岡崎夏鈴、小池衣茉莉、山口勝司、重信秀治、下村講一郎、梅原三貴久. 薬用植物トコンの不定芽形成時に発現変動する遺伝子の網羅的解析. 植物化学調節学会第 55 回大会 (オンライン 2020.11.15)
<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）

2021年4月29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

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-419		
研究期間	2020年 4月 1日 ～ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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
	金沢大学 学際科学実験セ ンター	助教	西山 智明
	九州オープンユニバーシテ イ	理事	矢原 徹一

(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、ゲノム情報と花卉組織で発現している遺伝子群を解析し、ハマカンゾウとキスゲの花形質(開花時間・花色・花香)の違いに関与する遺伝子を明らかにするために、共同利用研究を行った。</p> <p>次世代シーケンサーHiSeq2000 と HiSeq2500(Illumina)を用いたRNA-seq を行って、多くのサンプルからライブラリを作成し read データを得て、予備的に花色・花香の生合成や、時計遺伝子の候補配列を得ていたが、これまでゲノム情報がなかったため、遺伝子の解析が困難であった。</p> <p>そこで、2020 年度はゲノムシーケンスに着手し、生物機能情報分析室の協力のもと、ゲノム抽出・ライブラリ作成を実施し、Chromium(10x Genomics)によるゲノムシーケンス、アセンブルを行った。</p> <p>今後は、花形質(開花時間・花色・花香)に関する遺伝子の推定、ハマカンゾウとキスゲのゲノム配列にどのような違いがあるかなどを解析する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>学会発表 新田梢, 三木望, 村田晴紀, 矢原徹一「キスゲとハマカンゾウの比較から花時計の進化を探る」第 27 回日本時間生物学会シンポジウム「植物の生殖と時間生物学」2020 年 9 月 27 日オンライン開催</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）

2021年4月2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。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-420		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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
	関西学院大学 理工学部	日本学術振興会 PD	矢口 甫
	関西学院大学 理工学部	大学院生	森津 悠貴

記

(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 Co-expression 解析の結果、経験アリの脳において発現量が低下するパターンを示すクラスタが検出された。低下クラスタの GO 解析を行った結果、シナプスを介したシグナル伝達に関わる遺伝子群の発現量が経験区で低下していた。また、協力行動への関与が示唆されるドーパミンシグナル関連遺伝子の発現を調べた結果、DA 合成酵素である Tyrosine hydroxylase と DA 受容体の1種である DOP1-like receptor 1 の発現量が経験区で低下している傾向が見られた。DOP1-like receptor1 の発現局在を in-situ hybridization によって調べた結果、この受容体は脳の高次中枢であるキノコ体に広く発現していた。これらの結果からシジミチョウの蜜はキノコ体を中心としたアリ脳の活動性を低下させることで協力行動を誘発する可能性が示唆された。一方、これまで用いてきた de novo assembly の参照配列は複数の遺伝子が結合しているなどのエラーが見られ、アッセムブリの精度向上が課題となった。そこで、リファレンスシーケンスとして、アミメアリのドラフトゲノムの解析を進めた。来年度はこれまでに得られた RNAseq データをゲノム上にマッピングする作業を行い、より精度の高い発現動態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>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（2020年度）

2021年 4月 7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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-421		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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 環境資源科学研 究センター	学振特別研究員	佐藤 一輝
	東京大学大学院理学研究科	博士課程1年	飯野絵里香

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>線虫抵抗性台木植物 <i>Solanum torvum</i> をモデルとして病原性、及び、非病原性の線虫感染後のトランスクリプトーム解析を行い、免疫反応、及び感受性に関連した発現パターンを示す遺伝子群を同定した。これらの結果をまとめ <i>Frontiers in Plant Science</i> 誌に投稿した (Sato et al., 投稿中)。</p> <p>また、アレナリアネコブセンチュウの本州型、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。そこで、これら候補遺伝子を植物に発現させることにより、植物免疫に及ぼす影響を調べたところ、いくつかのエフェクターは免疫反応の一つである活性酸素生成を抑制することが分かった。さらに、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を探索し、いくつかのエフェクターについては興味深いターゲットタンパク質を得ることができた。今後は線虫エフェクターが植物のターゲット因子に及ぼす影響を解析することで、線虫病原性の分子機構を解明する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>以上の結果をまとめ <i>Frontiers in Plant Science</i> 誌に投稿し (Sato et al., 投稿中)、<i>bioRxiv</i> で公開した。</p> <p>Sato K, Uehara T, Holbein J, Sasaki-Sekimoto Y, Gan P, Bino T, Yamaguchi K, Ichihashi Y, Maki N, Shigenobu S, Ohta H, Franke RB, Siddique Shahid, Grundler FMW, Suzuki T, Kadota Y, Shirasu K, Transcriptomic analysis of resistant and susceptible responses in a new model root-knot nematode infection system using <i>Solanum torvum</i> and <i>Meloidogyne arenaria</i>, <i>bioRxiv</i> doi: https://doi.org/10.1101/2021.04.02.438176</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）

2021年 4月 28日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 総合科学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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-423		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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>2020年度は社会性を持つボタンヅルワタムシ属3種のゲノム配列に、RNAseq解析で得たトランスクリプトーム配列をマッピングし、兵隊階級で発現量が有意に増加・減少する遺伝子の探索を行い、ゲノム配列なしでの解析（de novo assembly）結果との比較を行った。また、集団ゲノミクスを行うべく、ボタンヅルワタムシの複数の地域集団においてサンプリングを行った。これらのサンプルのゲノムのリシーケンスを行い、集団ゲノム解析を行うことで、自然選択がはたらいたゲノム領域を同定することが期待される。</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（2020年度）

2021年4月12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	膵β細胞の恒常性維持に必要な転写後制御の解析		
課題番号	20-424		
研究期間	2020年4月1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

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>2020年度は、脾β細胞特異的にCCR4-NOT脱アデニル化酵素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/Cnot8</i>ダブル欠損マウス (<i>Cnot7/Cnot8</i>βKO) を作製した。<i>Cnot7/Cnot8</i>βKOマウスの脾島から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う予定であった。</p> <p>2021年度のCovid-19感染拡大による研究環境の変化(マウス室の動物技術員が出勤できない為、実験マウスの頭数を3分の1に縮小する必要があった。また海外からの試薬の納品の遅延があった。)により、当初計画していたマウス脾島を回収することができなかった。現在、実験マウスの頭数を回復し、脾島を回収しているところである。</p> <p>2021年度に、<i>Cnot7/Cnot8</i>欠損脾β細胞においてコントロール脾β細胞と比較して増減している遺伝子をRNA-seq解析により同定し、脾β細胞の恒常性維持に必要なCCR4-NOT複合体によりmRNA分解される遺伝子を同定する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年度の研究成果は2021年度の研究成果とまとめて、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（2020年度）

2020年5月13日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-425		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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
	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をカメムシに感染させ、これらの共生部位における遺伝子発現について RNAseq 解析を行った。また、共生 QTL 解析によって宿主-共生細菌間の親和性の決定因子など共生の分子基盤に迫るために、宿主の RADseq 解析を行った。現在、得られたデータを順次解析中であるが、共生細菌の定着や垂直伝達、宿主ないのでの機能など共生の分子基盤解明に大いに死すると期待している。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>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	主席研究員	深津 武馬
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	森山 実
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	ポスドク	小口 晃平
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	ポスドク	鈴木 隆太郎
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（2020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	2020年4月1日 ～ 2021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3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「盲囊」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活性を持つ活性酸素種（ROS）とその生成酵素である Duox 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 Duox が腸管免疫に関わることが知られているが、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、Duox は腸内免疫には重要な機能は果たしておらず、代わりに腸管を取り巻く気管の形成に重要であることが明らかとなった。Duox を RNAi 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、好気性である共生細菌が死滅することが分かった。また、Duox-RNAi の個体でも 40%酸素濃度下で飼育をすると共生細菌量が増加することが分かった。Duox-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、腸管細胞において酸素欠乏状況下に似た遺伝子発現が確認された。これまでの成果を統合し、共生の維持における Duox の機能について論文化を行った。</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 Duox 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発表することができた。</p> <p>Seonghan Jang, Peter Mergaert, Tsubasa Ohbayashi, Kota Ishigami, <u>Shuji Shigenobu</u>, Hideomi Itoh, <u>Yoshitomo Kikuchi</u>. (2021) Dual oxidase enables insect gut symbiosis by mediating respiratory network formation. <i>PNAS</i>, 118(10), e2020922118.</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）

2021年4月27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	20-427		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021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 Piwill 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リファレンスゲノム (Zebrafish GRCz11) には rRNA をコードする rDNA (45S pre-rRNA; 18S, 5.8S, 28S rRNA 遺伝子からなる) は数コピーしかアノテーションされておらず、通常 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、ゼブラフィッシュの rRNA を網羅的にシーケンスし、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) のゲノムリシーケンスデータをもとに 18S rRNA 遺伝子と 28S rRNA 遺伝子の中に保存性の高い共通配列を見つけ、この領域にプライマーをデザインした。近交系のゲノム DNA に対して PCR を行ったところ、予想される rDNA 断片の増幅を確認できた。そこで、この増幅産物を用いてライブラリーを調整し、PacBio Sequel でシーケンスした。その結果、多くのリードで Read quality 値が Q60 を示し、また、Read length では想定される 5,000 bp のものが数多く得られ、ゼブラフィッシュで知られているメジャーな 2 つの 45S-rDNA (45S-S、45S-U) にはリードがマッピングされた。しかし意外なことに、卵母細胞特異的な発現で注目されている 45S-M rDNA にマッピングされなかった。現在、この原因が実験的なエラーによるものかリファレンスの間違いによるものかを検証中である。</p> <p>今後、複数の pre-rRNA バリエントを区別できるバイオインフォマティクツールの開発を進め、多数存在すると考えられるゼブラフィッシュ rDNA の同定・分類を行うとともに、生殖細胞を含む各組織由来の RNA を用いたシーケンスを行い、各 rDNA の発現情報を踏まえたデータベースを組み上げる予定である。</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（2020年度）

2021年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者) 国立研究開発法人森林研究・整備機構
 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	スギの全ゲノム配列の解読		
課題番号	20-428		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信秀治 職名 教授		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	東京大学大学院新領域創成科学研究科	准教授	笠原雅弘
	東京大学大学院新領域創成科学研究科	特任研究員	藤野健
	森林総合研究所樹木分子遺伝研究領域	室長	伊原徳子
	森林総合研究所樹木分子遺伝研究領域	主任研究員	内山憲太郎
	森林総合研究所・樹木分子遺伝研究領域	研究員	伊津野彩子
	新潟大学大学院自然科学研究科	准教授	森口喜成
	新潟大学・自然科学系	特任助教	角井宏行

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>スギゲノムのシーケンシングは高分子量の DNA の抽出とライブラリーの作成方法が確立されたため、安定してシーケンシングライブラリーを生産できるようになった。この方法で、今年度は Oxford Nanopore Technologies 社 (ONT) および Pacific Biosciences 社 (PacBio) のシーケンサーによりゲノム配列の解読を行った。ONT については新型フローセル R10.3 を使用してスギのゲノムライブラリーを解読し特性評価を行った他、昨年度作成したライブラリーを PromethION により追加解読 (2 セル分で 154Gb) を行った。PacBio についてはロングリードでかつ高精度な HiFi ライブラリーを作成し Sequel II により 1 セル分のシーケンシングを行った。さらに Hi-C 法によるライブラリー作成については昨年度に得られた配列を検証しつつ Dovetail 社の新しいキットを使用したライブラリー作成を検討中である。擬似的なロングリードを生成する Chromium ライブラリーについてはアセンブラに入力が可能な最大のリード本数 (2.14 ギガリード) でアセンブルを行い、scaffold N50 で 2.72Mb となるアセンブリーを達成した。また ONT リードのアセンブルはアセンブラー (wtDBG2) により様々なパラメータでアセンブルを行い最適なアセンブル結果として、contig N50 で 2.48Mb を得た。さらに Illumina のリード (HiSeq X Ten 2 レーン分) を使用して Hypo で塩基補正を行い、第 0 版のドラフトゲノム配列 (draft0000) を構築した。今後は ONT、Chromium、Hi-C および PacBio のリードを統合して染色体レベルでのアセンブルを目指す一方で、今年度に構築した draft0000 を活用してリシーケンシングやアノテーション、遺伝子同定などを行っていく予定である。また今年度はスギの RNA-Seq のデータから約 5 万個からなる遺伝子セット (Unigene) を構築し論文とデータベースを公開し、雄性不稔の候補遺伝子の一つ (<i>MSI</i>) を同定してその遺伝的多様性を解析してプレスリリースを行った。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p><i>MSI</i> とは別の雄性不稔遺伝子について候補遺伝子が同定されたため、機能解析を行い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（2020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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-429		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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と非ヒト霊長類死後脳におけるシングルセルアイソフォーム解析を行う予定でいたが、新型コロナウイルスの世界的蔓延に伴う所属機関（自然科学研究機構）および関係機関（新潟大学脳研究所，京都大学霊長類研究所）における感染拡大防止措置等による大幅な研究制限のため、ヒトと非ヒト霊長類の死後脳試料の収集が達成できなかった。そのため、共同利用研究に関して進展の遅れが見られる。しかし、マウスやマーモセットの脳試料を用いたシングルセルトランスクリプトーム・エピゲノム解析に関する実験と解析手法の最適化，解析対象細胞核およびサンプル数のハイスループット化に関する技術開発を進めることができたため，2021年度には，2020年度に開発した手法をヒトと非ヒト霊長類に用いる予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2019年度に共同利用研究において得られたヒトと類人猿の比較解析によるヒト特異的アイソフォームの同定に関する論文をまとめ発表を行う予定である。また，霊長類ゲノム研究として，ニホンザルやテナガザルの新規ゲノム解析に関する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（2020年度）

2021年 4月 23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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-430		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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・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

(裏面に続く)

<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こるマウスの卵管を実験系とし、平面内細胞極性の恒常性を維持する分子基盤の解明を目指す。本年度は single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) 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、scRNA-seq 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。本年度は実験に必要なマウス系統の導入と交配を進めた。今後は得られた分化過程の細胞の遺伝子の発現プロファイルをもとに、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（2020年度）

2021年 4月 23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 新美 輝幸

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-431		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 教授
分担者（研 究会参加 者） （※人数が多 い場合は別紙 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一对の器官で見られる左右非対称性などにも着目する。</p> <p>研究材料には、既にゲノムを解読し、角や斑紋形成に関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、祖先的昆虫の代表としてのマダラシミなどを用いた。次世代シーケンサーを用いた網羅的な解析により、上記現象に関与する遺伝子群を同定するための実験を行った。</p> <p>カブトムシについては、これまでの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11.4 Mbと非常に良好な結果を得ている。本年度は、重信教授との共同研究により、論文化するために必要な解析を進めた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>カブトムシのゲノムに関する論文はできる限り速く投稿できるように準備を進めている。</p> <p>また、その他のプロジェクトに関しては、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	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（2020年度）

2021年6月8日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 基礎生物学研究所生殖細胞研究
部門

氏名 吉田 松生

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
	研究課題	胎仔から成体に至るマウス生殖細胞の系譜ダイナミクスの解析	
課題番号	20-432		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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
	基生研・生殖細胞研究部門	助教	中川 俊徳
	基生研・生殖細胞研究部門	特別研究員	池田 達郎

記

(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、マウスの発生過程において胎仔に生じた始原生殖細胞 (PGC) の子孫細胞 (クローン) がどのように成体の生殖細胞に寄与するかを解明するため、PGC を非常に多様な DNA 配列 (バーコード) で個別に標識し、様々な発生過程で生殖細胞に含まれるバーコードを次世代シーケンサにより解析することで、PGC クローン分布の時間変化を解析している</p> <p>2020 年度は特に胎仔の生殖巣に焦点を絞ってバーコードの分布を計測し、生殖巣に入った PGC クローンのほとんどが成体まで維持されること、一方で、クローン間で寄与の度合いに差が生じることが示唆された。今後はデータ数を増やして統計評価するとともに、得られた結果を別の角度から検証していきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>十分なデータが得られた段階で、成果を学術論文にまとめ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（2020年度）

2021年4月28日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 東京慈恵会医科大学・臨床医学研究所

