



大学共同利用機関法人 自然科学研究機構

基礎生物學研究所要覽 2004

NATIONAL INSTITUTE FOR BASIC BIOLOGY



www.nibb.ac.jp

Contents

- 01 はじめに

- 02 概要
- 04 沿革
- 05 運営
- 06 組織

- 08 研究活動
- 56 研究施設
- 60 技術課
- 62 岡崎共通研究施設
- 64 共通施設

- 66 総合研究大学院大学
- 68 大学院教育協力
- 69 生物学国際高等コンファレンス
- 70 基礎生物学研究所コンファレンス
- 71 共同研究活動

- 76 岡崎共通施設
- 77 研究所の概要
- 78 自然科学研究機構岡崎統合事務センター

- 交通案内



基礎生物学研究所は、平成16年4月1日から国立大学法人法による大学共同利用機関法人・自然科学研究機構が設置する大学共同利用機関として、新たに発足しました。自然科学研究機構は、省令に明記された5つの大学共同利用機関（国立天文台、核融合科学研究所、基礎生

物学研究所、生理学研究所、分子科学研究所）によって構成されています。

四半世紀の歴史を持つ、岡崎国立共同研究機構は消滅し、3研究所は自然科学研究機構が設置した大学共同利用機関になりました。しかし、3研究所には切っても切れない岡崎のキャンパスがあります。共通研究施設もありますし、独立に運営をすべき事務と、共通に運営することによって効率が上がり節約になる事務内容があります。これらは今から時間をかけて作っていくことになりました。

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

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

基礎生物学研究所では、創設後の基礎生物学の大きな進展に伴い、研究所発足当時から続いてきた3つの研究系と形質統御実験施設とを見直し、すべての教授研究室を独立の部門とすることにしました。また、施設・センターに所属する助教授、助手については、支援事業を主とするとともに、それに不可欠な基盤研究を行っていることから、それぞれを研究室として分野を表示しました。さらに今後1年の検討期間を設け、今後10年間を見通した

大きな研究領域を設定し、それを実現するためのプロジェクト遂行組織を構築する予定です。そして、そこでは、基生研の部門の他に国内国外との共同研究を実行できるものになりたいと考えています。

岡崎3機関の共通研究施設である統合バイオサイエンスセンターのうち、基礎生物学研究所と密接な関連をもつ3教授、1助教授部門については、基礎生物学研究所の一部として一体的な運営に協力します。またアイソトープ実験センターは、これも引き続き基礎生物学研究所が責任を持って運営に当たります。

当研究所の目的は、生物現象の営みの基礎となる諸現象について、それらの物質的な基礎とその作用機構を追求することにあります。しかし、一口に基礎的な生物現象といっても細胞の増殖や分化、生物の形の成り立ち、環境の変化や、外界の刺激に対する生物の反応など実に多様です。また、一つ一つの現象を追求するためには、それらにふさわしい実験システムや研究材料を選ばなければなりません。生物学に於いては、バイオリソースの選択と開発、その国際的な自由な交換が重要である理由です。さらに現代の科学に於いては、DNA・タンパク質のデータベースなどの大量情報の活用が必要になってきました。これらもバイオリソースとして国の施策に取り上げられてきましたので、生きたリソースを中心に、我々も十分な貢献をしたいと企画を練っています。

また現在は、基礎生物学にとって、新しい分野を開拓すべき時を迎えています。ゲノムやポストゲノムと言われる要素還元型の方法論が次々と開発されていますが、生物現象の多くはこれらの要素の性質によって説明できるほど単純ではないことも明らかです。ゲノムやポストゲノムの発展をしっかりと理解し、見据えた上で、生物学の問題を発見し、それを課題に変えて研究を進めるのが私たちの役割です。この問題発見こそ、学問の最も重要なことですが、それには、それぞれの分野で優れた人たちが、解決しようとする問題を設定し、1か所に集まり、人間的な接触を通して徹底的に討論することが、良い方法です。最近では、「複雑系」や「自己組織化」を課題に設定したサンタフェの会議が有名ですが、生物学にもそのようなときが来たと考えられます。基礎生物学研究所では、これを「生物学国際高等コンファレンス：Okazaki Biology Conferences」という仕組みを作って実践することにしました。昨年度は第1回として「絶滅の生物学：Biology of Extinction」を行い、今年度は2回を予定しています。

制度がどの様に変わろうと、これからも生物学に新しい視点を加える発見や理解の方法の創造において、従来と変わるところのない学問に対する自由な姿勢を堅持しながら、新しい生物学の樹立に貢献するつもりです。

基礎生物学研究所長 勝木元也

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

組織の概要

設置形態

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

運営組織

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

事務組織

研究所の事務は、自然科学研究機構岡崎統合事務センターが処理する。

組織

22 研究部門、11 研究室 2 研究施設及び 1 研究センターと技術課を置いている。全国の大学の教員その他の者で、研究所の目的たる研究と同一の研究に従事する者も利用に供するとともに共同研究を行う。



研究体制の概要

基礎生物学研究所における研究

基礎生物学研究所は設立以来 20 余年を経たが、その間、平成 12 年度には岡崎国立共同研究機構全体の共通研究施設として、統合バイオサイエンスセンターの設置が認められ、その中の時系列生命現象（発生・分化・再生）ならびに生命環境の研究領域には、基礎生物学研究所と密接な関連をもついくつかの分野がある。平成 16 年 4 月に大学共同利用機関が法人化されたのを機会に、基礎生物学研究所および統合バイオサイエンスセンターの上記関連研究領域における研究体制の大幅な見直しを行った。その骨子は、基礎生物学研究所における基盤研究を一層充実させることにあり、そのために研究部門を再編成するとともに、新たに研究室を設けることとした。このうち「研究部門」については、従来どおり教授のリーダーシップの下に基盤研究を推進する研究グループであるが、その名称については現在の基礎生物学分野を考慮しつつ、実際の研究活動を反映したものに改めた。一

方、「研究室」は、施設やセンターなどに所属する個々の研究者から構成される比較的小さな研究グループである。研究部門と研究室は研究単位であり、いわば研究の現場であるが、それらの研究活動の実績と現状は「研究活動」の項に述べてある。22 研究部門と 11 研究室とをさらに 6 研究領域に分類したが、これらは中期計画のなかで、今後さらに強化、発展させる必要があると判断された基盤研究領域と一致する。

上記の研究体制見直しによる基盤研究の充実と柔軟な研究協力体制の構築は、研究所をあげての新たな研究プロジェクト創設のための堅固な基盤となる。国際的に重要かつ緊急に進展させる必要のある基礎生物学のプロジェクトについて、研究領域、部門、室の枠を越えた研究プロジェクトを実施する。基礎生物学研究所における研究基盤が整い、緊急に取り組む必要がある 2-3 件の重要課題について、所内のみならず国内外からの研究者の協力も仰ぎつつ強力に推進する。

共同利用

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

●グループ共同研究・個別共同研究

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

●共同利用実験

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

総合研究大学院大学

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

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

国際交流

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

基礎生物学研究所コンファレンス

平成9年度まで特定研究経費により、国際研究集会として「基礎生物学研究所コンファレンス」を毎年開催して40回に及んだ。しかし特定研究が平成9年度限りで打ち切られたため、平成10年度からは国際シンポジウム（COE）及びリーダーシップ支援経費を活用して、年2回の「基礎生物学研究所コンファレンス」を続けていくこととなった。すでにこの線に沿って9回のコンファレンスが国内外多数の研究者の参加を得て行われている。

生物学国際高等コンファレンス

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

●研究会

基礎生物学及びその関連分野での緊急かつ重要なプロジェクトについて現状分析を行うと共に、将来の具体的研究計画を討議し、研究推進のための国内及び国際的研究体制確立に寄与する。

●施設利用

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

以上の共同研究（グループ共同研究、個別共同研究）及び研究会並びに、共同利用実験、施設利用は年1回、研究課題を公募している。

大学院教育協力

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

昭和55年 4月 細胞生物学研究系に細胞情報研究部門設置。

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

昭和57年 4月 発生生物学研究系に形態形成研究部門設置。

昭和58年 4月 発生生物学研究系に発生生物学研究部門設置。

昭和63年 4月 制御機構研究系に遺伝子発現統御研究部門設置。

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

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

平成4年 4月 形質統御実験施設に**種分化機構第一研究部門**設置。

平成8年 5月 形質統御実験施設に**種分化機構第二研究部門**設置。

平成10年 5月 形質転換生物研究施設設置。

平成11年 4月 生命環境科学研究センター設置。

平成12年 4月 アイソトープ実験施設、生命環境科学研究センター廃止。
共通研究施設として、**統合バイオサイエンスセンター**、**計算科学研究センター**、**動物実験センター**、**アイソトープ実験センター**設置。

平成13年 4月 情報生物学研究センター設置。

平成16年 4月 **大学共同利用機関法人自然科学研究機構**創設。
国立大学法人法の施行により、国立天文台、核融合科学研究所、基礎生物学研究所、生理学研究所及び分子科学研究所が統合再編され、大学共同利用機関法人自然科学研究機構となった。岡崎国立共同研究機構管理局が大学共同利用機関法人自然科学研究機構岡崎統合事務センターとなった。
3研究系の廃止とともに研究部門名を変更し、新たに研究室を設けた。