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-433		
研究期間	2020年4月1日～2021年3月31日		
所内対応者	氏名 重信秀治 職名 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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>大脳皮質の抑制細胞サブタイプの一つであるソマトスタチン陽性細胞が蛍光たんぱく質で標識されているトランスジェニックマウスから生きた大脳皮質標本を作製、蛍光標識された細胞から細胞内記録（パッチクランプ法）を行い、その後、陰圧をかけることによってサイトゾルを吸引して RNA 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 (慈恵医大・森島 担当)、その中で、精度のよい cDNA を 60 個選び、生物情報機能分析室にて cDNA のライブラリー化を行い、次世代シーケンサーによる解析が終了した (基生研・重信先生 担当)。パッチクランプ記録時に使用する電極内液にバイオサイチン (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、一晚固定し、ABC 法と DAB を用いて細胞内染色を行い、形態解析も行った。細胞内記録時にはそれぞれの神経細胞がもつ独自の活動電位パターンを計測し、パターン解析を慈恵医大、森島が担当する一方で、名大・加藤先生にも異なる方法にて解析し、すでに得られている 10 個分の遺伝子発現解析と関連させて解析法を検討した。現在、cDNA を 60 個分の遺伝子発現解析を行っている。一部の神経細胞について、シーケンサーによる読み直しを検討しているが、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を目指したい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>大脳皮質の抑制性細胞サブタイプの前頭皮質神経回路内での役割について以下の通りシンポジウム発表した。</p> <p>投射先に依存した前頭皮質神経回路について Projection dependent circuits in layer 5 of the rat frontal cortex. 第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会／ 第 98 回日本生理学会大会 SY33-3 2021 年 3 月 30 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（ 2020 年度）

2021年 4月 30日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 愛知県医療療育総合センター

氏名 高木 豪

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	Homeostatic plasticity の制御機構の解明		
課題番号	20-435		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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>Homeostatic plasticity の一つの Synaptic scaling の制御機構を明らかにするために、Synaptic scaling に異常を示す遺伝子変異マウスを用いた解析を行っている。本年度は、本遺伝子変異マウスにおいて Synaptic scaling に関連する遺伝子発現変化を明らかにするために RNA-seq の解析を行った。具体的には N=4 の条件で RNA-seq 用のライブラリー調製を行い、次世代シーケンサーによる解析を行った。</p> <p>来年度は新たに ChIP-seq の解析を行い、本年度の RNA-seq の結果と統合した解析を行う予定である。</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（2020年度）

2021年4月30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。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施
-------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

記

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	20-436		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 内山 郁夫		職名 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	教授	重信 秀治
	弘前大学	大学院生	成澤 勇斗
	弘前大学	大学院生	多田 玲美
	弘前大学	大学院生	小西 歩実
	弘前大学	大学院生	横山 響
	弘前大学	学部学生	太田 海斗
	弘前大学	学部学生	川越 智貴
	弘前大学	学部学生	奈良 咲

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>前年度までにネツタイツメガエルを材料にして、再生能力が高い幼生と再生能力が低い成体の四肢を対象にして RNA-seq を行い、幼生の四肢再生において特異的に発現量が高い遺伝子群 (DEG) をリストアップした。2020年度にこれら遺伝子について in situ hybridization により発現解析を行い、やはり幼生の肢芽で発現量が高いことを示すデータを得た。またイベリアトゲイモリで以前に報告されている RNA-seq のデータと照らし合わせることで、これら遺伝子のいくつかはイモリの四肢再生においても四肢切断後に発現量が増加することを見つけた。今後はこれら遺伝子が発現する組織・領域をより詳細に調べ、DEG の発現パターンで見られる一般的な傾向を明らかにする。</p> <p>これとは別に前年度までにアフリカツメガエルを材料にして四肢再生と皮膚再生を対象にして RNA-seq を行っていたが、2020年度は edgeR による解析を行って四肢再生と皮膚再生の両方で共通して発現量が増加する遺伝子群をリストアップした。さらに GO 解析を行いこれら遺伝子群でみられる特徴を探索した。またこれまでの研究では四肢再生と皮膚再生で共通して発現が活性化する再生マーカーとして prrx1(prx1)遺伝子の発現パターンに注目していたが、prrx1よりも顕著に四肢再生と皮膚再生の両方で共通して発現量増加がみられる遺伝子が多数存在することが edgeR の結果から示唆された。今後はこれら遺伝子の再生における発現パターンを in situ hybridization 等で解析する予定である。</p> <p>なお、コロナウイルスの感染防止の観点から2020年度は来訪せずにオンライン会議 (計5回) でデータ解析に関する打ち合わせを行い、研究を進めた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究の成果は2021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>

備考	<p>本研究の成果に関連した招待講演を以下のように行った</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 2020年9月4日 日本動物学会 第91回大会（オンライン）シンポジウム - テクノロジーが切り開く「シン・再生研究」 - <p>演題「ツメガエルの四肢再生から探る、器官の再生能力の差を生む原因 -両生類の再生研究の近代化に向けての試行錯誤-」 演者 <u>横山 仁</u></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）

2021 年 4 月 26 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施
-------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

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	20-437		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 内山郁夫	職名 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>今年度は引き続き、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試みた。</p> <p>一昨年度に、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、<u>高等生物</u>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なように行われたかを明らかにできると考えている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>論文発表の方向性について議論し、これまでに得られた成果に基づいて、今後論文発表を行うよう準備を進める予定である。</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（2020年度）

2021年 4月 19日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 京都大学 大学院農学研究科

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-438		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 内山 郁夫		職名 准教授
分担者（研 究会は参加 者） （※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付して ください。）	所属	職名	氏名
	兵庫県立大学 大学院生命 理学研究科	准教授	菓子野 康浩
	京都大学 大学院生命科学 研究科	大学院生	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。昨年度までに、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。今年度は、詳細な分子系統解析から、それら FCP を新たに6グループに分類し直した。そしてその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 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、論文出版を行なった (Nagao et al. <i>Nat Commun.</i> 11: 2481, 2020)。現在、様々な光環境条件下の細胞に関する RNA-Seq 解析により、ツノケイソウ の集光機能調節に重要な FCP 遺伝子の同定を進めている。今後は、ツノケイソウゲノムデータベースのさらなる拡充を進める。その上で、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進める。</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>	<p>報告者である伊福は、2021 年度 4 月より現所属に異動した。 (前所属：京都大学 大学院生命科学研究科)</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3年度）

令和3年4月28日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 水産技術研究所

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	トランスクリプトーム解析による有害赤潮プランクトンの光および栄養塩に対する応答解析		
課題番号	20-439		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 内山 郁夫 職名 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
	埼玉大学	教授	西山 佳孝
	埼玉大学	研究員	湯浅 光貴
	立命館大学	講師	高橋 文雄

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>異なる光（弱光、通常光、強光）や栄養塩（完全培地、N 無添加培地、P 無添加培地）の条件下で培養した有害赤潮渦鞭毛藻 <i>Karenia mikimotoi</i> について、RNA-seq を行った。</p> <p>通常光と強光間で発現量に有意差のある遺伝子は少なかったが、通常光や強光と弱光間では、数千の遺伝子の発現量に変動した。弱光と比べて、通常光や強光下では、光合成などに関連する遺伝子が上方発現した。弱光下では分子シャペロンや異化などに関連する遺伝子が上方発現した。また、光強度ごとに発現量が変化する光合成関連タンパク質遺伝子や光受容体遺伝子等も特定した。</p> <p>一方で、数千の遺伝子の発現量が、完全培地（コントロール）と比べて N 無添加培地（N 欠）あるいは P 無添加培地（P 欠）のカレニア細胞において、有意に上下することが分かった。コントロールと比べて、栄養塩の取り込みや一次代謝に関連する一部の遺伝子の発現量が N 欠あるいは P 欠で変動していた。N 欠では、硝酸、亜硝酸トランスポーター、硝酸還元酵素などの遺伝子の発現量が上昇し、アンモニウムイオンのトランスポーターが低下した。P 欠では、アルカリフォスファターゼなどの遺伝子の発現量が上昇し、アシッドフォスファターゼの遺伝子の発現量が低下した。その他、クロロフィル生合成に関連する遺伝子の多くが N 欠で上昇することも分かった。</p> <p>本研究で見出された遺伝子やそこから翻訳されるタンパク質の発現量が <i>K. mikimotoi</i> の赤潮動態予測マーカーとなることが期待される。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>論文投稿準備中である。</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（2020年度）

2021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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-440		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 内山 郁夫 職名 准教授		
分担者（研 究会は参加 者） （※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付してく ださい。）	所属	職名	氏名
	国立研究開発法人水産研究・ 教育機構 水産技術研究所	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>これまでに、渦鞭毛藻 <i>Heterocapsa circularisquama</i> (以降、ヘテロカプサ) の強毒株と弱毒株の全5株を対象としてトランスクリプトーム解析を進め、毒素の解明に繋がる基礎的データの集積に努めてきた。しかしながら、本年度は新型コロナウイルスの影響により、予定していた研究およびトランスクリプトーム解析を十分に進めることができなかつたため、本研究課題を2021年度にも継続して申請することとし、所内対応者および分担者とメールで連絡を取りつつ必要な準備を進めた。2021年度には栄養塩濃度(窒素やリンなど)の異なる培地で培養したヘテロカプサ細胞を用いたトランスクリプトーム解析を計画している。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(ポスター)> 山崎 康裕, 和田 佳大, 紫加田 知幸: 簡易毒性試験による渦鞭毛藻 <i>Heterocapsa circularisquama</i> 株間における毒性の比較. 令和2年度日本水産学会中国・四国支部例会, オンライン開催(2021)</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（2020年度）

2021年 4月 27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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-441		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 内山郁夫		職名 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	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>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 2種4株の DNA サンプルを元に、2条件で PacBio sequencer 用ライブラリを調製した。工程の違いとライブラリ作製効率から、初発 DNA サンプルとして高品質なものを用いる必要があることがわかった。 ・ 調製したライブラリのうち、6サンプルを PacBio Sequel により解析し、ミスマッチを検出した。その結果、一部サンプルで予想よりも遥かに多いミスマッチが検出され、検出されたミスマッチの種類も予想されるスペクトルと乖離していた。また、ライブラリ調製工程の違いにより、検出されるミスマッチの数に違いがあった。 ・ 検出されたミスマッチが、細胞内で生じたものかについて、手がかりを得るために、解析時に同時に得られるカイネティクス情報を用いて DNA 鎖の状態を解析した。この結果、ミスマッチが検出された DNA 分子ではミスマッチが検出されなかった DNA 分子と比べて、状態の異なる分子の割合が多いことが明らかとなった。 <p>2021 年度も共同利用研究として本研究を継続する。これまでに得られたデータを精査し、細胞内で生じたミスマッチの検出方法の確立を目指す。</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（2020年度）

2021年4月2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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-442		
研究期間	2020年 6月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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	技術職員	山口 勝司
	玉川大学	大学院修士1年	栗原 雄太

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>[成果の概要]</p> <p>アリ類の系統では有翅女王から無翅女王への進化が独立に複数回起こってきた。例えば日本全国の森林帯に生息するカドフシアリ <i>Myrmecina nipponica</i> では、温暖な地域に分布するコロニーが有翅女王とワーカーで構成されるのに対し、冷涼な高緯度地域や高山域では無翅女王が有翅女王に置き換わったコロニーが出現する。こうした女王表現型の進化はどのようなゲノム配列の変化によって引き起こされたのだろうか。本研究では女王表現型と関連するゲノム領域の特定を目的とし、これまでに、国内の4つの地域から採集されたカドフシアリの有翅女王と無翅女王、合計96個体を対象とした ddRAD-seq 及び GWAS を実施してきた。本年度はゲノムアノテーションを行い、得られた関連領域に含まれる遺伝子をリスト化した。続いて Outlier 解析を行った結果、自然選択を受けた SNP が集中する領域が見つかった。これは上記の関連領域と一致した。以上の結果から、少数の遺伝子座が自然選択を受けることで本種女王の表現型進化に寄与したと示唆される。</p> <p>[今後の展望]</p> <p>今後は有翅女王と無翅女王のトランスクリプトームを解析し、上記の関連領域内あるいはその近傍の遺伝子発現を比較する。また、それらの遺伝子配列を比較し、女王表現型進化の過程で自然選択を受けた遺伝子を特定する。</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、成果の一部を国際誌へ投稿するため、準備している。</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（2020年度）

2021年 4月 12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
 氏名 小林一三

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-443		
研究期間	2020年 6月 1日 ~ 2020年 3月 31日		
所内対応者	氏名 内山郁夫 職名 准教授		
分担者（研 究会参加 者） (※人数が多 い場合は別紙 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
	感染症研究所	室長	矢原 耕史
	千葉大学	助教	福世 真樹

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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>1. インフォマティクス</p> <p>(i) HpGenomeProject で得られたピロリ菌の Pacbio によって得られたゲノム配列、(ii) 小林研究室ピロリ菌コレクション Pacbio 解読株、(iii) 公表データベース中の Pacbio メチロームについて、5mC を作る DNA メチル化酵素遺伝子の配列を探し出し、Target Recognition Domain を切り出して、系統樹を作成し、認識配列と対応させた。これから認識配列未知らしい遺伝子クラスターを同定した。今後、これらの株について、NEBiolabs が 5mC メチロームを解読する。私たちは、その結果を取り入れて、DNA メチル化酵素が認識配列を変換する進化のしくみを調べる。</p> <p>(ii) 中国 CDC、小林研究室などによる東アジア各地からのピロリ菌のゲノム配列を、系統によって分割した。各分集団に高度に特異的な SNP の多くは、宿主相互作用に関与するタンパクの機能を左右するアミノ酸を変えていた。宿主相互作用が集団の分化をもたらしたと考えられる。</p> <p>(iii) 日本とベトナムからのピロリ菌について、胃癌と十二指腸潰瘍の疾患特異性に関わる SNP を GWAS で発見し、タンパク構造にマップすることによってそれらの作用機構を推測した。新しいがんタンパク候補が得られた。</p> <p>(iv) ATGC だけでなく、それらのメチル化状態(m4C, m6A)及び後者の相補塩基を含めた 8 文字によってメチロームを表記する手続きを実装し、多数のピロリ菌株のメチロームを比較し、分子進化におけるこの 8 塩基間の変換行列を求めた。その法則性を解明した。</p> <p>2. 実験。</p> <p>家族内感染株でのピロリ菌のメチロームの進化を追跡した。メチル化酵素遺伝子の再編によるメチル化モチーフ配列の変換を跡付けた。トランスクリプトームの変換を明らかにした。今後、5mC メチロームも解読し (NEBiolabs との共同研究)、全メチロームを明らかにする。メチロームの変換とトランスクリプトーム変換を関係づける。</p> <p>3. 会合</p> <p>2021/01/23 に、内山がホストとなり、Zoom で打ち合わせを行った。参加者は次の通り。内山郁夫、小林一三、赤田純子・山岡吉生 (大分大)、大崎敬子 (杏林大)、柴山恵吾 (感染研)、津川 仁 (慶応大)、花田克浩 (大分大)、福世真樹、吉田伸弥 (ソフトバンク)。</p>
-----------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>論文：</p> <p>1. Vo Phuoc Tuan, Koji Yahara, Ho Dang Quy Dung, Tran Thanh Binh, Pham Huu Tung, Tran Dinh Tri, Ngo Phuong Minh Thuan, Vu Van Khien, Tran Thi Huyen Trang, Bui Hoang Phuc, Evariste Tshibangu-Kabamba, Takashi Matsumoto, Junko Akada, Rumiko Suzuki, Tadayoshi Okimoto, Masaaki Kodama, Kazunari Murakami, Hirokazu Yano, Masaki Fukuyo, Noriko Takahashi, Mototsugu Kato, Shin Nishiumi, Takeshi Azuma, Yoshitoshi Ogura, Tetsuya Hayashi, Atsushi Toyoda, Ichizo Kobayashi, Yoshio Yamaoka. Genome-wide association study of gastric cancer- and duodenal ulcer-derived <i>Helicobacter pylori</i> strains reveals discriminatory amino acid differences and novel oncoprotein candidates. bioRxiv 2021.03.15.435401; doi: https://doi.org/10.1101/2021.03.15.435401</p> <p>2. Yuanhai You, Kaisa Thorell, Lihua He, Koji Yahara, Naoki Osada, Yoshio Yamaoka, Jeong-Heon Cha, Kazunari Murakami, Yukako Katsura TEAMHp, Ichizo Kobayashi Daniel Falush, Jianzhong Zhang. Genomic differentiation of <i>Helicobacter pylori</i> in East Asia reveals sub-regional adaptive evolution. Submitted.</p>
<p>備考</p>	<p>学会発表：</p> <p>1. 2020/12/4 に、日本分子生物学会年会で次のワークショップを組織し、その一部として成果を発表した。</p> <p>3AW-02: Bacterial population genomics: impacts of thousands of (epi)genomes within a species on analysis of the microbiome-human ecosystem.</p> <p>Organizers: Constanza Camargo (NCI, HpGP co-PI), Ichizo Kobayashi.</p> <p>Speakers: Rumiko Suzuki (NIG), Yu Yuanhai (China CDC), Daniel Falush (Institut Pasteur, Shanghai), Ichizo Kobayashi, Masaki Fukuyo, Shinya Yoshida (Softbank).</p> <p>2. 2021/03/25 に、日本細菌学会大会で次のシンポジウムを組織し、その一部として成果を発表した。</p> <p>S8: Bacterial methylomics and metaepigenomics.</p> <p>Organizers: Ichizo Kobayashi, Rich J. Roberts (NEBiolabs), Jonus Korlach (Pacbio).</p> <p>Speakers: Ichizo Kobayashi, Rich J. Roberts, Jonus Korlach, Michael P. Jennings (Griffith Univ.), Masaki Fukuyo, Satoshi Hiraoka (JAMSTEC).</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5月17日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 理化学研究所環境資源科学
研究センター