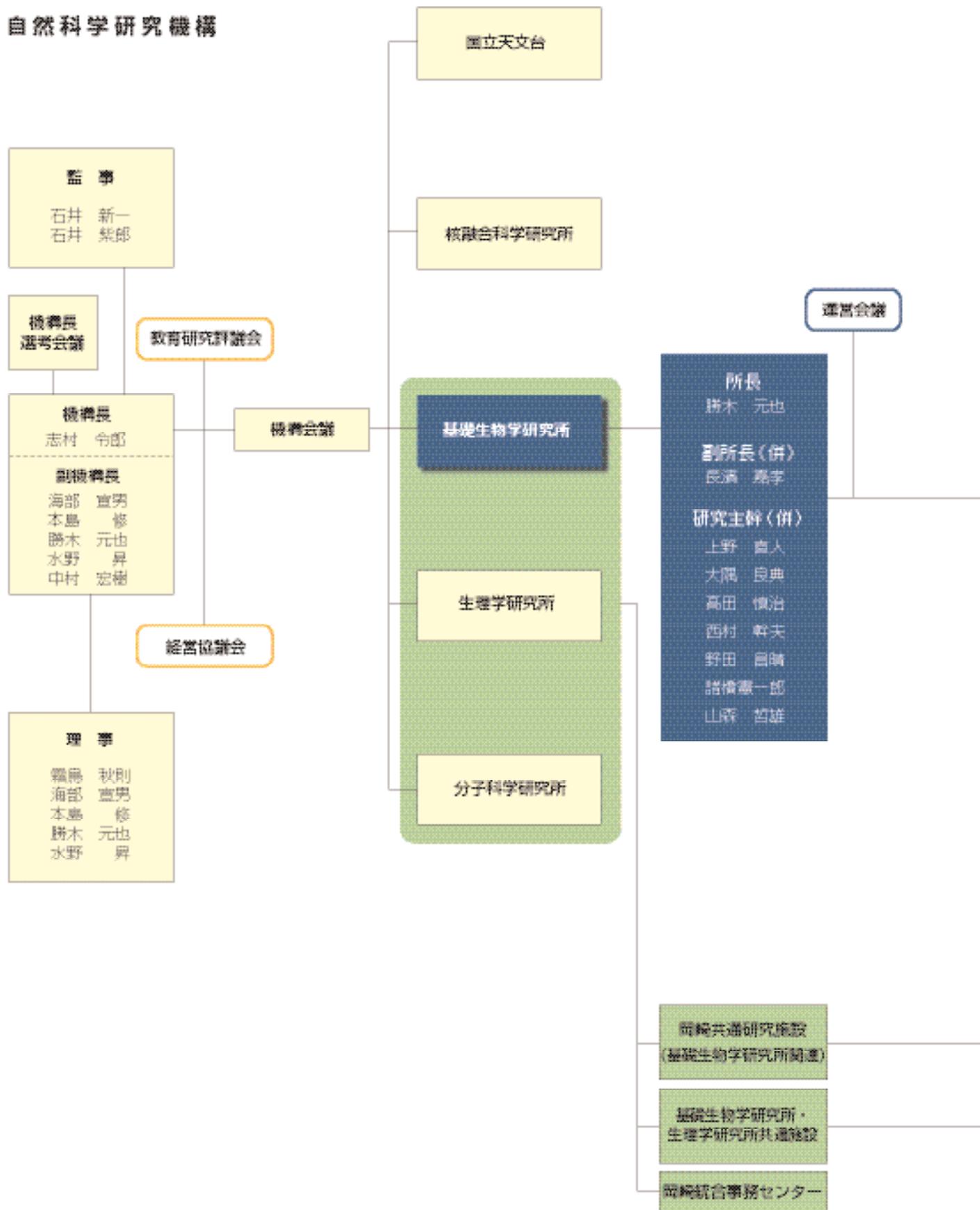
運営会議

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

※◎は議長，○は副議長

相澤 慎一	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター グループディレクター
岡田 清孝	京都大学大学院理学研究科 教授
黒澤 良和	藤田保健衛生大学総合医科学研究科 教授
米田 好文	東京大学大学院理学系研究科 教授
近藤 壽人	大阪大学大学院生命機能研究科 教授
相賀 裕美子	情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所系統生物研究センター 教授
瀬原 淳子	京都大学再生医科学研究科 教授
○ 町田 泰則	名古屋大学大学院理学研究科 教授
村上 富士夫	大阪大学大学院生命機能研究科 教授
和田 正三	東京都立大学大学院理学研究科 教授
飯田 滋	分子遺伝学研究部門 教授
上野 直人	形態形成研究部門 教授
大隅 良典	分子細胞生物学研究部門 教授
高田 慎治	分子発生学研究部門 (岡崎統合バイオサイエンスセンター) 教授
◎ 長濱 嘉孝	生殖生物学研究部門 教授
西村 幹夫	高次細胞機構研究部門 教授
野田 昌晴	統合神経生物学研究部門 教授
長谷部 光泰	生物進化研究部門 教授
堀内 嵩	ゲノム動態研究部門 教授
諸橋 憲一郎	性差生物学研究部門 教授
山森 哲雄	脳生物学研究部門 教授

自然科学研究機構



研究部門・研究室

細胞生物学領域

- 高次細胞生物学研究部門
- 分子細胞生物学研究部門
- 細胞増殖研究部門
- 細胞情報研究部門
- 細胞社会学研究室

発生生物学領域

- 発生生物学研究部門
- 性差生物学研究部門
- 形態形成研究部門
- 発生遺伝学研究室
- 発生生物学研究部門
- 発生制御学研究室
- 発生遺伝学研究室

神経生物学領域

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

進化多様性生物学領域

- 分子遺伝学研究部門
- ノミ進化研究部門
- 生物進化研究部門
- 形態多様性研究室

環境生物学領域

- 環境適応研究部門
- 分子環境生物学研究部門
- 植物発生遺伝学研究部門
- 光環境学研究室
- ストレス応答機研究

遺伝生物学領域

- 理論生物学研究部門
- ゲノム情報研究室
- 客員研究部門
- 所長研究室

研究施設

培養育成研究施設

形質転換生物研究施設

情報生物学研究センター

技術補課

- 細胞培養培養室
- 人工気象室
- 下等真核細胞培養室
- 大型スベクトログラフ室
- 電子計算機室

階層統合バイオサイエンスセンター

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

計算科学研究センター

動物実験センター

アイントープ実験センター

- 分析室
- 洗滌室

- 電子顕微鏡室
- 機器研究試作室
- 低温・冷凍実験室

名誉教授

- 太田 行人
- 中 研一
- 岡田 節人
- 藤田 善彦
- 江口 吾朗
- 竹内 郁夫
- 鈴木 豊昭
- 毛利 秀雄

名誉技官

- 服部 宏之



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

ペルオキシソームの機能変換

暗所で発芽した幼植物体は光照射により緑化し、光合成によって成長に必要なエネルギーを得ることになる。この緑化過程には、クロロプラストの発達のみならず、他の構成オルガネラの機能も大きく変動する。一重膜に囲まれたオルガネラであるペルオキシソームでは、糖新生に関与するグリオキシソームが光合成に関与する緑葉ペルオキシソームへと変換する。一方、セネッセンス（老化）時には、緑葉ペルオキシソームからグリオキシソームへの全く逆の機能転換が起こることを見だし、このペルオキシソームの機能変換が可逆的であることを明らかにしている。これまで、このペルオキシソーム機能変換の可逆性を支える新規の機能分

子を同定するとともに、この機能変換がペルオキシソーム酵素の遺伝子発現、mRNAのスプライシング、細胞内輸送、ペルオキシソーム内でのタンパク質分解という各段階で調節されていることを示してきた。また、シロイヌナズナのペルオキシソーム機能欠損変異株（文献2）やペルオキシソーム形態不全変異株（図1）を用いたペルオキシソーム機能分化の解析や、ペルオキシソーム形成の鍵となるペルオキシソームタンパク質群の機能解析に加え、高純度に精製したシロイヌナズナのペルオキシソームを用いたプロテオーム解析によりペルオキシソームの構成成分を網羅的同定し、ペルオキシソーム局在タンパク質の組織別発現マップを作成している。さらにゲノム配列から推測されるペルオキシソーム局在タンパク質遺伝子のマイクロアレイを独自に作製し、それを用いて各組織における遺伝子発現プロファイルを明らかにしている（文献4）。これらポストゲノム解析から、ペルオキシソーム機能分化に関わるタンパク質リン酸化酵素や新規代謝系の存在が明らかにされつつある。

また、植物細胞構築の仕組みを解明するために、プラスチックド、ペルオキシソーム等のオルガネラに局在する分子シャペロンに着目し、タンパク質の細胞内輸送、

アセンブリー及びオルガネラ分化におけるこれらの分子シャペロンの役割を解析している。その中で葉緑体には2種のシャペロン型分子シャペロンが存在し、機能分担していることを明らかにしている（文献3）。

液胞の機能変換

高等植物の液胞は形態的にも機能的にも大きく変動する能力を備えている（文献1）。これらの液胞の機能変換機構の解明について研究を進めている。登熟期の種子には、2Sアルブミンなどの貯蔵タンパク質を蓄積するタンパク質蓄積型液胞が存在している。このタンパク質蓄積型液胞への貯蔵タンパク質の輸送に特殊な小胞が関与していることを見出し、

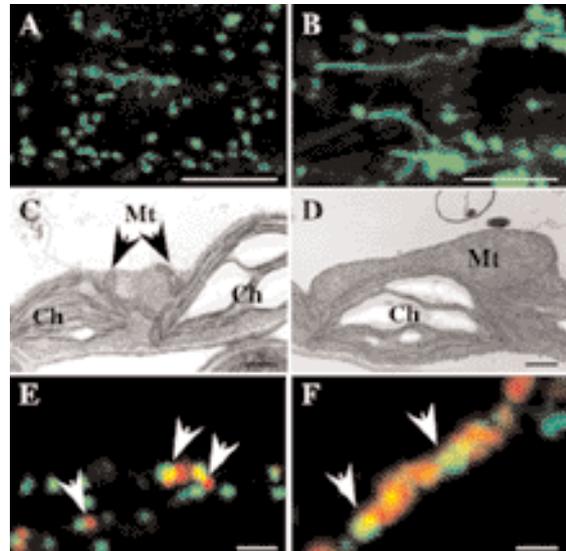


図1 ダイナミンタンパク質 DRP3A はペルオキシソームとミトコンドリアの両オルガネラの分裂に関与する

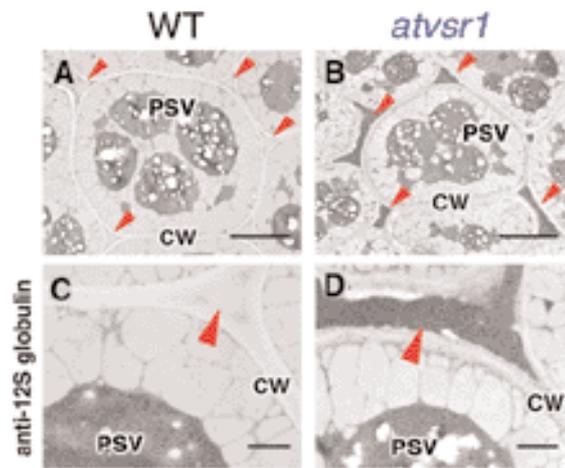
(A, C) コントロールの親株、(B, D) *apm1/drp3a* 突然変異体。GFP でペルオキシソームを可視化すると通常は粒状に観察される (A)。*apm1/drp3a* 変異体では、ペルオキシソームの分裂が抑制され長いペルオキシソームが観察される (B)。この変異体では、同時にミトコンドリアの分裂も抑制されており、親株 (C) に比べ巨大なミトコンドリアが観察される (D)。DRP3A タンパク質と GFP との融合遺伝子を発現させると (E, F) における緑のシグナル、ペルオキシソーム (E, 赤) とミトコンドリア (F, 赤) に共局在する (矢頭)。バーは、(A), (B) が 50 μm 、(C), (D) が 1 μm 、(E), (F) が 10 μm 。Mt; ミトコンドリア、Ch; 葉緑体。

PAC (precursor-accumulating) 小胞と命名した。PAC小胞には種子貯蔵タンパク質を液胞へ輸送するための液胞輸送レセプターと推測される膜タンパク質 (Vacuolar sorting receptor) が存在する。シロイヌナズナには7つのホモログが存在するが、そのうち *AtVSR1* 遺伝子が欠損した *atvsr1* 変異体では、種子貯蔵タンパク質が前駆体として細胞外に分泌、蓄積しており、*AtVSR1* が種子貯蔵タンパク質を液胞へ輸送するための液胞輸送レセプターとして機能することが初めて示された (図2)。

また、小胞体残留シグナルを付加した緑色蛍光タンパク質をシロイヌナズナに発現させることにより、小胞体由来の新規オルガネラ、ERボディを同定した。ERボディはシロイヌナズナを含むアブラナ科に特異的に観察される長さ $5 \mu\text{m}$ 、幅 $0.5 \mu\text{m}$ の巨大な葉巻型の構造をしており、食害防御等に関与している。ERボディが形成されない *nai1* 変異体の解析から、小胞体残留シグナルをもつ β -グルコシダーゼがERボディに大量に蓄積していることが明らかとなった。現在、ERボディの誘導、形成、崩壊に関与する因子の単離、解析を試みている。

液胞プロセシング酵素 (VPE) はアスパラギン残基のC末端側を特異的に切断するプロセシング酵素で、液胞タンパク質の成熟化に関与してい

る。シロイヌナズナより3つのVPEホモログ (α VPE, β VPE, γ VPE) を同定し、それぞれのVPEの欠損株を単離した。 β vpe変異体では少量の種子貯蔵タンパク質が前駆体として蓄積していた。一方、 α vpe/ β vpe/ γ vpe三重変異体では、ほとんどの種子貯蔵タンパク質が前駆体として蓄積していた。このことから、3つのVPEが協調して種子貯蔵タンパク質のプロセシングを行っていることが明らかとなった。また、VPEがウィルス感染で誘導される植物の過敏感細胞死に関与することが判明した (文献5)。さらに、動物におけるVPEの機能を明らかにするため、VPE欠損マウスを作製した。VPE欠損マウスでは、カテプシンB, H, L等リソソームの分解酵素のプロセシングが阻害され、分解されなかった物質の蓄積によりリソソームが巨大化していた。このことから、VPEはリソソームにおける分解機能に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。



参考文献

1. Nishimura, M. and Beevers H. (1989) Hydrolysis of protein in vacuoles isolated from higher plant tissue. *Nature* **277**, 412-413.
2. Hayashi, M., Nito, K., Toriyama-Kato, K., Kondo, M., Yamaya, T. and Nishimura, M. (2000) AtPex14 maintains peroxisomal functions by determining protein targeting to three kinds of plant peroxisomes. *EMBO J.* **19**, 5701-5710.
3. Koumoto, Y., Shimada, T., Kondo, M., Hara-Nishimura, I. and Nishimura, M. (2001) Chloroplasts have a novel Cpn10 in addition to Cpn20 as co-chaperonins in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* **276**, 29688-29694.
4. Kamada, T., Nito, K., Hayashi, H., Mano, S., Hayashi, M. and Nishimura, M. (2003) Functional differentiation of peroxisomes revealed by expression profiles of peroxisomal genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* **44**, 1275-1289.
5. Hatsugai, N., Kuroyanagi, M., Yamada, K., Meshi, T., Tsuda, S., Kondo, M., Nishimura, M., and Hara-Nishimura, I. (2004) A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. *Science* **305**, 855-858.

図2 *atvsr1* 変異株では種子貯蔵タンパク質が細胞外に放出される

野生株 (A, C) と比較して *atvsr1* 変異株 (B, D) では細胞間隙 (矢頭) が広くなり、種子貯蔵タンパク質と思われる電子密度の高い物質で満たされている。免疫電子顕微鏡観察 (C, D) から、12S グロブリンが野生株では液胞に蓄積するのに対し、*atvsr1* 変異株では細胞間隙に放出されていることがわかる。バーは、(A)、(B) が $5 \mu\text{m}$ 、(C)、(D) が $1 \mu\text{m}$ 。PSV はタンパク質蓄積型液胞、CW は細胞壁を示す。

STAFF



西村 幹夫 教授
林 誠 助教授
真野 昌二 助手
山田 健志 助手
鎌田 知江 研究員
陸田 径典 研究員

技術課技術職員
近藤 真紀

特別共同利用研究員
小笠原 希美

博士研究員

二藤 和昌
新井 祐子
黒柳 美和

技術支援員

中森 ちひろ
義則 有美
鈴木 育
八木 美奈

総合研究大学院大学院生

初谷 紀幸

事務支援員

上田 千弦



www.nibb.ac.jp/enehen/index-j.html

分子細胞生物学研究部門

自自然界において、生命体は常に栄養の枯渇の危険性に晒されており、飢餓環境下にかいに生き延びるかは、極めて重要な問題である。オートファジー（自食作用、Autophagy）はそのような栄養飢餓に対する適応機構の1つであり、広く真核生物に保存されている。生物は外界の栄養源の飢餓を感知すると、自己細胞の細胞質の構成成分やオルガネラをリソソーム/液胞内で分解し、その分解産物をリサイクルして飢餓耐性のための細胞の再構築に用いる。オートファジーの生理的な役割は未知の領域であり、現在様々な系で解析が進められている。例えば我々の肝細胞では、空腹時に活発なオートファジーが誘導され、血糖値の維持が図られている。酵母細胞では、窒素源の枯渇を引き金として胞子形成が誘導されるが、このように細胞内の構造を大きくつくりかえるためには既存のタンパク質の大規模な分解が不可欠であり、オートファジーは、このようなタンパク質分解を担っている。我々の研究室はオートファジーの分子機構解明を目指して様々な視点から研究を進めている。

モデル細胞、酵母のオートファジー

酵母細胞は栄養飢餓にตอบสนองしてオートファジーを誘導する（図1）。酵母のオートファジーは窒素（アミノ酸）、炭素、イオウ、リンなど様々な飢餓によって誘導される。