氏名 白須 賢

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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〔随時〕 <input type="checkbox"/> 統合イメージング共同利用研究 <input type="checkbox"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
	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	20-444		
研究期間	2020年 6月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治	職名 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	教授	長谷部 光泰
	金沢大学	助教	西山 智明

記

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ゲノム解読をおこなった放線菌が植物との共生時に生産する抗菌活性物質の生合成遺伝子を同定した。この遺伝子を恒常的に発現する菌株、および欠損株を作成し、抗菌活性物質のピークを同定した。大量培養系を確立し、抗菌活性物質の質量を同定した。現在、NMRで構造決定をおこなっている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>抗菌活性物質の構造が同定でき次第、論文投稿の予定</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 (2020 年度)

R3年 4月 28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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-445		
研究期間	2020 年 6 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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。前年度までに、Chromium を用いたゲノムシーケンスを行い、ドラフトゲノムを構築したが、N50 が 57kb と小さな値に留まった。この原因の 1 つとして、ゲノム DNA の分解が考えられた。</p> <p>本年度は、クサイロアオガイのゲノムの再抽出を行い、より高品質のゲノム DNA の得ることができた。この DNA を用いて、(1) クロミウムライブラリーの作成とシーケンス、および (2) GridON を用いたロングリードシーケンスを行い、それぞれアセンブルを行なった。クロミウムライブラリーについては、N50 が最大でも 62kb に留まった。また、Busco スコアも、complete は 90% 近くあるものの、重複が多い(16% >)という特徴が見られた。一方で、(2) GridON によるシーケンスおよび Wtdbg2 によるアセンブルを行なった結果、N50 が 300kb 程度になるまで繋がった。Busco による評価でも、重複が 2% 程度に抑えられていた。しかし、complete は 80% ほどで、改善の余地が見られた。</p> <p>今後、ロングリードのベース補正等を行う、必要に応じて追加のシーケンスを行うといったアプローチでアセンブルを改善していく。また、これまでゲノムサイズが不明であるがゆえにアセンブルのクオリティを判断するのが困難であった。この点を解決するため、フローサイトメトリーによるゲノムサイズ推定を行なっていく予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>R3 年度の日本動物学会、The 2nd Asia Evo、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。</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）

2021年4月27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 小林 一也

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	プラナリア無性個体の「性」への貢献:幹細胞の変異が果たして多様性を産むか?		
課題番号	20-446		
研究期間	2020年 6月 12日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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	所長	阿形 清和
	慶應義塾大学理工学部	准教授	松本 緑
	慶應義塾大学自然科学教育研究センター	助教	古川 亮平
	弘前大学農学生命科学部	機関研究員	熊谷 信是

(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、<i>Dugesia ryukyuensis</i> クローン集団 (OH 株) の有性化系/交配系を用いて、プラナリアが無性世代にネオブラストに蓄積する SNP 変異や indel 変異が有性化後の有性生殖で多様性の創出に寄与しているかを検証することで、無性世代での多様性獲得という新概念を提案することを目的とする。プラナリアではネオブラストを持つにもかかわらず、有性個体になると生殖幹細胞を誘導する。一見矛盾する生物現象に見えるが、研究代表者は有性化過程で決定された生殖幹細胞はネオブラストから cell turn over で追加補充されることなく、かつ、配偶子形成の「品質管理」のために特化した役割を担っていると予想している。つまり、一度、有性世代に入ると無性世代とは逆に SNP/indel 変異によるネオブラストの多様性は子孫には反映されないと考えているので、同時にこの仮説も検証する。</p> <p>これらの仮説の検証のためには、<i>D. ryukyuensis</i> のゲノム情報を必要とする。<i>D. ryukyuensis</i> OH 株は 3 倍体であるが変則的な減数分裂を行い、自家交雑で 3 倍体個体と 2 倍体個体を産む (Kobayashi et al., Chromosoma, 2008; Chinone et al., Chromosoma, 2014)。これまで、研究分担者である阿形博士と所内対応者である重信博士が、同じく研究分担者である松本博士が確立した有性化 OH 個体を交配させて得た 2 倍体の無性 F1 株と 3 倍体である OH 株を材料にして、次世代シーケンサー Illumina HiSeq で約 200bp の短いリード情報を用いて K-mer 解析を行った。その結果、2 倍体無性 F1 株がゲノム解読に相当であることがわかった (ゲノムサイズは約 1.26Gbp と推定)。</p> <p><i>D. ryukyuensis</i> のゲノム解読のために、続いて次世代シーケンサー PacBio を用いたシーケンス、そしてそれに伴う de novo アセンブリを行う必要がある。現在、PacBio シーケンスに用いるゲノムの抽出法確立に取り組んでいる段階である。ゲノム解読が完了した後は、以下の実験を行う予定である。</p> <p>無性 F1 株の一部に有性化をかけて有性化 F1 株を作成する。SNP/indel 変異の効率を上げるために、X 線照射を行う。無性 F1 株と有性化 F1 株をそれぞれ 2 群に分けて、X 線照射グループと非照射グループを作り、これらの 4 グループを 10 ヶ月維持する。この間、無性 F1 株の 2 群は自然状態での無性生殖だけでなく、切断/再生を行い人為的に無性生殖の世代を付加する。10 ヶ月後に無性 F1 株の 2 群を実験的に有性化する。すべてが有性化個体となった 4 グループ毎に交配を行い、それぞれの F2 を得る。セルソータを用いてネオブラストと体細胞を分離する技術が研究分担者の阿形博士によって確立されている (Hayashi et al., <i>Dev. Growth Differ.</i>, 2006) ので、4 グループの F2 ネオブラストを単離し、ゲノムシーケンスを行う。無性 F1 株のゲノム情報をもとに、4 グループの F2 ネオブラストでの SNP/indel 解析で、上述の仮説を検証する。</p>
-----------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

研究成果発表等の予定	具体的な成果がまだないので、本研究は2021年度に継続申請し、採択されている。現在のところ、研究成果発表の予定はない。
備考	

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（令和 2 年度）

2021 年 4 月 5 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 得津 隆太郎

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	緑藻の光防御反応から見出した概日リズム形成の分子機構の解明		
課題番号	20-447		
研究期間	2020 年 7 月 15 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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>当該年度は実質的に研究を実施しておらず、研究成果等はありません。</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（2020年度）

2021年 04月 07日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属

九州工業大学大学院

情報工学研究員生命科学情報工学研究系

氏名

飯田緑

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	アンプリコン解析用ソフトウェア (CLiCKAR: click to analyze pooled amplicon sequence data using R) の大規模計算機システムでの運用		
課題番号	20-448		
研究期間	2019年 07月 15日 ~ 2021年 03月 31日		
所内対応者	氏名 内山 郁夫 職名 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	JSPS 特別研究員	鈴木 美有紀
	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	技術職員	西出 浩世

記

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>【目的】 本研究の目的は、広島大学と共同で研究開発したアンプリコン解析用 web ツール CLiCKAR:CLiCK (CRISPR) + Amplicon-seq + R)の大規模計算機システム(生物情報解析システム)における持続的な運営である。</p> <p>【方法】 本研究課題では、アンプリコン解析用 web ツールである CLiCKAR の生物情報解析システムへの持続的な運営のために以下の2つの行程を計画した。</p> <p>1. 管理(担当:九州工業大学 飯田 緑[提案代表者]/広島大学 鈴木 賢一 [共同利用研究者]) これまでに獲得した CLiCKAR のユーザーおよび新規のユーザーに対して、安定した解析ツールを提供する。このためには、システムアップデートが必要である。システムアップデートでは、ユーザーからのバグ報告や 新規要望への対応とプログラムの修正・変更を行う。</p> <p>2. 運営(担当:九州工業大学 飯田 緑[提案代表者]/ 基礎生物学研究所 内山郁夫 [所内対応者]) 現在、CLiCKAR は生物情報解析システムの Web サーバー上での運用となっているが、将来的に大規模なデータとマルチユーザーへ対応するため、一部の計算は計算サーバーへの移行を予定している。システム側の再設定を必要とする場合に提案代表者が基礎生物学研究所に来所し、プログラムとしてどのような変更が必要なのか所内対応者(内山郁夫先生)と打ち合せを行う。</p> <p>【結果】 今年度、CLiCKAR は新たに3報の引用がされた。これは、CLiCKAR を通じて生物情報解析システムの利用者が増加していることを示している。 また、今年度は利用者から得られたフィードバックをもとに、バグの修正を行った。さらに、利用者からの要望に答える形で、入力された全ての遺伝子を一気に解析できるバッチモードを実装している。これについては現在、公開準備中である。</p> <p>【来年度の計画・目標】 来年度は現在開発中のバッチモードの公開を目指す。また、ユーザーからの新たな機能の要望があれば追加する予定である。これにより、さらに多くのユーザーを獲得しながら、既存のユーザーに対しても操作性や利便性の向上を図る。</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（2020年度）

2021年4月28日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 名古屋大学大学院生命農学研究科

氏名 鈴木孝幸

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施
-------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

記

研究課題	ATAC-seq とシマヘビのゲノム解読による種に固有の仙椎の位置決定機構の解明		
課題番号	20-449		
研究期間	2020 年 9 月 9 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 重信秀治		職名 教授
分担者（研究会は参加者） （※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。）	所属	職名	氏名
	名古屋大学大学院生命農学研究科	准教授	鈴木孝幸
	名古屋大学大学院生命農学研究科	修士2年	佐野真亜子
	名古屋大学農学部	学部4年	野田隼世

（裏面に続く）

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>脊椎動物は種によって後肢の位置が異なる。種間で後肢の位置の多様性を生み出す分子メカニズムを解明するために、我々は後肢の位置決定に必須である <i>Gdf11</i> に着目した。脊椎動物の初期胚において、<i>Gdf11</i> が発現を開始する体節期が早い種ほど後肢芽までの体節数は多くなることが判明している。すなわち <i>Gdf11</i> の発現開始タイミングを調節しているメカニズムを解明出来れば、後肢の位置決定メカニズムが分子レベルで明らかに出来ることが期待される。そこで、<i>Gdf11</i> の発現を制御するメカニズムを解明するためにエンハンサーに着目した。エンハンサー領域探索のために、非モデル動物にも利用しやすい ATAC-seq を行いた。ATAC-seq のサンプルにはマウス、ニワトリ、スッポン、シマヘビの <i>Gdf11</i> 発現開始前と後の未分節中胚葉組織と体節組織を用いた。この ATAC-seq データをマッピングするために、未だにゲノム情報がないシマヘビの全ゲノムを解読するために、統合ゲノミクス共同利用研究をお願いした。名古屋大学からシマヘビ胚より単離したシマヘビの細胞を冷凍した状態で基礎生物学研究所に郵送し、シマヘビゲノム解読のための NGS のライブラリーの作製をして頂いた。シマヘビのゲノムは他のヘビの解析から 3 G 以下の 2 倍体であることが予想されたため、10xGenomics 社の Chromium を用いてシーケンスを読んで頂いた。得られた配列をアセンブルした結果、N50 が 30kb を越える良質な first genome draft を得ることが出来た。</p> <p>今後は、CDS の情報を得るためにシマヘビの RNA-seq を行い、得られたシマヘビゲノムに遺伝子情報を付加する予定である。この後、ATAC-seq のデータをマッピングしていきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>シマヘビゲノム解読後論文出版予定</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（2020年度）

2021年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 東北大学大学院生命科学研究科

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	メダカ全脳シングルセルトランスクリプトームリファレンスアトラス作成		
課題番号	20-450		
研究期間	2020年 10月 15日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治		職名 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	助教	安齋 賢
	筑波大学・生命環境系下田臨海実験所	助教	堀江 健生

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本共同利用では社会行動実験系のレパトリーが豊富であり、哺乳類と比較して小型でニューロン数が少ない小型魚類（メダカ）を研究対象にメダカ脳 scRNA-seq アトラスを作成し、リファレンスデータを得ることを目的にする。本年度はメダカ脳を用いた予備実験を行なって、摘出した脳をプロテアーゼ処理及び物理的な攪拌の条件を検討して、メダカ脳を1細胞レベルで分離できることを確認した（細胞生存率 90%以上）。さらに実験全体のデザインや細胞分離やライブラリー作成についてのプロトコルを神経系の scRNA-seq で実績（Horie et al., Nature 2018）を上げている筑波大学の堀江健生助教（分担者）と作成した。これまでは、メダカ成体の「全脳」から 6,000-12,000 細胞を回収して解析を行い、細胞当たり平均で 22,500 リード/cell, 1,300 遺伝子/cell を同定する予定であった。しかし、特定脳領域を解剖により分離してから、scRNA-seq したほうが、一つのサブタイプに対して十分な細胞数を対象に解析できる利点があると判断した。そこで2021年は解剖摘出が可能な終脳背側・腹側、視蓋に着目し、各組織を用いて scRNA-seq を実施する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021 年度に実施する scRNA-seq の成果をまとめて、2022 年度中に論文として出版することを目指す。また代表者は NBRP Medaka の運営委員の一人であり、メダカ研究者コミュニティと協力して基礎生物学研究所からメダカ scRNA-seq アトラスとプロトコルを公開する予定である。さらに論文出版後には当該技術に関する技術的サポートも提供していきたいと考えている。</p>
<p>備考</p>	<p>2020 年 10 月に当該共同利用を開始したことと、所属大学のコロナ感染拡大防止（BCP）のために仙台（東北大）、下田（筑波大）からの東岡崎（基生研）への出張予定を立てることができなかったため、東北大での条件検討とオンラインでの会議を行った。</p>

※公開できない内容は省略し、簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年4月7日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 大阪府立大学生命環境科学研究科

氏名 青木 考

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
	研究課題	茎寄生植物ネナシカズラの特定期ゲノム領域の選択的取得	
課題番号	20-451		
研究期間	2020年 10月 15日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 教授		
分担者（研 究会参加 者） （※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付して ください。）	所属	職名	氏名
	大阪府立大学・生命環境	教授	青木 考
	大阪府立大学・生命環境	M1	光田 篤矢

記

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>(文中敬称略)</p> <p>当初計画は、「茎寄生植物 <i>Cuscuta japonica</i> のゲル包埋片を作製し、極長鎖 DNA 自動抽出装置 SageScience SAGE HLS を用いて、ゲル内細胞消化、CRISPR-Cas9 による In vivo ゲノム切断、DNA サイズ分画と分取、という一連の工程を実施する。回収量が少ない場合、<i>C. japonica</i> 組織の前処理として、プロトプラスト調製を行なう事を検討する。基礎生物学研究所内では目的 DNA 画分の取得までを実施する予定とする。申請者はこれを大阪府立大学に持ち帰り、DNA-Seq ライブラリー作製を行なう。」という計画であった。</p> <p>コロナ感染拡大状況などを勘案し、基礎生物学研究所への訪問は行わなかったが、2月26日に青木、重信、山口による Zoom 打ち合わせを行い、①CATCH 法の難しさを勘案し、まず大阪府大では Long PCR による標的領域増幅が本当にできないかどうかを試す、②基生研側では、まずキアゲン Genomic Tip を用いた長鎖 DNA 抽出を行い、ネナシカズラ茎から実際にどのくらいの長さ分布で DNA が調製され得るかを検証する、③②の結果をみて CRISPR-Seq 法を用いて長鎖 DNA 標的領域解読ができそうか検討する、という方針変更が確認された。</p> <p>2020 年度 3 月に、大阪府大では Long PCR に、基生研では、大阪府立大から送ったネナシカズラ凍結茎 200mg 程度をもちいて、Genomic Tip での DNA 抽出、にそれぞれ着手した。</p> <p>なお、2021 年度共同利用研究にも申請し、採択されている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021 年度も共同利用研究を継続し、万事順調に進行すれば 2022 年 3 月に学会での発表、2022 年度内に原稿取り纏めを予定している。</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（2020年度）