オートファジーをめぐる最大の課題はオートファジーに伴う膜動態の解明である。オートファジーの膜動態は従来解析が進んできた小胞輸送系

とは明らかに異なっており、細胞内に新たなコンパートメント、オートファゴソームを形成する過程が誘導される。細胞質の一部を取り囲む二重膜のオートファゴソーム膜が何に由来し、どのように形成されるのか、オートファゴソームがいかにして液胞/リソソームと特異的に融合するのか、オートリソソーム内でなぜオートファジックボディ膜が容易に分解されるのか、オートファジーの進行がどのように制御されているのかなど、興味深い課題が山積しており、我々の研究は常に挑戦を求められている。液胞内の分解機構はさらに多様であり、本来非選択的と考えられるオートファジーが、選択的な分解やオルガネラ分解に係わる可能性についても解析が進められている。

オートファジーに関する APG 遺伝子群

酵母は遺伝学的な手法に優れ、細胞内の複雑な現象を分子レベルで理解する上で先導的な役割を果たして

きた。我々はオートファジーの分子機構を解明するため、酵母オートファジー不能変異株（*apg* 変異株）を分離し、それをもとに、オートファジーに関わる15個のAPG遺伝子を同定した。現在これらオートファジー関連遺伝子をATGと呼ぶことが国際的に合意されている。これらの遺伝子産物（Atgタンパク質）の解析を進めた結果、Atgタンパク質が4つの機能群を形成していることが明らかとなった。これらはユビキチン様のタンパク質修飾システム（後述）、タンパクキナーゼ複合体、ホスファチジルイノシトール3リン酸キナーゼ複合体などからなり、全ての反応系が正常に動作することがオートファジーの進行に必須である。しかし、それぞれの反応系がどのように相互作用して最終的にオートファゴソーム形成に働いているのかは未だほとんど分かっていない。我々はAtgタンパク質の空間的局在を調べ、多くのAtgタンパク質がPre-autophagosomal structure (PAS)

と呼ばれる液胞近傍の領域に集積していることを示した。現在、Atgタンパク質間の機能ネットワークを明らかにすべく、オートファジーに関わる因子間の遺伝的・物理的相互作用の解析を進めている。またこれらタンパク質の構造機能相関にも焦点を当てた研究を進めている。

オートファジーに必須なユビキチン様タンパク質

我々は4つのAtgタンパク質が新しいタンパク質の結合反応に関与していることを見出した。Atg12タンパク質（Atg12p）はC末端の

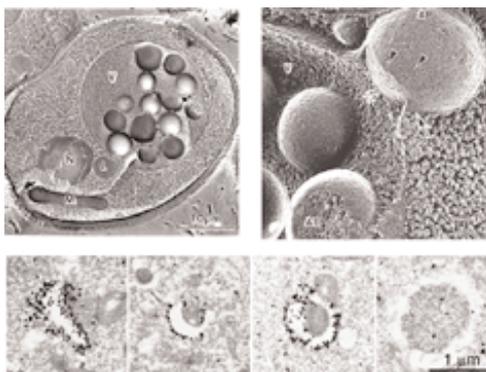


図1 飢餓条件下の液胞蛋白分解酵素欠損株のフリーズレプリカ像

(上) 液胞内に細胞質の一部を囲んだ球形の膜構造、オートファジックボディが多数蓄積する。

(右) 細胞質に形成された二重膜構造、オートファゴソームはその外膜で液胞膜と融合し液胞内にオートファジックボディを放出する。オートファゴソームの膜は、内膜にほとんど膜内粒子が認められない特異な構造をしていることが判る。

(下) Atg5の免疫電顕による動物細胞のオートファゴソーム形成過程

Gly 残基を介して Atg5p の中央にある Lys 残基の側鎖とイソペプチド結合を形成する。この結合体の生成はオートファジーの進行に必須である。Atg12p はユビキチンと相同性はないが、その反応はユビキチン経路と類似の反応からなっており、Atg7p、Atg10p はその Atg12p の活性化 (E1 酵素) と結合反応 (E2 酵素) に関与している (図2)。第2のユビキチン様タンパク質 Atg8p は、プロテアーゼ Atg4p によって C 末端 Arg が切断された後 Atg7p によって活性化を受け、特異的 E2 酵素 Atg3p に結合した後、最終的にリン脂質ホスファチジルエタノールアミンに結合する (図2)。これら2つの新しいユビキチン様反応系は真核生物に広く保存されている。現在この結合体の形成が自食作用のどの過程で機能しているかに注目して解析を進めている。

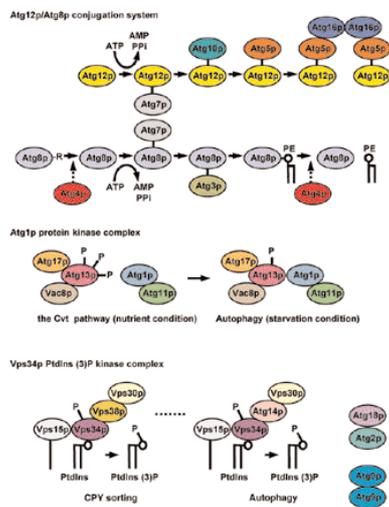
酵母から高等動物へ

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

いだした。さらに Atg5-GFP の実時間観察により、生きた細胞の中で球状のオートファゴソームが形成されていく様子を捉えることにも成功した。

高等動物におけるオートファジーの意義は未だ不明な点が多い。我々はほぼ全身のオートファゴソームが蛍光標識されるトランスジェニックマウスを作製し、飢餓応答、発生過程などにおけるオートファジーの状況を網羅的に観察している。また ATG 遺伝子破壊マウスの解析も平行して行っている。

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



参考文献

1. Takeshige, K., Baba, M., Tsuboi, S., Noda, T., and Ohsumi, Y., Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and its conditions for induction. *J. Cell Biol.* **119**, 301-311. (1992)
2. Mizushima, N., Noda, T., Yoshimori, T., Tanaka, T., Ishii, T., Gerge, M. D. Klionsky, N. D. J., Ohsumi, M., and Ohsumi, Y. A novel protein conjugation system essential for autophagy. *Nature*, **395**, 395-398. (1998)
3. Ichimura, Y., Kirisako, T., Takao, T., Satomi, Y., Shimonishi, Y., Ishihara, N., Mizushima, N., Tanida, I., Kiminami, E., Noda, T., and Ohsumi, Y. Ubiquitination-like system mediates novel protein lipidation. *Nature*, **408**, 488-492. (2000)
4. Mizushima, N., Yamamoto, A., Hatano, M., Kobayashi, Y., Kabeya, Y., Suzuki, K., Tokuhsa, T., Ohsumi, Y., and Yoshimori, T. Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells. *J. Cell Biol.* **152**, 657-668. (2001)
5. Hanaoka, H., Noda, T., Shirano, Y., Kato, T., Hayashi, H., Shibata, D., Tabata, S., Ohsumi, Y. Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an Arabidopsis autophagy gene. *Plant Physiol.* **129**, 1181-93. (2002)

図2 Atg タンパク質の機能

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

STAFF



大隅 良典
教授



鎌田 芳彰
助手



野田 健司
助手



鈴木 邦律
助手



藤木 友紀
研究員

技術課技術職員

壁谷 幸子

博士研究員

関藤 孝之
花田 孝雄
中戸 川仁
一村 義信
吉本 光希
馬場 美鈴
根田 守介
小原 圭介
尾板 英子
小野寺 純

総合研究大学院大学院生

陰山 卓哉

松井 誠
特別共同利用研究員
川俣 朋子
技術支援員
三輪 雅美
今村 優子
竹内 有香
事務支援員
附柴 久美
原 洋子

細胞増殖研究部門

細胞増殖研究部門では平成15年4月より大阪大学大学院生命機能研究科教授長田重一先生を客員教授として迎えた。長田重一教授はサイトカインによって誘導される細胞の増殖、分化、死の分子機構、その生理作用などを中心に研究を通じ、これまでに数多くの業績を上げてこられた。これらの業績の中にはヒトインターフェロン遺伝子の単離、ヒト顆粒球コロニー刺激因子遺伝子の単離などが含まれる。最近の、細胞死の分子機構に関する研究は、生化学に対する「死化学」の構築というべきもので、分子生物学に新たな一面を加える大業績である。基礎生物学研究所においては客員教授として研究所の運営、将来計画等に対し御助言を頂く。

(文責 勝木元也)

STAFF



長田 重一

教授

(大阪大学大学院生命機能研究科)

<http://ri.nibb.ac.jp/>

細胞構造研究室

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

繊毛や鞭毛の横断面の電子顕微鏡写真では中心に1本の微小管と周辺にある9本のダブルット微小管と中心にある一対の中心小管からできている。またダブルット微小管からはアームと呼ばれるハンマー状のものが2本出ている。これを外腕アーム、内腕アームと呼んでいる。これらのアームがダイニンだ。

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

ウニ精子ダイニンは分子量が150

万に及び巨大で複雑なタンパク質である。分子量50万の2つの重鎖、8万から12万の3つの中間鎖、3万以下の6つの軽鎖よりできている。

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

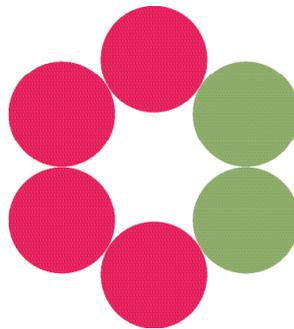


図1 フラグメントAの構造

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

中間鎖にはチオレドキシシン活性があり、重鎖の活性を制御していると考えられている。WD配列をもった中間鎖は細胞質ダイニンにも存在する。また軽鎖（Tctex2ホモログ）はリン酸化されることでダイニンの活性化に関与していると考えている。図2はTctex1とTctex2から形成されるSmoac（精子運動活性化コンプレックス）のモデルを示している。こうした研究を通して鞭毛運動における