2021年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 情報・システム研究機構
 ライフサイエンス統合データベースセンター
 氏名 千葉啓和

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	真核生物ゲノムにおけるドメインレベルのオーソログ分類		
課題番号	20-452		
研究期間	2020年 11月 17日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 内山郁夫		職名 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

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)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ドメインレベルのオーソログ分類のためのプログラムである DomClust および DomRefine を様々なデータセットに対して適用できるように解析パイプラインの整備および改良を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) ゲノムあるいはプロテオームが公開されている様々な生物種について、NCBI および UniProt の FTP サイトから必要なデータをダウンロードしローカルシステムにて管理するスクリプトを整備した。 2) オーソログ解析システムのコアとなる DomClust および DomRefine に加えて、マルチプルアライメントプログラムである Clustal Omega や系統樹推定プログラムである FastTree 等の依存ツールを含めた Docker コンテナを構築し、実行環境を変えても動くように整備した。 3) ドメインが分断しすぎないように DomRefine のソースコードに一部改変を入れた。また大規模データにも対応し得るように、DomRefine のソースコードを一部修正しメモリの使用効率を高めた。 <p>今後は、DomClust および改良した DomRefine を Quest for Orthologs consortium の 2021 年版に適用し、オーソログ解析の精度を評価したい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Quest for Orthologs (QfO) consortium の 2021 年版ベンチマークにおいて良い結果が得られれば、Orthology Benchmarking ウェブサイトにおいて公開するとともに、QfO 国際会議での発表に向けて準備したいと考えている。</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（2020年度）

2021年6月8日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 基礎生物学研究所生殖細胞研究
部門

氏名 吉田 松生

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
	研究課題	精子幹細胞のステート転換の動態とその制御機構	
課題番号	20-453		
研究期間	2020年 11月 17日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治	職名 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	助教	中川 俊徳

記

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ホメオスタシスにおけるマウス精子幹細胞の動態とその制御機構を明らかにするために、精子幹細胞の亜集団をタモキシフェン依存的 Cre リコンビナーゼシステムを用いて標識し、標識細胞の遺伝子発現状態の変化を単一細胞レベルでの追跡を試みている。今年度は、2 個体の精子幹細胞集団を FACS にて分取し、10x 社 Chromium コントローラーによるライブラリーの調整と次世代シーケンサー (NGS) による解析を行った。デザイン通りに実験が進んでいるかを慎重に検証している。計画通りに実験が進んでいることが確認できれば、来年度にはサンプル数を増やした解析を行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2021 年も引き続き研究を継続し、得られた成果は速やかに論文などにまとめ発表する。</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（2020年度）

2020年 4月 23日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 東北大学 学際科学フロンティア研究所

氏名 長井広樹

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
	研究課題	栄養摂取に応じた腸内分泌細胞の脱分化メカニズム解析	
課題番号	20-454		
研究期間	2020年 11月 17日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 職名		
分担者（研 究会は参加 者） （※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付してく ださい。）	所属	職名	氏名
	東北大学 学際科学フロンティア研究所	助教	中嶋悠一朗

以上

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究課題では、報告者が独自に見出した、栄養環境の変化に応答して腸内分泌細胞が脱分化するという生命現象について、そのメカニズムに迫ることを目的としている。脱分化にはダイナミックな遺伝子発現変化が伴うことが予想される。そこで、腸内分泌細胞の RNA-seq を行い、脱分化を制御する遺伝子群を同定することを目指してきた。既にショウジョウバエ個体の腸管から FACS により内分泌細胞を単離する実験系を確立しており、シーケンス用の RNA サンプル準備を進めてきた。これまでに、(1) 飢餓条件、(2) 飢餓状態から再摂食した条件、(3) 再摂食時に特定の栄養素を欠乏させた条件、の3条件について、各3サンプル(計9サンプル)の準備を完了した。</p> <p>現在、2021年度の継続課題に採択いただき、上記サンプルを用いたシーケンスを重信教授らに依頼している状況である。今後は、RNA-seqの結果が得られ次第、インフォマティクス解析によって脱分化の制御遺伝子候補をピックアップする。そして、それらの遺伝子を腸内分泌細胞特異的に発現抑制、あるいは過剰発現することで、脱分化を抑制あるいは誘導できるかを検討する。さらに、候補遺伝子の腸管における発現パターンを組織学的に検討することで、脱分化能を持つ内分泌細胞の亜群を同定することを試みる。以上の個体レベルでの解析はインフォマティクス解析の結果に大きく依存しており、RNA-seq解析が本研究課題における極めて重要な位置付けとなっている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年度の分子生物学会にて、以下の演題で腸内分泌細胞の脱分化に関する発表を行った。</p> <p>Nutrient fluctuation induces de-differentiation of enteroendocrine cells in the adult <i>Drosophila</i> midgut Hiroki Nagai, Erina Kuranaga, Yu-ichiro Nakajima MBSJ2020 3PW-10 (oral)</p> <p>インフォマティクス解析を含め、研究の更なる発展を可能にする有益な議論を行うことができた。今後、RNA-seqの結果が得られ次第、本研究課題を原著論文として発表するべく準備を進めていく。</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）

2021年4月19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 高見英人

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	比較ゲノム解析ツール MBGD と機能評価ツール Genomagle を連携した微生物機能解析手法の開発		
課題番号	20-455		
研究期間	2020年 11月 18日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名	内山郁夫	職名 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		
	所属		職名
	氏名		
	所属		職名
	氏名		
	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、これまでできていなかった Genomagle 解析で得られた結果から各モジュールに欠損遺伝子が見つかった場合のモジュールの再評価システムについて、1. 欠損遺伝子と相同的なオーソロググループの検索機能、2. モチーフを共有するオーソロググループの検索、3. 系統プロファイルが類似するオーソロググループの検索、4. モジュールを構成する遺伝子の近傍に位置するオーソロググループの検索を行う機能を追加した。また、この 4 種類の検索結果の優先順位を決定するスコアの計算式を選択し、結果の表示順を変更する機能を追加した。これにより、充足率は高いが未完成のモジュールに欠損する遺伝子を検索するシステムの大枠が完成した。しかしながら、4 種類の検索結果にどのような重み付けが必要か、どのようなロジックで重み付けをするかについては、実際に行った複数の欠損遺伝子の検索結果を精査する必要がある。それには、検索結果を対面で詳細に解析、検討する必要があるが、今年度は、Zoom でのオンライン打ち合わせしかできない状況であったため、この点については進めることができなかった。したがって、出来るだけ一度対面で解析結果を所内担当者と共有しながら評価し、コンセンサスを得た上で、個別に詳細な解析を進める必要がある。嫌氣的アンモニア酸化反応により窒素除去が行われているリアクターの微生物群集から複数の未培養菌のゲノムが再構築されているので、これらのゲノム配列を本システムで解析することで、リアクターにおける窒素循環システムの解明につなげたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>嫌氣的アンモニア酸化による窒素除去が行われているリアクター内の Major 4 種のゲノム解析に関する内容は、本年 2 月に論文化した(Okubo <i>et al.</i> DNA Research, 28, dsaa28, 2021)。今後は、この論文でゲノムが再構築された窒素代謝関連微生物が有する生理代謝ポテンシャルの本システムを用いた解析で、本システムの有効性を示す論文の作成を行う予定。</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（2020年度）

2021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	20-456		
研究期間	2020年11月17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	助教	細谷 将
	東京大学（現所属は長崎大学）	研究員	小山 喬

(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、性分化前後の時期に高い時間粒度で経時的な RNA の発現プロファイリングを目指している。</p> <p>多数サンプルの RNA-seq 解析に要する膨大な金銭的成本を回避するため、2020年に NextSeq を用いて BRB-seq 法によるシーケンシングを行なったが、総リード数に占める PCR duplicate の割合が高く、シーケンス効率が低かった。そこで今年度は改変 PMEseq (modified-PMEseq, mPMEseq) 法を試みることにした。PCR duplication の低減が期待されるが、サンプル提出が年度末近くになったため、現在まだ出力データを受け取れていない。データを受け取りしだい、解析を行う予定である。</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（2020年度）

2021年4月27日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 東京大学大学院農学生命科学研究科附属演習林

氏名 後藤 晋

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	局所適応のモデルとなりうるマツ科針葉樹トドマツ (<i>Abies sachalinensis</i>) のゲノム解読		
課題番号	20-457		
研究期間	2020年 9月 11日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 重信 秀治 職名 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
	林木育種センター 森林総合研究所 北海道支所	チーム長	北村系子
	北海道総合研究機構 林業試験場	主任研究員	石塚 航

記

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>トドマツ葉より、gDNA を単離し、illumina シーケンス用 Truseq DNA PCR-Free Library の調製を行った。今後の long read シーケンスを視野にいれ、長鎖 DNA の単離法としてスギに準じ、pre wash, Genomic-tip での抽出法で DNA を単離、続いて 400bp insert の PCR-Free Library を調製した。</p> <p>gDNA の単離は、トドマツ A-41 株の針葉 1g から行った。</p> <p>Qubit の結果、単離した DNA 量は 234ug であった。スギよりは短い。サンプルの状態によるのかも。若芽がやはり望ましいか。Long read 用としては、よいタイミングでのサンプリングが必要と思われる。Short read には問題ないと考え、Library 調製に進めた。</p> <p>Truseq DNA PCR-Free Library Prep 処理後、Ampure XP Beads(1.8x V.) で濃縮、RSB 32ul に溶出し、サイズセレクトを Blue pippin でおこなった。Bioanalyzer (HSDNA)での結果、平均長 547bp が得られ、この値を qPCR のサイズ補正に使用した。</p> <p>トドマツは 20Gb もの巨大なゲノムを持つため、現段階では、まだサーベイシーケンスの全貌を得るには至っていない。このため、さらに同じ程度の抽出を行い、シーケンスを行っていく予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>まず、さらにサーベイシーケンスを行い、十分なデータを得たうえで、重信教授とトドマツの巨大なゲノム解読を進めるための戦略をたて、成果発表へとつなげる予定である。</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。

統合イメージング共同利用研究

- 20-501 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
- 20-502 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
- 20-503 マウス胚ノード細胞および繊毛の動態観察
加藤 孝信 理化学研究所 生命機能科学研究センター
- 20-504 脳血管系の形態形成メカニズムを明らかにする
木村 英二 岩手医科大学 解剖学講座・人体発生学分野
- 20-505 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
- 20-506 R-Avr 認識後の細胞間防御応答シグナルの解析
別役 重之 龍谷大学 農学部
- 20-507 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
- 20-508 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
- 20-509 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
- 20-510 イモリ変異体の骨パターン解析
竹内 隆 鳥取大学 医学部
- 20-511 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
鈴木 誠 広島大学 両生類研究センター

- 20-512 Single-cell labeling to trace single neuronal precursors in zebrafish embryonic brain
Yung-Shu Kuan National Taiwan University Inst. of Biochemical Sciences
- 20-513 始原新口動物のボディプランに関する研究
美濃川 拓哉 東北大学 大学院生命科学研究科附属浅虫海洋生物学教育研究センター
- 20-514 メキシコサラマンダー皮膚におけるコラーゲン繊維の一線維レベルのイメージング技術の確立とコラーゲンの立体構築プロセスの解明
佐藤 伸 岡山大学 異分野融合先端研究コア
- 20-515 Parasite sequestration in the insect vector: From 3D architecture to molecular mechanisms
Jack Sunter Oxford Brookes University Department of Biological and Medical Sciences
- 20-516 シロイヌナズナの花粉管における細胞構造の定量解析
丸山 大輔 横浜市立大学 木原生物学研究所
- 20-517 IR-LEGO を用いたヒメツリガネゴケ光細胞操作と温度センサータンパク質を用いた生細胞温度計測
玉田 洋介 宇都宮大学 工学部
- 20-518 上皮細胞による3次元形態形成における細胞の配置換えと細胞間接着構造特性
米村 重信 徳島大学 大学院医歯薬学研究部
- 20-519 Establishment of 4D Single Cell Resolution Developmental Atlas of Zebrafish embryo
中村 哲也 Rutgers University Human Genetics of Institute of New Jersey

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年4月30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所

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-501		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 野中 茂紀 職名 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
	京都大学	講師	市川 正敏
	北海道大学	学生	越後谷 駿
	北海道大学	学生	松本 絃汰
	京都大学	学振特別研究員	野村 真未

(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の行動に関して実験および力学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。</p> <p>本研究は繊毛虫の流れ場中での遊泳行動に注目して研究を行った。残念ながら COVID-19 の影響により出張が制限され対応者である野中准教授の研究室で実験を行うことができなかつたため、以前に撮影した繊毛虫の細胞形状のデータ解析を中心に研究を行った。その結果、細胞形状が流れ場中での繊毛虫の行動に大きな影響を与えているということが明らかになった。現在、本内容に関する論文を投稿中で、今後は他の原生生物でもこの機構が保存されているのかに関して検証する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>現在、本研究成果の原著論文を投稿中である。論文掲載後は国内外の関連学会などで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 (R3 年度)

2020 年 4 月 23 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。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-502		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2020 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 野中茂紀 職名 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

記

(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奇な知見が得られ、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>Takano, Ikegaya et al. (2020) Induction of sexual reproduction reveals the presence of heterothallic <i>Spirogyra</i> strains (Zygnematophyceae, Streptophyta). Phycological Research 68(4). DOI: 10.1111/pre.12436</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）

2021年4月1日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 理化学研究所

氏名 加藤 孝信

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	マウス胚ノド細胞および繊毛の動態観察		
課題番号	20-503		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名	野中 茂紀	職名 時空間制御研究室 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		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、新型コロナウイルスの影響により、実験を行うために必要な遺伝子組み換えマウスの作製が遅れ、また搬送などが不可能であったことなどから、基礎生物学研究所 時空間制御研究室での実際の実験（イメージング）自体は実施することが出来なかった。</p> <p>一方で、所内対応者である野中准教授とメールベースでの充実した議論を行うことにより、報告者の所属する理化学研究所 生命機能科学研究センターに於いて実施できる最大限の予備実験を行い、細かい実験条件の検討や解析方法の検討を終えることが出来た。</p> <p>本研究課題を 2021 年度以降にも継続して申請することとし、新年度以降本格的に実験を開始する予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>国内の学会での発表（具体的な学会名は未定）を予定しております。</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（2020年度）

21年 4月 21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。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施
-------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

記

研究課題	脳血管系の形態形成メカニズムを明らかにする		
課題番号	20-504		
研究期間	20 年 4 月 1 日 ~ 21 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名	野中 茂紀	職名 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>初期の脳血管系がいかにして構築されるのか、我々は血管系で特異的に蛍光を発するトランスジェニック・ゼブラフィッシュ胚のタイムラプス・イメージング観察を行い、その全容を明らかにすることに成功した。そこでこの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、本研究では大きく2つの解析を行った。一つ目として、中脳-後脳境界（MHB）の形成に関与する <i>eng2a/2b</i> 遺伝子を CRISPR/Cas9 法により Double knock out (DKO) したゼブラフィッシュ胚子における血管形成のイメージングをおこなった。その結果、MHB に分布する中大脳静脈（MCeV）の形成不全が生じていることを確認した。この MCeV の形成不全が、境界形成による「溝」の消失によるのか、または境界の消失により <i>vegf</i> などの血管ガイダンス因子の発現や分布が変化したことによるのかを今後検証し、頭部血管系の形成メカニズムを明らかにしていく。二つ目としては、二光子顕微鏡によるライブ・イメージング法による解析を行った。2020 年度には、核移行シグナルを付加した GFP を血管系で特異的に発現する系統をイメージングすることで脳血管を構成する各血管の内皮細胞の起源を明らかにした。必要となるデータの撮影はほぼ終了しており、今後これらのデータを解析することで、① 動脈性・静脈性血管芽細胞の分化、② それぞれの血管芽細胞集団からの血管新生による最初の循環形態の確立、③ 循環開始後の静脈性の血管新生と一部血管での動脈化、の3つの段階をへて初期の脳血管形成が進行するという我々が見出した仮説の検証を進めていく。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p><i>eng2a/2b</i> 遺伝子を CRISPR/Cas9 法により Double knock out したゼブラフィッシュ胚の観察に関しては、血管ガイダンス因子である <i>vegf</i> の発現変化や「溝」の有無が MCeV の形成にいかに関与しているかを解析したのちに英文での論文発表を目指す。また脳血管系の内皮細胞の起源に関しては、タイムラプスデータを解析して仮説を検証したのちに英文での論文発表を目指す。</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（2020年度）