屈曲波形成と伝搬の仕組みを分子レベルで明らかにしようとしている。

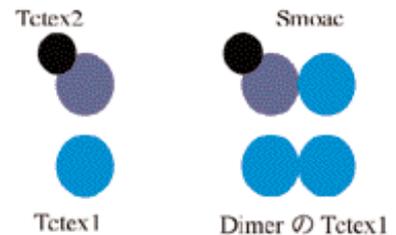


図2 Smoac形成のモデル

ダイニン軽鎖はSmoacを形成し鞭毛運動開始の際情報を重鎖に伝達する役割を果たしている。

参考文献

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

STAFF



小川 和男
助教授

細胞社会学研究室

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

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

胎盤の形態形成

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

腎臓の形態形成

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

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

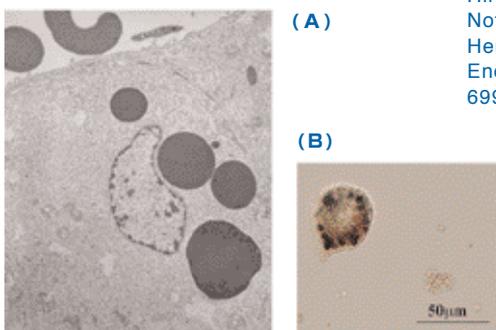


図1 母親の赤血球を食べる栄養芽細胞の電顕像 (A) と光顕像 (B)
食作用は胎盤が機能する胎児に栄養を供給するためだと考えられている。

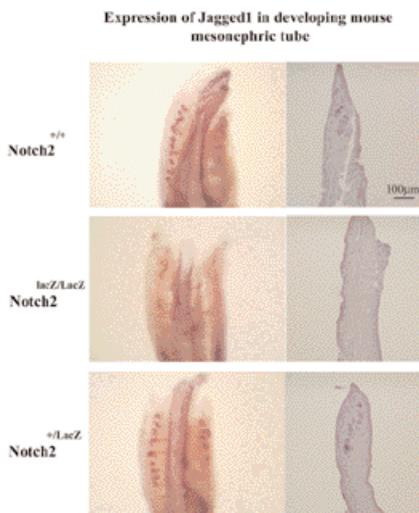


図2 Notch2の変異体の中腎

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

STAFF



濱田 義雄
助手

参考文献

1. Hamada, Y., Kadokawa, Y., Okabe, M., Ikawa, M., Coleman, J.R., and Tsujimoto, Y. (1999). Mutation in ankyrin repeats of the mouse Notch2 gene induces early embryonic lethality. *Development* **126**, 3415-3424.
2. T. Saito, S. Chiba, M. Ichikawa, A. Kunisato, T. Asai, K. Shimizu, T. Yamaguchi, G. Yamamoto, S. Seo, K. Kumano, E. Nakagami-Yamaguchi, Y. Hamada, S. Aizawa, and H. Hirai (2003). Notch2 Is Preferentially Expressed in Mature B Cells and Indispensable for Marginal Zone B Lineage Development. *Immunity* **18**, 675-685.
3. K. Kumano, S. Chiba, A. Kunisato, M. Sata, T. Saito, E. Nakagami-Yamaguchi, T. Yamaguchi, S. Masuda, K. Shimizu, T. Takahashi, S. Ogawa, Y. Hamada, and H. Hirai (2003). Notch1 but Not Notch2 Is Essential for Generating Hematopoietic Stem Cells from Endothelial Cells. *Immunity* **18**, 699-711.



生殖研究部門では、魚類を主な材料として、性決定/分化、および配偶子形成を制御する分子種の同定及びそれら因子の生成と作用の分子機構の解明に重点を置き研究を進めている。これまでの研究から、メダカの性決定遺伝子、精子の形成と成熟、卵の形成と成熟を制御するステロイド性因子が同定された。現在、これらの因子の作用機構を中心に研究を進めている。

メダカの性決定遺伝子

哺乳類の性決定遺伝子 *SRY/Sry* が同定されたのは1990年のことであるが、哺乳類以外の脊椎動物の性決定遺伝子については不明のまま残されていた。我々は最近、哺乳類と同じXX/XYシステムで性決定がなされるメダカから脊椎動物で二番目となる性決定遺伝子 *DMY* を発見した。この遺伝子は、*SRY* とはまったく構造が異なり、ショウジョウバエと線虫の性発達に関わるDMドメインを持つことから *DMY* (DM-related gene on the Y chromosome) と命名された(文献5)。*DMY* 遺伝子は性分化期のXY個体の生殖腺体細胞に強く発現する。メダカ野生集団をスクリーニングすることにより、*DMY* を持つにもかかわらず表現型が雌である突然変異体を見つけたが、これらの *DMY* 遺伝子には変異がみられた。また最近、遺伝的雌に *DMY* を導入したトランスジェニックメダカを作成したところ、XXであるにもかかわらず *DMY* が生殖腺に発現し(図1)、正常な精巣が形成された。

性分化

脊椎動物において性決定遺伝子の働きのもとに起こる生殖腺の性分化機構はいまだにほとんど不明である。可塑的な性を示す魚類は、性決定/分化に関する格好な研究モデルとなる。我々は、メダカ、ティラピア、性転換魚(ハワイ産ベラ、オキナワベニハゼ)などを実験材料に用いて生殖腺の性分化、性転換に関わる遺伝子の同定と機能解析を進めている。ティラピアの遺伝的雌(XX)の生殖腺では、卵巣分化に先行してエストロゲン生成酵素群の発現が認められる。さらに、孵化直後から内因性エストロゲンの生成(ファドロゾール処理)やエストロゲン受容体の働き(タモキシフェン処理)を抑制すると、遺伝的雌は機能的雄に不可逆的に性転換する。従って魚類では、エストロゲンが卵巣の分化に中心的な役割を果たす。一方、遺伝的雄(XY)の性分化期前の生殖腺では、ステロイド代謝酵素の発現は明確ではなく、かわって、*DMRT1* が雄特異的な発現を示すことから、魚類の精巣分化には *DMRT1* が重要な役割を果たすと考えられる。今後、全雌、全雄ティラピアを用いて、形態的性分化期に先だち起こるステロイド代謝酵素と *DMRT1* の雌雄差発現の機構を詳しく解析することで、魚類生殖腺の性分化機構が明らかになるものと期待される。また我々は、生殖細胞の起源や分化の問題についても研究を進めており、*Vasa* 遺伝子を利用して“光る生殖細胞”をもつトランスジェニ

www.nibb.ac.jp/repbio/

生殖生物学研究部門

ックメダカを世界に先駆けて作製することにも成功した(文献4)。

昨年からはメダカを用いて脳による生殖の制御機構に関する研究を開始した。トランスジェニック技術を駆使してGTH放出ホルモン(GnRH)産生ニューロンを可視化し(図2)、その分化、発生過程を解析している。

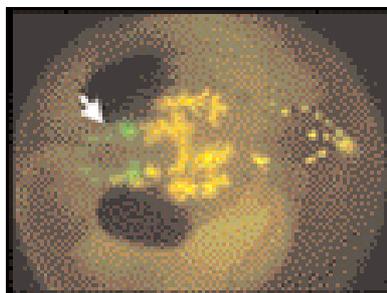


図2 トランスジェニックによってGnRH産生ニューロン(矢印)を可視化したメダカ胚。

卵の形成と成熟

我々の研究から、魚類の卵形成誘起ホルモン(エストラジオール-17β)と卵成熟誘起ホルモン(17α, 20β-ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン, 17α, 20β-DP)が同定された(図3)。サケ科魚類では、これらの性ホルモンは、生殖腺刺激ホルモン(GTH)の作用で、時期特異的に、濾胞組織を構成する莖膜細胞と顆粒膜細胞の協同作用(2細胞型モデル)により生成される。卵成熟直前の濾胞細胞で起こるエストラジオール-17βから17α, 20β-DPへのステロイド合成系の転換には、顆粒膜細胞におけるステロイド代謝酵素遺伝子



図1 メダカの性分化期生殖腺における *DMY* の発現

DMY を遺伝子導入されたXXメダカの生殖腺で *DMY* の発現が観察される(右)。XX(左)とXY(中央)の生殖腺。XY生殖腺で *DMY* の発現がみられる。

の発現転換（芳香化酵素→ステロイド-20 β -水酸基脱水素酵素）が関わる（文献3）。また、これら2つの遺伝子の発現は異なる2種の転写制御因子（Ad4BP/SF-1とCREB）により別々に調節されていると推察される。

卵成熟期になると、卵成熟誘起ホルモンである17 α , 20 β -DPが十分に成長した卵に作用して卵成熟を誘起する。この時、17 α , 20 β -DPは卵細胞膜上にある新規の7回膜貫通型ステロイド膜受容体とそれに連結する抑制性のG蛋白質を介して作用する（図3）。最近の研究から、内分泌かく乱物質の一種であるDESが17 α , 20 β -DPと同じく膜受容体を介して卵成熟を誘起させることが判明した（文献6）。

17 α , 20 β -DPが卵表に作用すると卵内に新しく卵成熟促進因子（MPF, cdc2キナーゼとサイクリンBとの複合体）が形成される。キンギョの未成熟卵にはcdc2キナーゼのみが存在し、サイクリンBは卵に17 α , 20 β -DPが作用して後に新しく合成される。サイクリンB mRNAは未成熟卵中にすでに存在し、17 α ,

20 β -DPはその翻訳を開始させる。この過程には翻訳抑制因子の不活性化とサイクリンB mRNAのポリアデニル化が関与する。MPFは受精時に不活性化されるが、この際のサイクリンBの分解に、活性型多機能性プロテアソームが関与することが明らかにされた（文献2）。

精子の形成と成熟

精子形成の研究には、精原細胞と未発達体細胞（ライディッヒ細胞とセルトリ細胞）のみからなるウナギの未成熟精巣を利用した器官培養系（精原細胞から精子に至る全精子過程を試験管の中で再現できる世界で唯一のin vitro実験系）が非常に有効である。我々はこの系を駆使して、生殖腺刺激ホルモン（脳下垂体）→11-ケトテストステロン（ライディッヒ細胞）→アクチビンB（セルトリ細胞）→CDK（サイクリン依存性キナーゼ）/サイクリン複合体（精原細胞）からなる精子形成開始の分子カスケードをつきとめた（文献1）。今後も、この器官培養系を用いて、核受容体を介したアンドロゲンの作用

機構、及び体細胞分裂から減数分裂への移行機構などについて研究を進める。

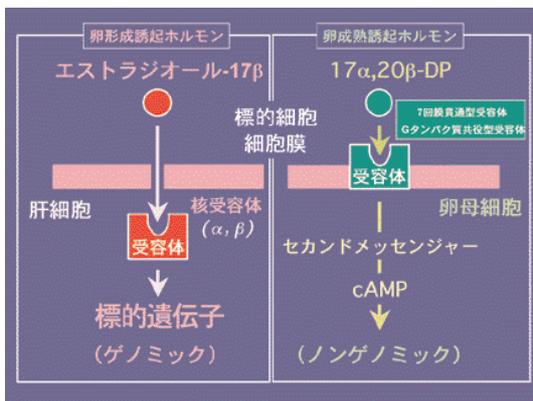


図3 卵形成誘起ホルモン（ゲノミックアクション）と卵成熟誘起ホルモン（ノンゲノミックアクション）の作用機構。

参考文献

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

STAFF				技術課技術職員				特別共同利用研究員				個別研究
				小林 弘子	酒井 章衣	柴田 安司	周 林 燕	技術支援員 宇野 恵里 杉田 ちよ子 高木 千賀子 早川 利枝 原 郁代				
長濱 嘉孝 教授	吉国 通庸 助教授	大久保 範聡 助手	劉 恩良 研究員	さきかけ研究員 松田 勝	司馬 桂君 PAUL, Bindhu 王 德寿	特別協力研究員 田中 将樹 鈴木 亜矢 范 海光	事務支援員 嶋田 ゆう					
				博士研究員 太田 耕平 易 梅生	総合研究大学院大学院生 大室 松山 有紀 斉藤 憲二							



生殖活動は全ての生物種に普遍的な活動であり、視床下部-脳下垂体-性腺から構築される功妙な内分泌系によって調節されている。この支配は単に生殖腺の分化や機能維持にとどまることなく、脳の性分化や性行動まで極めて広範囲に及びことで、動物個体の生殖活動を支配する。本研究部門では、生殖腺で発現する遺伝子の調節機構を明らかにすることを通じて、生殖腺における「性分化機構」の解明を目指している。

生殖腺の形成と機能に必要な転写因子

これまでに我々は生殖腺の形成と機能維持に不可欠な転写因子として Ad4BP/SF-1 を同定し、その転写調節機構を研究してきた。生殖腺の形成には Ad4BP/SF-1 以外にも Dax-1, Sox9, Wt1, GATA4, Emx2, Lhx9, M33 などの転写因子が不可欠であることが知られているが、これらの因子がどのような相互関係のもとに生殖腺の形成に関与するのかが不明の点が多い。生殖腺の分化、及び性分化の分子メカニズムを明らかにするには、これらの転写因子間の相互関係を調べるのが不可欠である。そこで、性分化前後のマウス生殖腺から作製した cDNA ライブラリーを用い、各種転写因子と相互作用する因子を two hybrid 法で検索した。ここで得られた因子の中には種々の転写因子の他に、転写のコファクターとして機能することが知られているものや、細胞増殖因子からのシグナル伝達に必要な因子が存在し

www.nibb.ac.jp/celdif/

性差生物学研究部門

た。これまでに得られた因子の解析を進めてきたが、その結果明らかになったことは、Dax-1 は Ad4BP/SF-1 と相互作用することで Ad4BP/SF-1 による転写を抑制すること、そしてこの相互作用は核内受容体が転写共役因子と相互作用する際に認識する LXXLL モチーフを介して行なわれることを明らかにした。Dax-1 以外にも多くの興味深い遺伝子が単離されており、その発現が比較的生殖腺に特異的であるものや、タンパク質としての構造が特徴的なものを中心に解析を行なっている。これまでにホメオボックスを有する転写因子 Arx が胎仔精巣のライディッヒ細胞の分化に不可欠であることを明らかにした。Arx 自身はライディッヒ細胞を取り巻く細胞には発現するがライディッヒ細胞には発現しないことから、ライディッヒ細胞の分化メカニズムを理解する上で興味深い因子である。

一般に転写因子の活性は種々の翻訳御修飾によって調節され。Townhybrid スクリーニングによって得られた因子の中には SUMO (small ubiquitin-related modifier) 化修飾

に関与する PIAS や UBC9 が存在したことから、Ad4BP/SF-1 の SUMO 化について検討した。興味深いことに Ad4BP/SF-1 は分子内の二ヶ所のリジン残基が SUMO 化されること、更に Sox9 や GATA4, Wt1 も同様に SUMO 化されることが明らかになった。これらの因子はいずれも胎仔精巣のセルトリ細胞において、ミューラー管阻害因子遺伝子の転写を Ad4BP/SF-1 と協調的に活性化することが知られている因子であったことから、SUMO 化の影響を調べた。その結果、少なくとも Ad4BP/SF-1 と Sox9 との協調的な転写活性は SUMO 化によって抑制されることが示された。Ad4BP/SF-1 については、SUMO による修飾の他に新たにリン酸化を受けるアミノ酸残基を同定している。これらの修飾が Ad4BP/SF-1 の転写活性に及ぼす影響は今後の重要な検討課題である。

組織特異的エンハンサーの解析

Ad4BP/SF-1 は副腎皮質や生殖腺の他に、視床下部腹内側核、脳下垂体の性腺刺激ホルモン産生細胞、脾臓などに発現し、遺伝子破壊マウスではこれらの組織

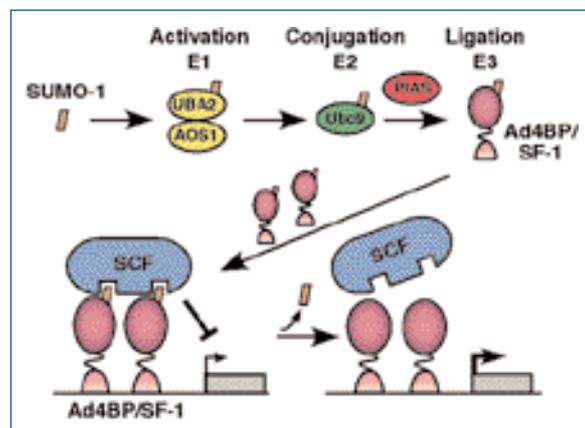


図1 Ad4BP/SF-1 は図に示すように E1, E2, 及び E3 酵素による、段階的な反応によって SUMO 化修飾を受ける。SUMO 化は Ad4BP/SF-1 の協調的転写活性に対し抑制的に働くが、そのメカニズムは今後の重要な問題として残されている。

形成に異常が認められる。このことはこれらの組織の形成過程で Ad4BP/SF-1 が極めて重要な役割を担っていることを示すものであり、従ってこれらの組織形成メカニズムを明らかにするには、Ad4BP/SF-1 の機能解析に加え、Ad4BP/SF-1 遺伝

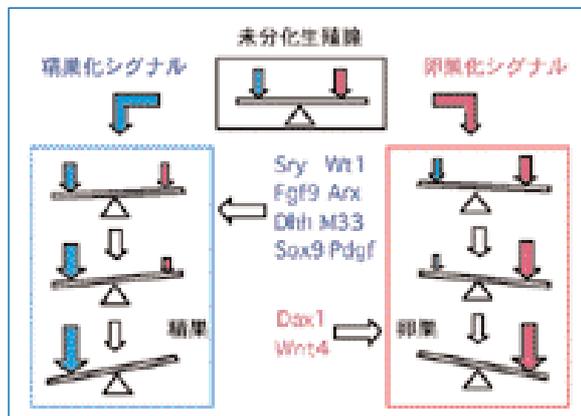
子の発現調節機構を解析する必要がある。特に組織特異的発現調節機構を明らかにすることは、Ad4BP/SF-1 が関与する以前の組織形成過程を議論するには不可欠であると考えられる。そこで、Ad4BP/SF-1 遺伝子のどの領域がそれぞれの組織に特異的発現を可能とするかを、トランスジェニックマウスを作製することで調べている。これまでに、胎仔副腎、視床下部腹内側核、脳下垂体の性腺刺激ホルモン産生細胞に特異的な転写活性化領域を同定した。これらの領域には興味深い転写因子の結合が確認されており、Ad4BP/SF-1 遺伝子の転写を担う因子としてさらなる解析を進めている。