2021年4月30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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-505		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 亀井 保博		職名 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	特任助教	坂本 丞
	弘前大学	大学院生	成澤 勇斗
	弘前大学	大学院生	多田 玲美
	弘前大学	大学院生	小西 歩実
	弘前大学	大学院生	横山 響
	弘前大学	学部学生	太田 海斗
	弘前大学	学部学生	川越 智貴
弘前大学	学部学生	奈良 咲	

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>前年度までの研究で GFP 標識した shh を局所的な熱ショックにより四肢の特定の領域だけで発現させる実験を行ってきたが、GFP 蛍光の適切なイメージングを行うことで、発現の強さを定量的に比較できるようにした。これにより発現の強度と表現型との対応がわかってきた。また IR-LEGO による発現誘導の条件を最適化するために、温度変化によって色が変わる色素（サーマルカラー）を利用して、レーザー照射によるサンプルの温度変化を実際に測定できることを確認した。今後は別の波長でのレーザー照射を試す・多数の照射を重ね合わせることで目的の範囲での発現誘導を実現するなどの実験を行う。最適な条件で shh を発現させることで、再生能力の低下したツメガエルの四肢に、より完全な四肢を再生させることを目指す。なお、コロナ感染防止等のため来訪せずにオンライン会議（2か月に1回程度）でデータ等の議論を行い、研究を進めた。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本研究の成果は2021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>本研究の成果に関連した招待講演を以下のように行った</p> <ul style="list-style-type: none"> ・2020年9月4日 日本動物学会 第91回大会（オンライン）シンポジウム - テクノロジーが切り開く「シン・再生研究」 - 演題「ツメガエルの四肢再生から探る、器官の再生能力の差を生む原因 -両生類の再生研究の近代化に向けての試行錯誤-」 演者 <u>横山 仁</u> ・2021年1月24日 国際ワークショップ Workshop for Agriculture and Life Science Study in Hirosaki University 2021（オンライン） <p>演題「Amphibian model animals for life science with special</p>

	reference to skin regeneration」 演者 <u>Hitoshi Yokoyama</u>
--	------------------------------------------------------------

※公開できない内容は省略し，簡潔にご記入ください。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 龍谷大学農学部

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-506		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井保博		職名 特任准教授
分担者（研 究会参加 者） （※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付して ください。）	所属	職名	氏名
	横浜市立大学	特任助教	爲重才覚
	基礎生物学研究所	研究員	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、熱処理特異的な活性を持つ改良型 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) から、qPCR によって 1~2 コピー挿入ホモ個体を選抜し、本植物は熱ショック特異的に遺伝子発現 (導入した Venus タンパク質蛍光を指標として) を示すことを明らかとしてきた。昨年度より、本成果の論文化を目指し、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) に関して詳細な調査および解析を行なった。その結果、本形質転換シロイヌナズナの根組織のレーザー光が届く領域において、高い確率で安定に局所的 (一細胞のみでの誘導も含む) 遺伝子発現を誘導可能な IR レーザーのパワーおよび照射時間の条件を導き出すことができた。また、本誘導系は根では成功するものの、葉組織での誘導はこれまで極めて低確率であったが、改良型 HSP18.2 プロモーター活性を指標に熱誘導条件を葉組織において検討するなどし、葉組織においても 5 割程度の高い確率で、葉肉・気孔・表皮の細胞で IR-LEGO を用いての CRE-lox を介した Venus 蛍光の局所的 (一細胞のみでの誘導も含む) 誘導条件を見出した。根および葉の両組織において、実用的な IR-LEGO による局所的遺伝子発現操作技術が長い苦勞の末にようやく確立し、今後のさまざまな植物細胞間相互作用研究への応用展開が期待される。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>上記成果は現在論文としてまとめるべく、論文執筆中である。根幹となるほとんどのデータは取得済みで、論文本文の執筆と、残す一部データの取得を現在行なっている。</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（ 2020 年度 ）

2021 年 4 月 1 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	20-507		
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ～ 2021 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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>申請者らは、軸索誘導因子 <i>SLIT1</i> が霊長類の前頭前皮質に強く発現することを見出した(Sasaki et al., 2010, 2019, 2020)。<i>Slit</i> は受容体 <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。これらの分子は生後発達期～成体の大脳皮質でも強い発現が観察され、胚発生期の軸索誘導作用とは異なる役割が示唆される。</p> <p>今年度はコロナ禍のため、基礎生物学研究所と筑波大学との往来が難しかったため、昨年までに取得したサンプルの解析と論文作成を行った。<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の検討を行った。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。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。基底樹状突起の展開フィールドが小さくなること、先端樹状突起の分岐数が増加すること、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、論文出版の準備を進めている。</p> <p>また、新規自閉症モデルマウスの作成を企図し、RORγt Tgマウスを導入した。本Tgマウスにおいて、血清中IL-17Aの恒常的過剰状態の中枢神経系への影響を解析し、論文発表を行った(Sasaki et al., 2021. <i>Neuropsychopharmacology Rep</i>; Sasaki et al., 2021. <i>Jap J Biol Psych. in press</i>)。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Tetsuya Sasaki, Rei Nagata, Satoru Takahashi, Yosuke Takei. Effects of RORγt overexpression on the murine central nervous system. <i>Neuropsychopharmacology Reports</i>. 2021. 41(1): 102-110.</p> <p>Tetsuya Sasaki, Yosuke Takei. Constitutive increase of IL-17A in serum affects microglial activity in the hippocampal dentate gyrus. <i>Jap J Biol Psych</i>. 2021. 32(2) in press.</p> <p>Aki Takahashi, Hossein Aleyasin, Mihaela A Stavarache, Long Li, Flurin Cathomas, Lyonna F. Parise, Hsiao-yun Lin, C. Joseph Burnett, Meghan E. Flanigan, Anna Brancato, Caroline Menard, Madeline L. Pfau, Veronika Kana, Jun Wang, Georgia E. Hodes, Tetsuya Sasaki, Michael G Kaplitt, Sonoko Ogawa, Bruce S. McEwen and Scott J. Russo. “Neuromodulatory effect of interleukin 1 in the dorsal raphe nucleus on individual differences in aggression” <i>Molecular Psychiatry. in press</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（2020年度）

2021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 石黒澄衛

下記のとおり実施しましたので報告します。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験		
	<input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究		
	<input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	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		
課題番号	20-508		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名	亀井保博	職名 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	技術職員	近藤真紀
	名古屋大学	大学院生	松岡耕汰
	名古屋大学	大学院生	磯谷朱里

記

(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いる。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などの多糖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。今年度は特に発達初期のシロイヌナズナの花粉に最初に形成される多糖モジュールの微細構造について免疫電子顕微鏡法でイメージングすることを計画していた。しかし、研究代表者の研究室で光学顕微鏡を用いた方法で野生型といくつかの突然変異体の花粉の比較観察を行ったものの、来所して行う予定であった電子顕微鏡を用いた実験はコロナ禍のため見合わせる事となった。次年度改めて実施を検討したい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>次年度改めて研究を実施した上で、なるべく早い段階で学会発表や論文発表を行いたい。</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。

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-509		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井保博 職名 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
	大阪大学大学院工学研究科	教授	渡邊肇

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>COVID-19 の影響のため、研究所における共同研究は実施せず、オンラインミーティングにて今後の方針をディスカッションした。昨年度までの研究成果に基づいて学術論文の作成を進めた。</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。

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6日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：鳥取大学医学部
氏名： 竹内 隆

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	<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	20-510		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021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	修士1年生	戸澤 紗代
	鳥取大学医学部	学部4年生	明日香 智絵
	鳥取大学医学部	学部4年生	伊藤 優
	鳥取大学医学部	学部4年生	裏川 浩平

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>昨年に引き続いて、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（様々な遺伝子型）の骨構造をマイクロ CT を用いて詳細に解析した結果、遺伝子型による違いがあること、尾が異常になる遺伝子型では、尾椎の数と大きさが成長とともに増加すること、また、多重変異体ではすべての個体で後肢と骨盤の骨構造がすべて欠損することがわかった。一方、これまで CT では解析不可能であった軟骨もルセニウム染色で観察可能であることを示した。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、学会や論文発表につなげる予定である。</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（2020年度）

2021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 鈴木誠

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-511		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井 保博 職名 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

(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, 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計画した。4 系統を、発生段階 45 (生後 3 日) から性成熟を完了する生後 1 年の間で体系的に採集し、ホルマリンを含む溶液で固定処理したのち、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することとした。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、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) を用いて解析することとした。しかしながらコロナ禍により、基礎生物学研究所を訪問した解析を進めることができず、そのために広島大学に設置された別のマイクロ X 線 CT 装置の SkyScan 1176 (Bruker) を用いた予備的な解析を実施するに留まった。一方で、デジタルカメラ撮影による外部形態のモルフォメトリック解析から、体長と頭部形態において系統特異的な特徴が存在することが明らかになった。この結果は、頭蓋顔面骨および周辺の軟組織の内部形態に系統間差異が存在する可能性を示唆している。今後は特に頭蓋顔面部に着目したマイクロ X 線 CT を行い、この可能性を検証する。</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>鈴木 誠, 井川 武, 鈴木菜花, 古野伸明, 田澤一朗, 高瀬 稔, 荻野肇: NBRP 「ネッタイツメガエル」: ネッタイツメガエルの遺伝学・ゲノム科学的リソース基盤の形成とその活用. (第 43 回日本分子生物学会, オンライン開催, 2020.12.2-4, 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。

Research Report
Collaborative Research in the National Institute for Basic Biology (NIBB)
Fiscal year 2020

Date (18/June/2021)

To Director General of NIBB

(Principal Investigator)

Name	Yung-Shu Kuan
Institution	National Taiwan University Inst. of Biochemical Sciences

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
- Collaborative experiments using the Large Spectrograph
- Collaborative research projects for bioresource preservation technology development
- NIBB workshops
- Support for NIBB training courses

2. Research project title

Single-cell labeling to trace single neuronal precursors in zebrafish embryonic brain

3. Project number

20-512

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

1/4/2020 – 31/3/2021

5. Host researcher

Name	Yasuhiro Kamei	Job title	Specially appointed
------	----------------	-----------	---------------------

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name
National Taiwan University Inst. of Biochemical Sciences	Research Assistant(Master level)	He-Yen Pan

7. Outline of research results and future prospects*

With the help from Dr. Kamei's group, in year 2020, our laboratory has built an IR-LEGO system of our own on a Nikon microscope in National Taiwan University. Please refer to the figure 1-3.

8. Publications or publication plan*

The IR-LEGO-related experiments are part of a larger project that is aimed to deciphering the developmental control of habenular neurons in zebrafish embryos. We had collected useful data while using the IR-LEGO system in Dr. Kamei's laboratory in NIBB in the past. We currently are still gathering some other final results for concluding the project into a future publication. Hopefully that our final manuscript of this collaborative project can be submitted out by the end 2021 August or September.

9. Remarks, if necessary

Thanks to all members in NIBB, particularly Dr. Kamei's group in helping us to conduct experiments that are hard to do in NTU.

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

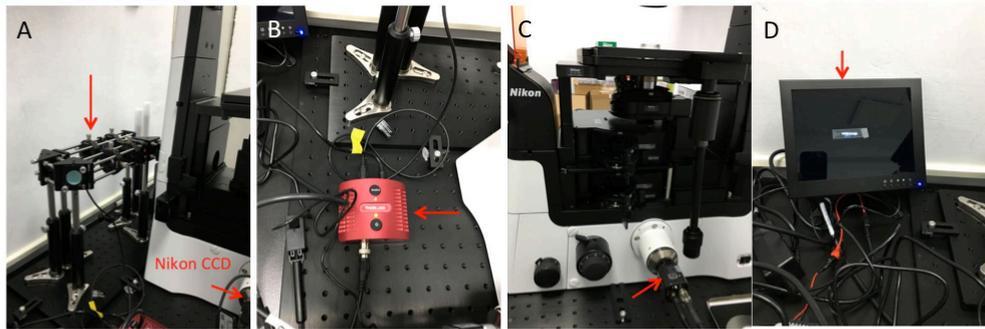


Figure 1. Home-made IR-LEGO system in IBS, NTU. (A-D) Images showing (A) laser path and CCD; (B) laser shutter; (C) IR camera, and (D) IR camera screen.

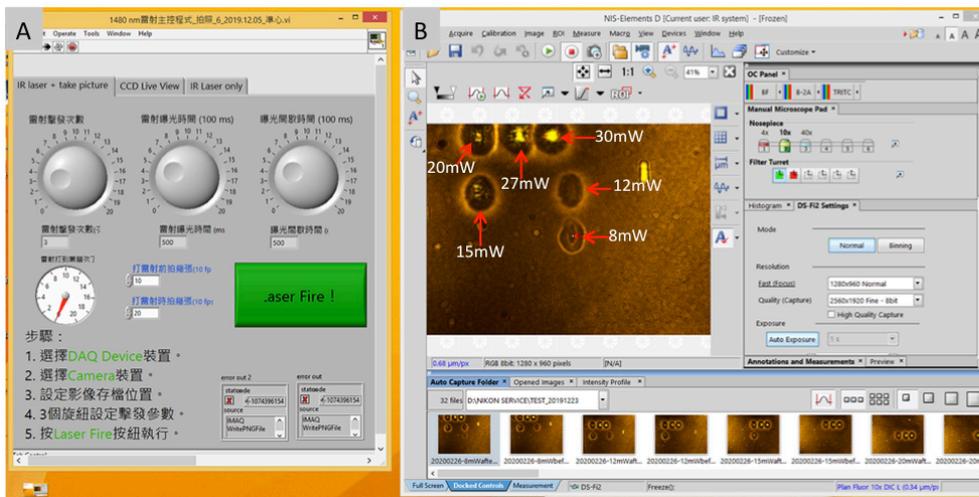


Figure 2. Tests of Home-made IR-LEGO system with 40X oil lens. (A) Image showing the custom-made Labview program for operating the 1470nm laser. (B) laser burning tests on black paint on the glass of a glass-bottom dish with 40X oil lens (1X50ms).

A

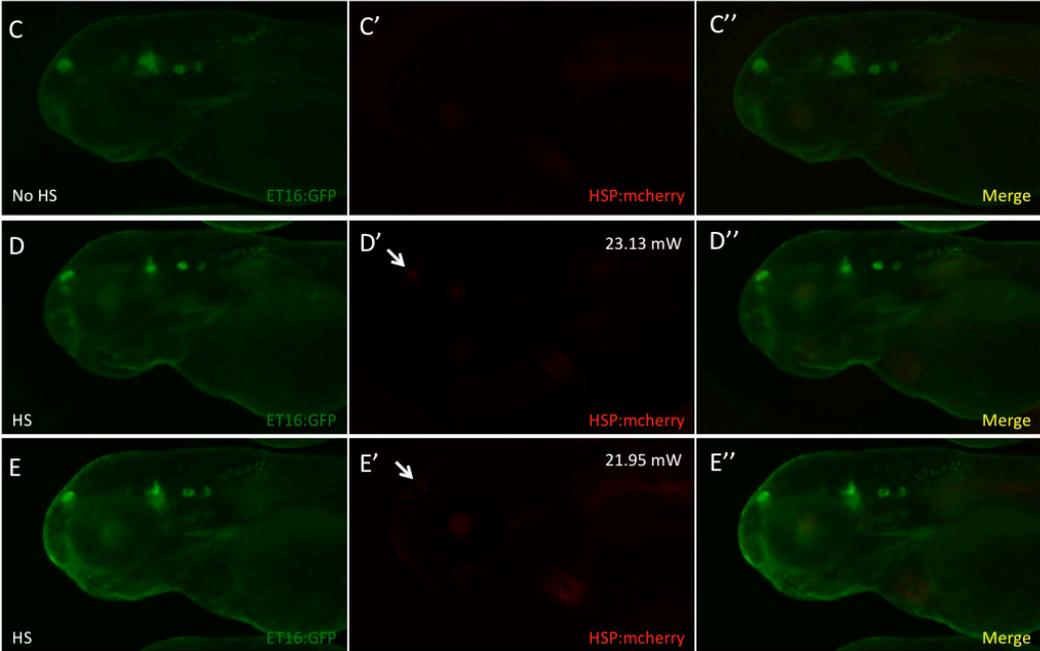
Laser output (A)	Test (n)	Measure (M) (mW)	Power output at 20X Objective lens* (mW) (Mx0.46x0.99)
0.28	2	56.6	25.78 *re-aligned
0.26	2	50.8	23.13
0.25	2	48.2	21.95
0.24	2	45.2	20.58

B

HS-tests (HS at ~56hpf using Tg(hsp70mCherry fish)				
2x500ms	25.78 mW	23.13 mW	21.95 mW	20.58 mW
HS Yes	1	1	1	0
HS No	0	1	1	2
Total	1* *1 dead	2	2	2
Successful %	100	50	50	0

Figure 3. Test results of custom-made IR-LEGO system with 20X lens. (A) Table showing the power output calculation of the 1470nm laser passing through the 20X lens. (B) Table showing the results of our heatshock (HS) tests on the 56hpf Tg(hsp70mCherry fish. (C-E'') Images (taking at 74hpf) showing the successful heatshock induction of mCherry expression

using 23.13 and 21.95mW (next page).



基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年 4月 5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： 美濃川拓哉

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	<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	始原新口動物のボディプランに関する研究		
課題番号	20-513		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	亀井保博 博士		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	お茶の水女子大学湾岸生物教育研究センター	研究協力員	雨宮昭南
	東北大学理学部生物学科	学部学生	門叶康平

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>すでに絶滅した始原新口動物のボディプランを、現生の動物の研究から推定することが本研究の目的である。</p> <p>2020年度は、棘皮動物ウミユリ類トリノアシ、棘皮動物ウニ類バフンウニ、腕足動物シャミセンガイ類ミドリシャミセンガイの計3種について、胚・幼生の共焦点レーザー顕微鏡による光学切片取得と、その情報を利用した3D構築を実施した。トリノアシは以前に実施した共同利用研究(15-335, 16-515, 17-507)からの継続課題だが、ウニとシャミセンガイについては今回がはじめての共同利用であるので、共同利用開始に先立ち、亀井保博博士とのオンライン打ち合わせ(2020年5月27日)をおこなった。</p> <p>2020年度は6回の利用を計画していたが、新型コロナウイルス感染症流行の影響で出張日程調整が難しく、共同利用は2回(2020年6月22日から6月26日までと10月26日から10月30日まで)にとどまった。そのため、研究成果は十分に得られたわけではない。トリノアシは着実にデータ取得を進めている。ウニとシャミセンガイは予備実験をほぼ終了し、具体的なデータ取得段階に入った。2021年度は3種ともにさらなるデータ取得を進める計画である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>2020年度の研究成果の一部は学会で発表する予定である。論文での発表には、2021年度の研究が不可欠である。</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（ 年度）

R3年4月7日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 岡山大学 RCIS

氏名 佐藤 伸

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題			
課題番号			
研究期間	2020 年 4 月 1 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 亀井保博 職名 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>目(s)貴紙子サラマンダーの皮膚組織のコラーゲンイメージングに関する助力をいただいた。イメージングのための Vector の構築のための DNA サンプルの供出を亀井にねがい、それをもとに Vector の構築と遺伝子導入をおこなった。残念ながら、いただいたサンプルでは満足な像を得ることはできなかった。代わりに岡山大学の方でもともと使用していた Vector をより高解像の画像を得ることで解決を図った。亀井のもつ顕微鏡システムで2回の撮影機会を設けてもらった。コロナウイルスの影響から、訪問回数を制限せざるを得ず、詳しい解析やセットアップに至ることはできなかったが、次年度にタイムラプス画像取得も併せて検討することで話が進んでいる。現在 R3 年度初頭の訪問計画を立てており、引き続きの解析を推進する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>R3 年度中に論文投稿を目指している。</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。

Research Report
Collaborative Research in the National Institute for Basic Biology (NIBB)
Fiscal year 2020

Date (6/4/2021)

To Director General of NIBB

(Principal Investigator)

Name Jack Sunter

Institution Oxford Brookes 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
- Collaborative experiments using the Large Spectrograph
- Collaborative research projects for bioresource preservation technology development
- NIBB workshops
- Support for NIBB training courses

2. Research project title

Parasite sequestration in the insect vector: From 3D architecture to molecular mechanisms

3. Project number

20-515

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

1/6/2020 – 31/3/2021

5. Host researcher

Name Shigenori Nonaka

Job title Associate Professor

6. Researchers in your research group

Institution	Position	Name
Oxford Brookes University	Visiting Researcher	Ryuji Yanase
National Institute for Basic Biology	Associate Professor	Yasuhiro Kamei
National Institute for Basic Biology	Technical Staff	Maki Kondo

7. Outline of research results and future prospects*

Leishmania is a eukaryotic parasite, which is transmitted by sand flies. In the sand fly Leishmania has two forms an attached form (haptomonad) and a free-swimming form (promastigote). Our project is to understand the three-dimensional changes in cell morphology and ultra-structure between haptomonads and promastigotes. We used serial block face scanning electron microscope (SBF-SEM) to image these changes. The specific aim of this collaboration was to develop new semi-automated analysis methods for SBF-SEM datasets.

The image processing software ImageJ and 3D tracing software 3dmod were used for detailed comparison and 3D modeling. We have established semi-automatic analysis of 3D EM data sets with ImageJ and used it for these analyses based on the advice of Dr. Nonaka and other collaborators at NIBB. As a result, we were able to analyse in detail the dramatic changes in flagellum architecture that occur when a free-swimming promastigote differentiates into an attached haptomonad. We believe that this semi-automatic 3D EM data analysis method of individual cells established here is also useful for detailed and rapid analysis of data obtained by electron tomography, which we plan to perform in the future.

Next, we worked on a machine learning-based automatic analysis of our large volume SBF-SEM data to rapidly and accurately analyse and model the large number of cells in our data. We are considering the use of machine learning-based programs such as U-Net and ilastik, and are currently examining the analysis conditions with the help of Dr. Nonaka and other collaborators at NIBB to see if these programs are applicable to our data and if they can accurately model the structures, we are interested in. In the future, we plan to combine these machine

learning-based programs with 3dmod, which is capable of fine 3D rendering, to provide a high-throughput and high-resolution analysis method of large number of cells in large volume SBF-SEM data.

8. Publications or publication plan*

This work is ongoing and no publications have resulted from it so far but this work will be incorporated as part of a larger study that is underway to study the molecular details of the haptomonad attachment structure.

9. Remarks, if necessary

This has been a great opportunity to work with NIBB especially Dr Nonaka and to begin to develop approaches to vastly improve our ability to analyse large EM datasets.

*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（ 2020 年度）

2021 年 4 月 5 日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 横浜市立大学

氏名 丸山大輔

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	シロイヌナズナの花粉管における細胞構造の定量解析		
課題番号	20-516		
研究期間	2020 年 6 月 12 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 加藤輝 職名 特任助教		
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

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本計画では横浜市大の丸山が取得したシロイヌナズナの花粉管のアニリンブルー染色像を解析することで、花粉管が規則正しく作るカロースプラグと呼ばれる細胞構造のパターンの形成制御の法則を明らかにするものである。</p> <p>横浜市大の方で撮影の条件検討を重ねてきたが、丸山が本研究を遂行するために参画してきた新学術領域研究「植物の周期と変調」の公募班を科研費の重複制限によって外れることとなった。その結果、画像解析をするために十分な品質の撮影が可能となる前に、研究が停止することとなり、実質、研究成果は得られていない。</p> <p>今後、時間はかかるもののカロースプラグの撮影技術が向上させることができると考えている。そのとき改めて本計画を再スタートできることを期待している。</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（令和2年度）

令和3年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 宇都宮大学工学部

氏名 玉田 洋介

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	IR-LEGO を用いたヒメツリガネゴケ光細胞操作と温度センサータンパク質を用いた生細胞温度計測		
課題番号	20-517		
研究期間	令和2年 6月 12日 ~ 令和3年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井 保博 職名 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命熱動態研究室	特任助教	坂本 丞
	基礎生物学研究所生命熱動態研究室	博士研究員	友井 拓実
	宇都宮大学ロボティクス・工農連携技術研究所	博士研究員	GU, Nan
	宇都宮大学工学部	学部4年生	大江 駿

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>IR-LEGO は所内対応者の亀井らによって確立された光細胞操作系で、熱応答配列の下流に標的遺伝子を配置して生物に遺伝子導入しておいた上で、特定の細胞に対して赤外レーザーを入射して加温することで、熱応答配列の下流にある標的遺伝子の転写を活性化して細胞を操作する手法である (Kamei et al. 2009, Nat Methods) 。この手法を新しい生物に適用する際には、まず加温によって遺伝子発現を十分に誘導できるが、細胞にダメージを与えない赤外レーザーパワーなどの実験条件を確立する必要がある。すでに作出済みの、ダイズヒートショックプロモーター配列の下流に細胞核局在シグナル配列と蛍光タンパク質遺伝子、<i>GUS</i> 遺伝子を融合させた遺伝子を配置してヒメツリガネゴケに導入した株 (GmHSP:NLS-YFP-GUS 株) を用いて、ヒメツリガネゴケにおいて IR-LEGO により効率的に遺伝子発現を操作できるレーザー入射条件を検討した。その結果、細胞死や明瞭な成長遅延を誘導することなく、蛍光タンパク質を高確率にて誘導できるレーザー入射条件を発見した。</p> <p>また、IR-LEGO によって加温されたヒメツリガネゴケ生細胞の内部の温度を計測するために、温度センサー分子を導入したヒメツリガネゴケを作出し、温度計測を行っている。</p> <p>今後は、本研究により確立したレーザー入射条件を用いて、幹細胞化遺伝子などの遺伝子の発現を誘導し、表現型を観察する予定である。また、温度センサー分子を用いて、IR-LEGO により加温中の生細胞の温度を正確に計測できるイメージング系を構築する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>当研究の成果は、以下の学会にて発表した。前者については、2021年6月に <i>Proceedings of SPIE</i> として公開される予定である。また、本年度中に国際誌に論文として発表する。</p> <p>Takumi Tomoi, Joe Sakamoto, Suguru Ohe, Yosuke Tamada, Yasuhiro Kamei. Application of infrared laser to living cells for manipulation of gene expression, and <i>in vivo</i> temperature measurement method. <i>Biomedical Imaging & Sensing Conference 2021</i>, online, Apr. 21th, 2021.</p> <p>大江駿、友井拓実、坂本丞、亀井保博、玉田洋介、「IR-LEGO を用いたヒメツリガネゴケにおける局所的遺伝子誘導法の確立」、第62回日本植物生理学会年会、オンライン開催、2021年3月16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（2020年度）

2021年4月25日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 徳島大学

氏名 米村重信

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	上皮細胞による3次元形態形成における細胞の配置換えと細胞間接着構造特性		
課題番号	20-518		
研究期間	2020年 9月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名	加藤 輝	
	職名	特任助教	
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
	徳島大学	教授	米村重信
	徳島大学	大学院生	西村亮祐
	基礎生物学研究所	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>報告者らは、細胞間接着装置を構成するαカテニンの張力感受性（張力に応じた分子結合能の変化）が上皮細胞の3次元的な形態形成に大きく影響を与えることをすでに明らかにしていた。本研究では、その張力感受性が細胞間接着装置の形成を介してどのように形態形成に関与するのかを知ることを目的とした。正常な張力感受性が個々の細胞の動き、位置関係の転換（配置換え）に重要であるという仮説を立て、細胞核を蛍光タンパク質で標識して可視化・ライブイメージングし、その動きを経時的に追跡（トラッキング）することで検証を試みた。</p> <p>従来用いてきた培養・観察系では十分に高精細かつ高速なイメージングが不可能であったため、亀井特任准教授の助言の下その改良に取り組んだ。具体的には、培養基剤をより適したものに変更するとともに、光学解析室で保有するスピニングディスク共焦点顕微鏡を、至適条件を見出した上で利用した。これにより得られる画像データの質が大幅に改善し、これまでにおおむね十分な量のデータセットを取得している。それを基に、加藤特任助教と共同で画像解析手法の検討を進めている。細胞集団中の細胞核の検出（セグメンテーション）および時間フレーム間の対応づけ（トラッキング）までは成功しており、現在は各細胞核の相対的な位置関係の変化を検出する方法を検討している。一通りの解析が終了したのち、必要が生ずればさらなる画像データの取得を行う予定である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>本共同利用研究で得られた成果は、国内の学会（第5回日本メカノバイオロジー学会学術集会）にてすでに発表しているほか、国際誌への論文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（2020 年度）

2021 年 4 月 19 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	Establishment of 4D Single Cell Resolution Developmental Atlas of Zebrafish embryo		
課題番号	20-519		
研究期間	2020 年 11 月 17 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 野中 茂紀 職名 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
	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
	神経行動学研究部門	助教	東島 眞一
	IBBP センター	教授	成瀬 清
	Rutgers university	Master student	Myles Jackson

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>コロナウィルスが広がって、アメリカから日本への帰国時に2週間の隔離が必要であったために、研究期間内に日本に滞在する事ができなかった。よって、今回は共同研究を進める事ができませんでした。本研究に関して、共同研究としての進展は特にありませんでしたが、私たちはアメリカで実験の条件検討等を進めており、再度共同利用に応募して2021年度はぜひそちらで実験をさせて頂きたいと考えております。</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。

大型スペクトログラフ共同利用実験

- 20-601 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
- 20-602 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
- 20-603 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
- 20-604 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
- 20-605 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
- 20-606 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
- 20-607 皮膚に発現する光受容体の活性化と細胞応答
山本 博之 日本薬科大学 薬学部
- 20-608 近赤外線利用型光合成生物における光合成諸活性の波長依存特性
小杉 真貴子 自然科学研究機構 アストロバイオロジーセンター
- 20-609 藻類の光防御メカニズムの光強度・波長応答性の探索
得津 隆太郎 基礎生物学研究所 環境光生物学研究部門

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年4月30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所

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-601		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井 保博 職名 特任准教授		
分担者（研 究会は参加 者） （※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付してく ださい。）	所属	職名	氏名
	北海道大学	准教授	佐藤 勝彦

(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。遊泳微細藻類の一種であるクラミドモナスは長くモデル生物として利用されてきており、集団運動で対流を形成することが報告されている。</p> <p>我々はこの対流形成と集団的な光運動に注目して観察を行い、新たな現象を発見している。具体的にはクラミドモナスの細胞懸濁液に左右対称パターン光を照射すると、左右非対称な集合パターンが形成されるというものである。本研究ではこの機構を解明することを目的とした。</p> <p>本年度は COVID-19 の影響により出張が制限され対応者である亀井准教授の研究室で実験を行うことが出来なかった。一方で、光照射装置としてホロライトを貸し出して頂き、北海道大学で研究を進めることが出来た。その結果、この左右非対称性の集団パターンはクラミドモナス自身の持つ左右軸が寄与しているということが示唆され、マイクロオーダーの非対称がマクロオーダーまで伝搬しているということが分かってきた。</p> <p>今後は、このパターン形成の際に個々の細胞がどのように振舞っているかを顕微鏡を用いて観察することで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>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2年度）

令和3年4月12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。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	紫外線単独、ならびに化学物質共存下での突然変異・DNA損傷誘起・細胞応答に関する研究		
課題番号	20-602		
研究期間	令和2年 4月 1日 ~ 令和3年 3月 31日		
所内対応者	氏名	亀井保博	職名 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
	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	1年	氏名 花木 佑輔
	岡山大学薬学部	6年	望月 晴菜
	岡山大学薬学部	5年	長澤 由香莉