生殖腺の形成と性分化

性的に成熟した動物における生殖腺は、雄では精巣に、そして雌では卵巣に分化しており、その形態は明瞭に区別することが可能である。しかしながら、性的に未分化な胎仔生殖腺の原基では形態的な性差は認められない。しかも遺伝的な性（哺乳類の場合は性染色体の組み合わせがXYで雄、XXで雌となる）の如何に関わらず、この性腺原基は雌雄両方の生殖腺へ分化する能力を有している。本研究部門における研究の中心的課題は性分化過程を支えるメカニズムを解明することであり、先に述べた転写因子の機能解析や組織特異的遺伝子発現調節機構の解

析は、全てこの問題に収斂するものと位置付けている。

これまでの研究から、性分化及び性決定の過程は精巣化シグナルと卵巣化シグナルのバランスの上に成り立っていること、そしてシグナルとそのバランスは動物種によって独自に獲得されたものと、動物種を通じて保存されたものによって構成されていると理解される。我々はこのシグナルの実体を遺伝子として、そしてそのバランスを遺伝子の発現調節機構として捕らえることで、性分化の過程を解明することが可能であると考えている。図2に示した各種遺伝子は雄化と雌化を制御する遺伝子であることが遺伝子破壊マウスなどの解析から明らかにされてきたが、これらの遺伝子が雌雄生殖腺の分化の過程で、いかなる制御を受けているかは不明の点が多い。この点を明らかにするために、各種遺伝子改変マウスを用いて遺伝学的解析を行なっている。生殖腺形成の初期過程の解析、及び性分化過程の解析は急速に進んでおり、当研究室が果してきた、また今後果すべき役割は大きい。



参考文献

1. Honda S, Morohashi K, Nomura M, Takeya H, Kitajima, M Omura T. Ad4BP regulating steroidogenic P-450 gene is a member of steroid hormone receptor superfamily. *J. Biol. Chem.* **268**, 7494-7502, 1993
2. Katoh-Fukui Y, Tsuchiya R, Shi-roishi T, Nakahara Y, Hashimoto N, Noguchi K, Higashinakagawa T. Male-to-female sex reversal in M33 mutant mice. *Nature* **393**, 668-692, 1998
3. Kitamura K, Yanazawa M, Sugiyama N, Miura H, Iizuka-Kogo A, Kusaka M, Suzuki R, Kato-Fukui Y, Kamiirisa K, Omichi K, Kasahara M, Yoshioka H, Ogata T, Fukuda T, Kondo I, Kato M, Dobyns WB, Yokoyama M, Morohashi K. Mutations of *Arx/ARX* cause abnormal migration and differentiation of GABAergic interneurons and abnormal development of testes in mice, and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans. *Nature Genet.* **32**, 359-369, 2002
4. Suzuki T, Kasahara M, Yoshioka H, Morohashi K, Umesono K. LXXLL motifs in *Dax-1* have target specificity for the orphan receptors Ad4BP/SF-1 and LRH-1. *Mol Cell Biol* **23**, 238-249, 2003
5. Mizusaki, H Kawabe K, Mukai T, Ariyoshi E, Kasahara M, Yoshioka H, Swain A, Morohashi K. *Dax-1* gene transcription is regulated by *Wnt4* in the female developing gonad. *Mol Endocrinol.* **17**, 507-519, 2003

図2 性分化を制御する雄性化シグナルと雌性化シグナルの拮抗作用とバランスに依存した性分化

未分化生殖腺に精巣化シグナルまたは卵巣化シグナルが作用するとそれぞれ精巣化と卵巣化の過程が進みはじめる。

STAFF



諸橋 憲一郎
教授



福井 由宇子
助手



小川 英知
助手



土屋 恵
研究員

技術課技術職員
岡 早苗

博士研究員
馬場 崇
Mohamad Zubair

特別共同利用研究員
宮林 香奈子

技術支援員
大脇 亜希子
石川 あずさ
小池 ゆかり

総合研究大学院大学院生
日下 雅友
小松 朋子
松山 誠
Fatchiyah
佐藤 優子

事務支援員
杉浦 未央

www.nibb.ac.jp/morphgen/

形態形成研究部門

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

原腸形成の分子機構

原腸形成は生物の形づくりの根幹をなす必須の生命現象である。原腸形成は単に腸を形成するための細胞運動ではなく、そのダイナミックで協調した細胞運動によって三胚葉をその後の形態形成のために正しく配置させ、球形の受精卵を頭尾軸に伸長した形態へと導く。この細胞運動は収斂（conversion）と伸長（extension）という大きく分けて2つの細胞運動からなることが知られている。胚の側方（左右）から細胞が正中線に向かって収斂し、左右からの細胞が互いに挿入し合うこと（intercalation）が前方に向かって伸長する原動力となる。これらの細胞運動はどのように制御されているのか、細胞自律的なプログラムなのか、細胞外からの刺激によるものなのか、その分子機構についてはいま

だに不明な点が多かった。しかし最近、これらの細胞運動の分子機構が少しずつではあるが解析されつつあり、原腸形成運動は、細胞に組み込まれた自律的プログラムと言うよりはむしろ、細胞外からのシグナルを受けて、それに応答した細胞が正中線に向かって移動することが明らかになってきた。WntはFrizzledファミリーの7回膜貫通型受容体を介してシグナルを細胞内に伝達するが、そのシグナル伝達経路は古典的経路（canonical pathway）、非古典的経路（non-canonical pathway）に分類できる。原腸形成はWnt11を引き金とする非古典的経路によって制御されていることもわかりつつある。興味深いことにこの伝達経路は、ショウジョウバエの翅の細胞における極性決定に関わるシグナル伝達経路と極めて相同性が高く、脊椎動物の原腸形成においても細胞の極性決定が細胞運動の方向性決定の基盤となっていることが示唆されつつある。実際に、我々はショウジョウバエ極性決定に関わる遺伝子の*prickle*相同遺伝子XPKが脊椎動物にも存在し、アフリカツメガエルの原腸形成に必須の役割を担っていることを明らかにした（文献6）。また、我々はプロテインキナーゼC δ が非古典的経路に必須であること、アクチン結合タンパク質MARCKS（myristoylated alanine-rich C kinase substrate）が原腸形成運動における細胞接着や細胞突

起形成の制御に重要であることを明らかにした（文献7, 8）。さらに原腸形成運動を制御する新たな因子の探索を行うために細胞運動を指標とした発現クローニングを開始した。

脊索形成の分子機構

脊索はその名の由来が示すように脊索動物を特徴付ける最も重要な形質である。個体発生学的にみて初期発生過程の原腸形成運動を担い神経誘導を引き起こす器官として、また系統発生学的にみて脊索動物門に含まれる動物群を特徴づける最も顕著な形質として、発生学上非常に重要な器官であるといえる。原始的な脊索動物である尾索類ホヤは原腸胚期から尾芽胚期にかけて、オタマジャクシ型幼生の尾部中央にわずか40個の脊索細胞が収斂と伸長の細胞運動により一列に並ぶ。ホヤでは*Brachyury*遺伝子（T-box転写調節因子）は脊索のみに発現し、脊索形成に必須である。この遺伝子のターゲット遺伝子群を解析することから、脊索形成の分子機構を明らかにすることを目指している。脊索特異的遺伝子を*Brachyury*下流遺伝子の中から単離し（文献2）、これら遺伝子産物の脊索における細胞内局在と機能解析を進めている。この原始的な脊索動物であるホヤの脊索形成過程の分子機構を解析することは、脊索動物の起源と進化を明らかにする道にもつながると考えている。

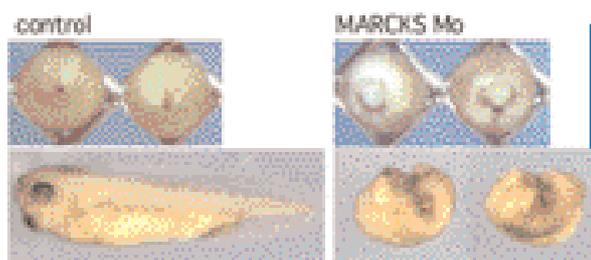


図1 MARCKSは原腸形成運動に必須である

モルフォリノオリゴ（Mo）の顕微注入により、原腸形成運動が阻害され、卵黄栓が開いた表現型を示す。

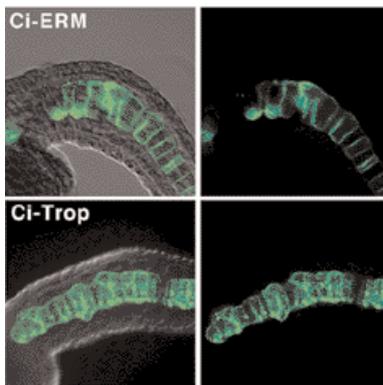


図2 ホヤ幼生の脊索特異的に発現する遺伝子産物の細胞内局在

核内微小構造と転写制御

真核生物の核には染色体の他に遺伝子発現制御の場となる様々な核内微小構造が存在する。我々が単離、解析している核タンパク質 Tonalli/TONAS は核マトリックスとよばれる部分に大部分存在するが、ある刺激によって核内に球状の構造体を形成する。この球状の構造体は PML nuclear body と一般的に呼ばれるものと性質がよく似ていることから、我々は Tonalli/TONAS が PML nuclear body の形成因子の一つではないかと考えている。PML body には p53 や CBP/P300 など様々な転写調節因子が局在することが知られている。これらの因子の PML body への局在およびその活性制御には SUMO と呼ばれるユビキチン類似分子によるタンパク修飾が関与している。我々は、Tonalli/TONAS がタンパク質の SUMO 修飾を制御する E3 リガーゼであることを最近明らかにした。TONAS の自己 SUMO 化はこの分子の核マトリックスからの遊