記

(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。研究の結果、N-ニトロソプロリン(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。また、NPROが脱炭酸した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NMORの光吸収曲線に沿ったことから、NMOR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。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>学会発表 1. <u>有元 佐賀恵</u>、妹尾 詠美、花木 佑輔：UVA活性化によるN-ニトロソピロリジンの光遺伝毒性 第42回日本光医学・光生物学会 2021年1月22-23日(東京) 研究成果論文 1. C. Asahi, S. Aoyama, S. Kimura, T. Suzuki, T. Hatano, <u>S. Arimoto-Kobayashi</u> (2020) Isolation of new photoadducts from UVA-irradiated N-nitrosoproline with 2'-deoxyadenosine and characterization of photoadducts from DNA irradiated with N-nitrosoproline, Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry, 400, 112621. https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112621</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）

2021年4月23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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施			
研究課題	植物体内を通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	20-603			
研究期間	2020年 4月 4日 ~ 2021年 3月 31日			
所内対応者	氏名	亀井保博	職名 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	
		佐賀大学農学部	教授	氏名
		佐賀大学大学院農学研究科	修士2年	鈴木章弘
		佐賀大学大学院農学研究科	修士1年	平岡令央奈
		佐賀大学大学院農学研究科	修士1年	西田雄輝
				岡田朋憲

(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、菌根菌 (<i>Rhizophagus irreguralis</i>) を前培養して活性の高い孢子を選抜し、それに対して大型スペクトログラフを用いて700～910 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>今年度初回(6月)の照射実験では事前に菌根菌孢子の選抜を行い、スレッシュヨルドボックスを用いて1×10^{-3}, 1×10^{-4}, 1×10^{-5} mmol/m²/s の強さの光を32時間(8時間x4回)照射した。その結果、菌糸の分岐数では有意に増加したものは見られなかったが、総菌糸長では730, 760, 790, 820, 910 nmの1×10^{-3} mmol/m²/s および790, 820, 850, 910 nmの1×10^{-5} mmol/m²/s において対照区(dark)と比較して有意に値が増加する結果となった。そこで2回目(10月)の照射実験も初回と同じ条件で行った。その結果、分岐数の790, 880, 910 nmおよび総菌糸長の700, 790, 820, 880, 910 nmの照射によって対照区(dark)と比較して有意に減少した。</p> <p>以上の結果を踏まえて現在は、波長を730 nmに絞りdarkと比較して有意に菌根菌の成長(菌糸長, 分岐数, 発芽数)が促進されることの再確認を行なっている。今後は安定した結果が得られるようになり次第、再び大型スペクトログラフを用いた照射実験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>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（2020年度）

2021年4月30日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 大阪市立大学人工光合成研究センター

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。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
	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	20-604		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井保博	職名 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
	大阪市立大学理学研究科	M2	関 荘一郎
	大阪府立大学理学系研究科	准教授	竹田 恵美

記

(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 COVID-19 による出張自粛により、予定していたデータ取得は断念した。しかしながら、S/N は悪いながらも昨年度 $n = 3$ で取得していたデータを再解析したところ、誤差の範囲を超えて有意な変化が見られていたことがわかったため、このアクションスペクトルを整理し、光受容体の応答スペクトル形状について検討した。最近ミルと同類のシフォナス緑藻について、クビレヅタに続く 2 例目としてカイガラミドリイトのゲノムが発表され、光受容体について詳細に議論された。これらの結果を合わせて、今回機能している光受容体の種類について考察した。(投稿準備中)。</p> <p>さらに、研究室内で、モデル緑藻クラミドモナスによる実験条件の検討を行い、目的の色素組成変化を検出した条件において、RNA-seq を実施した。その他、今回特定の波長の光により阻害されると考えている酵素の候補遺伝子の可能性の高い酵素をシロイヌナズナで発見したので、クラミドモナスにおける相同配列を検索し、それを欠損した株をライブラリーから購入し、色素欠損を検討した。こちらは今の所ヒットは出ておらず、逆に阻害されると考えていた色素が蓄積量を増やすという結果になってしまった。変異の導入は確認したので、培養条件の最適化が疑われる。現在培養条件を少し振り、色素蓄積挙動を追跡中である。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 関庄一郎、山野由美子、藤井律子、”新規シフォナキサンチン生合成中間体の発見とその生理機能”、20210314-16、第 6 2 回日本植物生理学会年会（松江）、オンライン開催 2. Soichiro Seki, Yumiko Yamano, and Ritsuko Fujii, "Discovery of a new siphonaxanthin biosynthetic precursor: structure and its coupling to photosynthetic antenna", The 1st Virtual International Conference on Carotenoids: VICC 2021, 8am – 11 am EST, June 22, 23, 24, 2021. (oral presentation) 3. 論文投稿準備中
<p>備考</p>	<p>昨年度実施を見送った実験については、詳細な実験条件の検討を進めており、今年度実施する予定である。</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（2020年度）

2021年4月26日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 日本女子大学

氏名 深町昌司

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-605		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井保博		職名 特任准教授
分担者（研 究会は参加 者） (※人数が多 い場合は別紙 として作成の 上、添付してく ださい。)	所属	職名	氏名
	日本女子大学	学術研究員	松尾恵
	日本女子大学	学術研究員	内川珠樹
	日本女子大学	学術研究員	原田裕美

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本年度はコロナ禍に見舞われ、研究代表者の所属機関は東京都にあることもあり、出張すること自体が困難であった。一度、1月末に本研究のために出張する計画を立てたが、基礎生物学研究所側の許可が得られず断念した。3月に一度出張したが、視運動反応の実験ではなく、大型スペクトログラフの光量およびスペクトルを、300 nm から1,000 nm まで10 nm おきに測定した。この基礎データは、今後視運動反応試験をする際に役立つ予定である。</p> <p>来年度もコロナ禍が継続中であり、4月26日現在、緊急事態宣言が発令されている。出張にも制限がかかると思うが、できるだけ効率よく研究を進めていきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>昨年度に行った、様々な魚種の視運動反応試験の結果に関して、論文にまとめて投稿した。現在 revise 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（2020年度）

2021年4月28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
水産技術研究所 廿日市庁舎

氏名 中山奈津子

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-606		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名	亀井保博	職名 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	国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所	職名 主任研究員
	氏名		紫加田知幸
	所属		
	氏名		
	所属		
	氏名		
	所属		
	氏名		

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)

研究成果の概要及び今後の展望

本年度は、コロナウイルス感染拡大を受けて、県外への出張をすることができなかつたため、貴研究所において大型スペクトログラフを用いた実験は行えなかつた。したがって今年度は、2019年に貴研究所で行った実験時に採取した試料中のウイルス（KmRNAV3）定量を行った。また、並行して予備試験的に行ったUV照射実験時のカレニアの核崩壊過程の観察についてまとめた。

〔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（Km RNAV3）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RNAウイルス株 Km RNAV3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Km RNAV3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、KmRNAV3の密度は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。さらに、Km RNAV3を接種した全照射試験区のカレニア細胞を終濃度1%グルタールで固定後、Hoechst33342で核を染色し、SP8 LIGHTNING 共焦点顕微鏡(Leica)にて蛍光観察した。

〔成果〕UV照射下のカレニア細胞の増殖については、昨年度に次のように報告した。カレニアにウイルス Km RNAV3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。今年度は、冷凍保存してあったこれらの試料について、Km RNAV3の増殖をMPN法により定量した。それ

	<p>によると、カレニア細胞の減少に伴って、2日目、3日目に KmRNAV の増殖が認められたが、4日目はやや減少傾向であった。</p> <p>〔考察及び展望〕前年度までと比べ、今年度用いた Km RNAV3 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 Km RNAV3 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、細胞死の判定を顕微鏡下で行うことが難しいため、今年度は、ウイルスによる感染死について、予備試験的に核の崩壊過程を蛍光顕微鏡で観察・撮影し、考察した。それによると、ウイルス感染を受けたカレニア細胞の核は1日目や2日目から一部崩壊が認められ、4日目ではほとんど全崩壊している細胞も認められた。今後は、核のサイズを数値化するか、核酸量を定量するなど、ウイルス感染によるカレニア細胞の死を定量化する手法を開発したいと考えている。</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（2020年度）

2021年4月27日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 日本薬科大学 薬学部

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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-607		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井保博 職名 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>これまでに、皮膚由来の細胞である線維芽細胞や角化細胞、メラノサイトにオプシン受容体が発現すること、オプシン受容体の活性調節を維持するには、レチナールの代謝機構が必要となるが、ラットを用いた検討から皮膚において眼と同様にレチナール代謝に関わる酵素群が発現していることを明らかにしている。今年度は、細胞が応答する波長を探索するために、光線曝露後の細胞内シグナル伝達や発現が変わるタンパク質の探索を行なった。</p> <p>細胞内シグナル伝達は細胞内 cAMP 濃度の変化について検討したが、光線曝露後に変化は認められなかった。現在、細胞内のシグナル経路としてリン酸化タンパク質の変動について検討を行っている。また、光線曝露後のタンパク質の変化について2次元電気泳動により展開後発現に変化が認められたタンパク質の同定を行なった。その結果、波長によって発現が変化し、細胞によって特徴的なタンパク質の候補として6種同定した。同定できたタンパク質が光線曝露後の細胞応答の指標として利用できるのかを現在検証している。</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すること、また、新規に光線曝露によって発現の変化が認められたタンパク質の機能を明らかにして論文投稿を目指す。</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（令和2年度）

令和3年4月27日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 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

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	近赤外線利用型光合成生物における光合成諸活性の波長依存特性		
課題番号	20-608		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 亀井 保博		職名 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>赤外線を利用した酸素発生型光合成システムの光利用効率について明らかにするため、長波長吸収型のクロロフィル <i>d</i> を主要な光合成色素とする藍藻、アカリオクロリス細胞の酸素発生活性スペクトルの測定を行った。光の吸収率から光合成効率を計算するため、1cm 四方のサンプルキュベットを使った測定系を構築した。大型スペクトログラフによる照射環境で光量子計 (QTM-101) により測定した透過率と、濁度のあるサンプルの測定に優れている分光光度計 (日立 557) で測定した透過率の誤差は5%程度であった。アカリオクロリスの酸素発生活性は710 nm で最も高く、730 nm で半分ほどに減少し更に長波長まで光照射による酸素濃度の上昇を確認した。それより更に長波長になると、光照射により酸素濃度の上昇は起こらないものの、呼吸による酸素の吸収速度は抑えられた。しかし、この酸素吸収の抑制が光合成活性によるものか、呼吸の抑制によるものかの判別ができなかった。酸素発生は光化学系 II の活性に依存しているが、呼吸量の抑制は光化学系 I の励起によるプラストキノンプールの酸化還元状態と関わっている可能性があるため、光化学系 I の活性を測定する必要がある。そこで2021年度に、大型スペクトログラフを利用して光化学系 I の活性スペクトルを取得する。また今回の測定系を用いて、クロロフィル <i>a</i> により遠赤色光を利用する緑藻においても光合成酸素発生の収率を測定する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>遠赤色光利用型の光合成タンパク質解析に関する論文を執筆中、近日中に投稿予定。</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 2 年度）

2021 年 4 月 5 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 得津 隆太郎

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	藻類の光防御メカニズムの光強度・波長応答性の探索		
課題番号	20-609		
研究期間	2020 年 10 月 14 日 ~ 2021 年 3 月 31 日		
所内対応者	氏名 亀井 保博		職名 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>大型スペクトログラフを用いた紫外線照射により、緑藻クラミドモナス特有の紫外線応答スペクトルを明らかにできた。当該成果は、投稿中であった学術論文に追加し、最終的に Plant Physiology 誌に受理されるに至った。</p> <p>今後の展望として、緑藻クラミドモナス特有の紫外線応答機構が、緑色光合成生物の中で、どのような分子・進化・生理的意義を持つのかを明らかにしていきたいと考えている。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>既に Plant Physiology 誌に掲載されている。詳しくは下記の通り。 <u>Tokutsu, R.</u>, Fujimura-Kamada, K., Yamasaki, T., Okajima, K. Minagawa, J. UV-A/B radiation rapidly activates photoprotective mechanisms in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>. <i>Plant. Physiol.</i>, 2021, in press.</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

- 20-702 効率の良い熱帯地域由来のタロ（サトイモ）の茎頂超低温保存法の確立
本橋 令子 静岡大学 学術院農学領域
- 20-707 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
- 20-708 ニホンザルを中心としたマカク属の凍結精液性状の向上
柳川 洋二郎 北海道大学 獣医学研究院
- 20-709 ラットにおけるフリーズドライ精子保存法の開発と効率化に関する研究
金子 武人 岩手大学 理工学部
- 20-710 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
- 20-711 超瞬間凍結における安定保存のための急速解凍技術の開発
秋山 佳丈 信州大学 繊維学部
- 20-712 実用藻類ツノケイソウ *Chaetoceros gracilis* の凍結保存法の確立
福澤 秀哉 京都大学 大学院生命科学研究科
- 20-714 野蚕の超低温保存方法の開発
伴野 豊 九州大学 大学院農学研究院
- 20-717 高極性有機イオンを用いた画期的ガラス化保存法の開発
田中 大介 農業・食品産業技術総合研究機構 遺伝資源研究センター

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（2020年度）

2021年4月12日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：静岡大学大学院農学領域
氏名：本橋 令子

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

分類 (いずれかを選択してください)	<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	効率の良い熱帯地域由来のタロ（サトイモ）の茎頂超低温保存法の確立		
課題番号	20-702		
研究期間	2020年4月1日 ～2021年3月31日		
所内対応者	成瀬 清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名
	静岡大学大学院農学領域	教授	本橋 令子
	基礎生物学研究所 IBBP センター	特任教授	成瀬 清
	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 遺伝資源センター	上級研究員	田中 大介
	進化生物学研究所	研究員	小西 達夫

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>サトイモの遺伝資源の保全のために、茎頂のガラス化保存法の確立を試みている。供試試料として、無菌培養したサトイモの幼苗より単離した茎頂を用い、液体窒素中に浸漬した茎頂を急速昇温し、MS培地に置床した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。ガラス化を効率よく行うためには、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で、生存率が80%程度まで上昇した。しかし、生存率が50%~70%の品種も存在するため改善を行った。さらに、これまで本共同研究において開発してきた手法は、主に日本で一般的に栽培されるサトイモ品種を対象にしているが、保存できる対象植物種を拡大させるため、長期間の低温ストレスに弱い熱帯原産タロ(サトイモ)系統にも効果のある液体窒素浸漬前に施す新規処理方法を開発した。</p> <p>材料の超低温保存前処理として、ヒートショックタンパク質の誘導によるストレス耐性付与効果を調査した結果、茎頂に2時間のヒートショック処理後の超低温保存後の生存率が上昇し、有効な処理であることが分かった。</p> <p>今後、ヒートショックの時間やタイミングを調査し、効果を検証するとともに、ヒートショックタンパク質の実際の発現を調べ、生存率上昇効果とストレス応答遺伝子の発現量にも注目し研究を進める。</p>
<p>研究成果発表等の予定及び実績</p>	<p>CRYOPRESERVATION CONFERENCE 2020 で発表 サトイモ茎頂の効率の良いガラス化保存法の確立 II 成果の学術論文への執筆予定</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（2020年度）

2021年 4月 23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 新美 輝幸

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-707		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 成瀬 清 職名 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
	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>これまで昆虫の凍結保存法は困難とされてきたが、カイコでは精子や卵巣の凍結保存法が実用化されている。本課題では、カイコでの成功例などを参考に、ナミテントウにおいて生殖巣の凍結保存技術を確立し、非モデル昆虫に応用可能な汎用性の高い凍結保存法の開発を目指している。そして、ナミテントウから得られた知見を参考に、昆虫の分類群やサイズなどを考慮した、各種非モデル昆虫に応用できる汎用性の高い生殖巣の凍結保存方法の開発を目標とする。</p> <p>これまでの本共同利用研究により、ナミテントウの雄の遺伝資源の保存法を確立するため、精巣の凍結保存法の確立に成功した。今年度は、論文投稿に必要なデータの取得を進めた。</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（2020年度）

2021年4月29日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 北海道大学獣医学研究院

氏名 柳川 洋二郎

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	ニホンザルを中心としたマカク属の凍結精液性状の向上		
課題番号	20-708		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 成瀬 清 職名 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
	京都大学霊長類研究所	教授	今井 啓雄
	京都大学霊長類研究所	教授	岡本 宗裕
	帯広畜産大学共同獣医学課程	学部生	對馬 隆介

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ニホンザルは自然交配で容易に繁殖するが、動物園等では近親化の問題がある。また、ニホンザルは実験動物としての側面も持ち合わせており、特殊な系統の維持が必要な場合がある。これらの課題は凍結精液を用いた人工授精で解決可能であるが、これまでにニホンザルにおいて凍結精液を用いた人工授精による産子獲得の報告はない。その要因の一つとして融解後の精液性状が不良であることが考えられる。そこで凍結精液の融解後の運動性を向上させることを目的とし精液の融解方法について検討を行った。</p> <p>0.2 ml のペレットとして凍結したニホンザルの精液を 37℃に加温したガラス試験管に投入する方法、凍結に使用した保存液を 0.2 ml 入れ加温した試験管に投入する方法、もしくはペレットを乳鉢で粉砕した後加温した試験管に投入する方法で融解し、その運動性を評価した。その結果、保存液が試験管内にない場合の方が融解後の運動性が良好であり、高活力精子の存在が認められた。試験管に投入する凍結精液の形状としてはペレットと粉砕したものの間では差異は認められず、どちらも運動精子率が 35～50%であり、高活力精子率も 10～20%であった。</p> <p>0.2 ml の凍結精液ペレットを液体窒素内と -80℃の冷凍庫で保存した場合の融解後の精子運動性について評価を行った。その結果、両者において運動精子率および高活力精子率に差異はなかった。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Cryopreservation Conference において結果の一部を発表した。また今後データを加えて学術論文として投稿予定である。</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（2020年度）

2021年 4月 21日

基礎生物学研究所長 殿

報告者 所属：岩手大学
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	ラットにおけるフリーズドライ精子保存法の開発と効率化に関する研究		
課題番号	20-709		
研究期間	2020年 4月 1日 ～ 2021年 3月 31日		
所内対応者	成瀬清		
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属	職名	氏名

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究では、ラットにおけるフリーズドライ精子保存法の開発およびフリーズドライ精子を用いた効率的な産子作出法の開発を目的に研究を行った。</p> <p>フリーズドライした精子を顕微授精により受精させた卵子から、正常な産子を得ることに成功した。このことから、フリーズドライ精子保存法はラット系統のバイオリソース事業に応用できることが明らかとなったが、その作製効率は凍結精子を用いた場合に比べて低かった。このことから、引き続き作製効率向上に向けた検討を継続して行っていく予定である。</p> <p>さらに本研究では、フリーズドライした精子を受精させた卵子をゲノム編集することを試みた。受精卵への核酸導入はエレクトロポレーションによるテイク法を用いた。その結果、テイク法後の受精卵は死滅することなく効率にゲノム編集個体を作成することができた。このことから、フリーズドライ精子保存法とテイク法を組み合わせることで保存精子から新たな遺伝子改変系統の作製に応用することができる。</p>
<p>研究成果発表等の予定及び実績</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・ ゲノム編集ラット作製における保存精子・胚の活用 金子武人 Cryopreservation Conference 2020 2020年11月26～27日 ・ フリーズドライおよび凍結精子を用いたエレクトロポレーション法によるゲノム編集ラットの作製 金子武人、中川優貴 九州実験動物研究会 2020年11月14～15日 ・ 凍結およびフリーズドライ精子から作出した受精卵へのエレクトロポレーションによるゲノム編集ラット作製 中川優貴、金子武人 第67回日本実験動物学会総会 2020年5月23～25日
<p>備考</p>	<p>若手優秀発表賞受賞</p> <p>凍結およびフリーズドライ精子から作出した受精卵へのエレクトロポレーションによるゲノム編集ラット作製 中川優貴、金子武人 第67回日本実験動物学会総会 2020年5月23～25日</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2年度）

2021年 4月 28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。

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
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	20-710		
研究期間	令和2年 4月 1日 ~ 令和3年 3月 31日		
所内対応者	氏名	成瀬 清	職名 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
	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

記

(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細胞期胚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 [Fukuda et al. 2021]。また、ウサギについてもガラス化保存した胚 (1細胞期あるいは桑実期胚) についても50 $^{\circ}$ Cあるいは60 $^{\circ}$ Cの急速融解により高率で発生することが判明している。この方法は、秋田県固有種であるジャンボウザギ胚のガラス化保存が可能かどうかを検証している。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

原著論文

- 1) **Fukuda Y**, Higashiya M, Obata T, Basaki K, Yano M, Matsumura K, Ono K, Ohba T, Okamoto Y, Nishijima K, **Seki S** (Correspondence author). (2021) Small-volume vitrification and rapid warming yield high survival of one-cell rat embryos in cryotubes, *Biology of Reproduction*, in press.

	<p>国内セミナー発表 招待講演</p> <p>1) 関 信輔 (2020) 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 令和元年度秋田わか杉科学技術奨励賞受賞記念講演 令和2年度秋田産学官ネットワーク運営会議 (秋田県内会議 招待講演・記念講演)</p> <p>国内学会発表 口頭発表</p> <p>1) ○ 福田 康義, 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, 西島和俊, 関 信輔 (2020), 急速融解によるクライオチューブを用いたラット1細胞期胚ガラス化保存, 2020年11月26-27日, Cryopreservation Conference 2020, WEB開催, 口頭発表.</p> <p>2) ○ 福田康義, 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, 西島和俊, 関 信輔 (2020), 急速融解による Cryotubeを用いたラット1細胞期胚のガラス化保存, 2020年10月8-21日, 第61回 日本卵子学会学術集会, 秋田大学 WEB 会議, 口頭発表.</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（2020年度）

2020年4月8日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 信州大学 繊維学部

氏名 秋山 佳丈

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	超瞬間凍結における安定保存のための急速解凍技術の開発		
課題番号	20-711		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 成瀬 清		職名 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
	信州大学 生命医工学専攻	博士前期課程1年	渡部広機

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>我々は、インクジェット技術により微小液滴中に細胞を内包し、液体窒素冷却された基板に吐出することで超瞬間的に凍結し、凍結保護剤を用いずに生体試料を凍結保存する技術を開発してきた。本研究では、解凍後の生存率向上とバラつきの低下を目的として、ねじりばねによる回転を利用した自動解凍装置を開発し、その評価を行った。</p> <p>ハイスピードカメラを用いた観察より、本装置は約 20 ms で、凍結した細胞を載せた基板を解凍培地に投入できることが確認された。さらに、このときの運搬速度を元に、有限要素解析による熱流体シミュレーションを行った。その結果、細胞を含む凍結液滴の温度は-190℃付近を維持しており、凍結保存に必要なガラス化状態を維持できることが確認できた。最後に、マウス線維芽細胞を用いた凍結解凍実験を行った結果、その細胞生存率は、手動運搬による解凍よりも 8.7 %向上し、従来法 (DMSO 10 %を用いた緩慢凍結法) 比べても同等以上となった。さらに、生存率のばらつき (標準偏差) も手動解凍と比べて小さくなった。以上より、開発した自動解凍装置は、凍結保護剤フリーで凍結された細胞内包液滴の解凍操作に有用であることが示された。</p> <p>今後は、本技術を、従来凍結保存困難だったバイオリソースの凍結保存実現に向けて応用していきたい。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>論文</p> <ul style="list-style-type: none"> ● H. Watanabe, Y. Akiyama, Improved and reproducible cell viability in the superflash freezing method using an automatic thawing apparatus, <i>Cryobiology</i>, 96, 12-18, 2020. <p>学会発表</p> <ul style="list-style-type: none"> ● H. Watanabe, Y. Akiyama, Development of automatic thawing apparatus for cryoprotectant-free cryopreservation, Cryo2020 2020(Jul. 22). ● 渡部, 秋山, 超瞬間細胞凍結法のための自動解凍装置開発と熱解析による評価, ロボティクス・メカトロニクス 講演会 2020, 7-1P1, 2020(May 28) ● 渡部, 秋山, 凍結保護剤フリーで凍結された細胞のための自動解凍装置開発とその有用性の検証, Cryopreservation Conference 2020, 14, 2020(Nov. 27)
<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）

2021年6月15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 福澤 秀哉

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれかを選択してください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	実用珪藻ツノケイソウ <i>Chaetoceros gracilis</i> の凍結保存法の確立		
課題番号	20-712		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 成瀬 清 職名 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
	京都大学大学院生命科学研究科	講師	山野 隆志
	京都大学大学院生命科学研究科	助教	辻 敬典

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>ツノケイソウ <i>Chaetoceros gracilis</i> の凍結保存における条件を検討した。最初に、凍結保護剤を用いずに、市販の細胞凍結容器（ミスターフロスティ）とディープフリーザーを用いて培養液を緩やかに凍結する手法を試した。この手法では、1 mL の凍結培養液（$0.5\sim 1.0\times 10^6$ の細胞に相当）から、最大でも数個しかコロニーが出現しなかった。特に我々が作出した形質転換株は、これまで寒天培地上で継代培養されてきたが、凍結後には、コロニーの形成は認められなかった。そこで次に、緑藻クラミドモナスで確立されているメタノールを凍結保護剤として用いる手法を野生株のツノケイソウについて試みた。その結果、1 mL（$0.5\sim 1.0\times 10^6$ の細胞に相当）の凍結培養液から、最大で 73 個のコロニーが得られた。しかし、この手法においても、サンプル間でのコロニー出現頻度のばらつきが大きく、複数回の実験において凍結から復帰しないケースがあった。さらに、野生株に形質転換を行い得られた光合成関連遺伝子の過剰発現株で同様の手法を試みたが、使用した形質転換体は凍結からの回復が認められなかった。</p> <p>ツノケイソウの野生株は緑藻における条件を用いることで、ある程度は凍結保存が可能ではあるが、その条件は形質転換株には適用が困難なレベルで、最適化されていないことが判明した。今後、細胞の培養ステージや、凍結保護剤の種類ならびに濃度、降温速度の検討が必要である。以上の検討を行って、条件を最適化することで、再現性の高い凍結保存手法の確立を目指す。</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（2020年度）

2021年4月28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	野蚕の超低温保存方法の開発		
課題番号	20-714		
研究期間	2020年4月1日 ～ 2021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>大型絹糸昆虫（野蚕）は継代が容易ではなく、野蚕を安定して維持できるようにするために長期保存技術の確立が必要である。一方、カイコでは幼虫の卵巣を用いた超低温保存方法が確立されている。カイコで用いられる超低温保存方法を参考に、野蚕の超低温保存の可能性を検証した。</p> <p>野蚕としてサクサンおよびその近縁種であるヤママユガを用いた。それぞれの幼虫から摘出した生殖巣を緩慢凍結により液体窒素下で保存し、昇温後、宿主となるサクサンに移植して有効性を評価した。サクサンでは卵巣の超低温保存と移植が可能であることが明らかになった。一方、ヤママユガでは超低温処理した卵巣を移植した個体で造卵がほとんど確認できないことが明らかになった。また、超低温保存した精巣の移植に関しては、サクサンおよびヤママユガのどちらにおいても移植精巣の発育が著しく抑制されていることが判明した。幼虫生殖巣を用いた超低温保存方法は昆虫種によってその有効性が異なることが判明し、昆虫種ごとに適した条件検討の必要性が示された。今後は、移植した精巣が発達できるような保存液および保存方法の改良を行なう。また、移植後の飼育を容易に行なうためにサクサンを移植の宿主として用いたが、ヤママユガ生殖巣の移植では異種間移植となったために移植生殖巣の発達が抑制された可能性が考えられる。ヤママユガを宿主として移植を行ない、異種間移植の有効性についても検討する。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>カイコで開発した生殖巣を用いた長期保存がサクサンの雌に関しては可能であることが判明する成果を得ている。現時点では雄の精巣に対しては有効な結果が得られていない。操作方法、凍結保存試薬の検討を行なっている。それらの結果を得た上で成果を発表する予定である。</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（2020年度）

2021年4月28日

基礎生物学研究所長 殿

(報告者)

所属 農研機構遺伝資源研究センター

氏名 田中大介

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input checked="" type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	高極性有機イオンを用いた画期的ガラス化保存法の開発		
課題番号	20-717		
研究期間	2020年 4月 1日 ~ 2021年 3月 31日		
所内対応者	氏名 成瀬 清 職名 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
	農研機構遺伝資源研究センター	上級研究員	田中大介
	基礎生物学研究所 IBBP センター	特任教授	成瀬 清
	金沢大学理工学域理工学類	准教授	黒田浩介

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>新規超低温保存を開発する上で、凍結保護物質開発が急務である。我々は、高極性有機イオンの一種であるイオン液体に着目し、画期的な凍結保護物質開発を目標に研究を行った。イオン液体は水と強く相互作用するため、DMSOと同様に氷晶形成を抑制できることが期待されるが、一般的なイオン液体は細胞に対して高い毒性を示すことが知られている。イオン液体のアニオンとカチオンを共有結合で繋ぎ、zwitterion化することによって細胞膜との相互作用を抑制した細胞毒性の低い凍結保護物質（候補）を見出した。zwitterionを利用することで、例えばヒト線維芽細胞や Madin-Darby Canine Kidney 細胞、PC9 がん細胞を高効率で凍結保存することができた。その効率は一般的な市販の凍結保存剤（CultureSure, Fujifilm-Wako）と比較して遜色ないものであった。驚くべきことに、本凍結保存剤は zwitterion 10%と水 90%を混ぜるだけで高い凍結保存効果を示し、その他の培地成分や血清などは必要ないことが分かった。この zwitterion 含有凍結保存剤の効果を高め、様々な細胞等へ適用していくことが次の展開となる。</p>
<p>研究成果発表等の予定</p>	<p>Acta Biomaterialia（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。

研究会

20-801 ミクロ研究とマクロ研究を繋ぐ双方向的な基礎生物学研究の基盤形成：動物行動学を軸とするアプローチ

西海 望 基礎生物学研究所 神経生理学研究室

基礎生物学研究所共同利用研究実施報告書（令和2年度）

令和3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
 神経生理学研究室
 氏名 西海 望

下記のとおり実施しましたので報告します。

記

種別 (いずれか を選択して ください)	<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"/> 大型スペクトログラフ共同利用実験 <input type="checkbox"/> 生物遺伝資源新規保存技術開発共同利用研究 <input checked="" type="checkbox"/> 研究会 <input type="checkbox"/> トレーニングコース実施		
研究課題	マイクロ研究とマクロ研究を繋ぐ双方向的な基礎生物学研究の基盤形成：動物行動学を軸とするアプローチ		
課題番号	20-801		
研究期間	コロナ禍により、研究会は実施されなかった。		
所内対応者	氏名	阿形清和	職名 所長
分担者（研究会は参加者） (※人数が多い場合は別紙として作成の上、添付してください。)	所属		職名
	(別紙参照のこと)		氏名

(裏面に続く)

<p>研究成果の概要及び今後の展望</p>	<p>本研究会は、コロナ禍の影響により開催を次年度へ延期することとなった。延期に至るまでの経緯および準備の進行に関して、以下に報告する。</p> <p>まず、コロナ情勢の悪化に対応する形で、2020年4月4日にコロナ禍対応のガイドラインを策定した。本ガイドラインではコロナ情勢に応じて各種想定と対応を示し、全講演者と意思統一を図ると共に、スケジュールの調整を行った。そして同年12月時点で集会可能な情勢でなかったため、ガイドラインに沿って、当年度の全集会の開催を取り止め、次年度に延期する決定を行った。以上のように、全体方針を早くに打ち出すことができたため、混乱なく対応ができ、講演者から好評であった。</p> <p>開催に向けた準備としては、研究会のウェブサイト[1]を開設し、講演プログラムと要旨の掲載を行った。また、所外の研究者や学生にも周知し、研究会案内用のメーリングリストへの登録を進めた。そして、本研究会はオンライン開催を前提にしつつ、オンライン配信も行うものであったため、オンライン配信の予行練習を実施した。この他、上記ガイドラインにおける想定に対応できるよう予め会場内人員配置、動線、参加者登録、会計処理等の仕組みを早い段階から準備しシミュレーションを行った。</p> <p>今後は、2021年度に本研究会を開催できるように、様々な準備や関係者間の調整を進めていく。2020年度は行事のオンライン化が全国的に進んだため、講演やその後の懇親会などをオンラインで実施するノウハウが蓄積し、またオンライン開催への参加者の理解も得られるようになってきたと言える。そこで、2021年度はオンライン開催にこだわることなく、たとえオンライン開催のみでも確実に実施し成功させることを目指す。</p> <p>[1] https://sites.google.com/view/nibb-ethology/研究集会</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。