離の引き金になることも分かっている。細胞での TONAS の動態を手がかりに PML body の形成制御とその転写調節に於ける役割を今後も追求していく予定である。我々が Tonalli 変異体を単離したそもそものきっかけは、ショウジョウバエを用いた遺伝学的スクリーニングであった。遺伝学的なデータは Tonalli 遺伝子は CBP や他の核内因子と協調して、成虫の翅を形成するシグナルを正に制御している因子であることを示唆している。また別のグループの研究で、Tonalli はクロマチンリモデリングに関与する Trithorax 遺伝子群に含まれることが明らかにされている。Tonalli/TONAS がどのようにしてクロマチンリモデリングに関与するのかは現時点では全く分かっていない。我々は、ショウジョウバエ遺伝学とヒト培養細胞を用いた核内構造体の解析からこれらの問題を明らかにしていきたいと考えている。

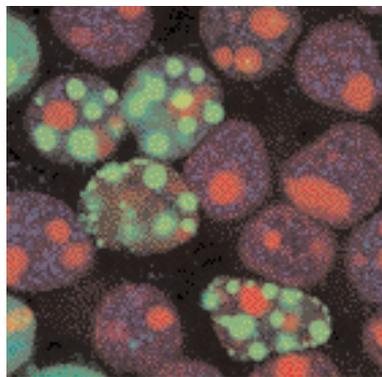


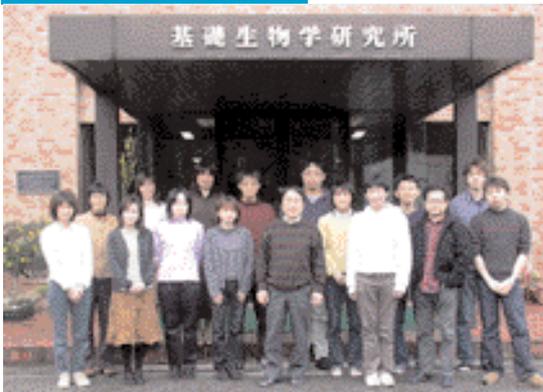
図3 TONAS の強制発現により誘導された PML nuclear body
培養細胞 (293T) における、SUMO-1 過剰発現下での TONAS (緑)、核酸 (赤、強く染まっているのは核小体)、クロマチン (青) の局在。

参考文献

1. Nishita, M., Hashimoto, M. K., Ogata, S., Laurent, M. N., Ueno, N., Shibuya, H. and Cho, K.W. (2000) Interaction between Wnt and TGF-beta signalling pathways during formation of Spemann's organizer. *Nature* **403**, 781-785.
2. Takahashi, H., Hotta, K., Erves, A., Gregorio, A. D., Zeller, R. W., Levine, M. and Satoh, N. (1999) Brachyury-downstream notochord differentiation in the ascidian embryo. *Genes Dev.* **13**, 1519-1523
3. Morita, K., Flemming, A., Sugihara, Y., Mochii, M., Suzuki, Y., Yoshida, S., Wood, B., Kohara, Y., Lerol, A. M. and Ueno N. (2002) A *C. elegans* TGF- β , DBL-1, regulates polyploidization and body length. *EMBO J.* **21**, 1063-1073,
4. Ohawara, B., Yamamoto, T.S., Tada, M. and Ueno, N. (2003) Role of glypican 4 in the regulation of convergent extension movements during gastrulation in *Xenopus laevis*. *Development*, **130**, 2129-2138.
5. Takeuchi, M., Nakabayashi, J., Sakaguchi, T., Yamamoto, S. T., Takahashi, H., Takeda, H. and Ueno, N. (2003) Prickle-related gene in vertebrates is essential for gastrulation cell movements. *Curr. Biol.*, **13**, 674-679.
6. Kurata, T. and Ueno, N. (2003) *Xenopus* Nbx, a novel NK-1 related gene essential for neural crest formation. *Dev. Biol.*, **257**, 30-40.
7. Kinoshita, N., Iioka, H., Miyakoshi, A., and Ueno, N. (2003). PKC delta is essential for Dishevelled function in a noncanonical Wnt pathway that regulates *Xenopus* convergent extension movements. *Genes Dev.*, **17**, 1663-76.
8. Iioka, H., Ueno, N. and Kinoshita, N. (2004) Essential role of MARCKS in cortical actin dynamics during gastrulation movements. *J. Cell Biol.* **164**, 169-74.

STAFF					技術課技術職員	総合研究大学院大学院生	技術支援員
					高木 知世	飯岡 英和 宮越 陽 鯨岡 昌裕 後藤 正憲 前田 昌人	山本 隆正 市川 真理子 山田 成宏 林 佳寿 山田 美香 高松 和香 市川 倫淑 熊浦 江全代
上野 直人 教授	木下 典行 助教授	中村 真 助手	高橋 弘樹 助手	三浦 純子 研究員	博士研究員 喜多山 篤治 諸熊 淳人 柴田 啓 田崎 HUI, Chi-Chung	特別共同利用研究員 吉兼 奈美 鄭 惠 英	事務支援員 三宅 智子 柘 植 豊子
					日本学術振興会外国人招聘研究者 HUI, Chi-Chung		

基礎生物学研究所



www.nibb.ac.jp/cib1/

発生遺伝学研究部門

極細胞の形成に関わる因子の解析

胚発生過程の初期に形成される極細胞と呼ばれる細胞が、ショウジョウバエにおいて生殖細胞に分化できる

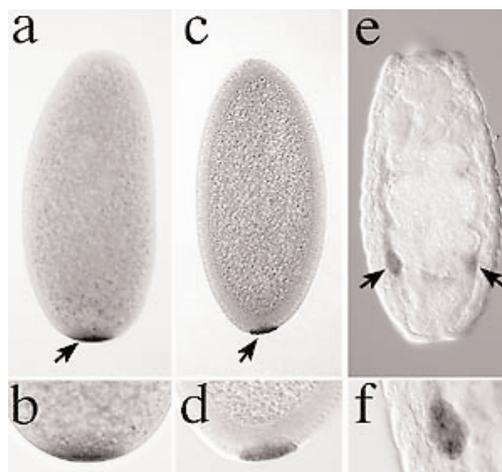
唯一の細胞である（図2）。極細胞形成因子の一つとして、ミトコンドリア large ribosomal RNA (mtlrRNA) を同定した。電子顕微鏡レベルの *in situ* ハイブリダイゼーション法により、ミトコンドリア内で転写される mtlrRNA が、極細胞質中でミトコンドリアから極細胞質中のみ観察される極顆粒と呼ばれる構造物に移送され、極細胞形成に関与した後に分解されることを明らかにした。さらに、mtlrRNA が、ミトコンドリア small ribosomal RNA (mtrsrRNA) とともにミトコンドリア・タイプのリボソームを極顆粒上で形成することも明らかとなった。このリボソーム上で極細胞形成に関わるタンパク質をコードする mRNA が翻訳されていると考えられる。現在、この mRNA の同定を試みている。

極細胞の分化過程に関与する因子の解析

正常な発生過程において、形成された極細胞は、生殖巣へと移動し、生殖巣中で卵や精子である生殖細胞に分化する。この極細胞の分化過程に関わる分子の一つとしてナノス (Nanos) と呼ばれるタンパク質を同定

図2 ショウジョウバエ胚における生殖細胞形成過程

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



した。ナノスは、極細胞質に分布し、極細胞に取り込まれるという挙動を示す。ナノスを欠く極細胞は、生殖巣へと移動できない。このため、この極細胞は最終的に生殖細胞にまで分化することはない。極細胞中で、ナノスは、特定の mRNA の翻訳を抑制する働きを持つことが明らかとなった。私達は、ナノスにより翻訳が抑制される mRNA の一つとして、Importin $\alpha 2$ タンパク質をコードする mRNA を同定した。ナノスは、転写因子の核移行に関わる Importin $\alpha 2$ タンパク質の合成を抑制することにより、極細胞の転写活性を低くおさえていることが明らかになった。さらに、ナノスを欠如させた極細胞中では、本来体細胞で発現し体細胞の分化に関わる遺伝子が異所的に活性化するために、極細胞の移動過程が阻害されることも明らかとなった。生殖細胞には、体細胞に分化しないように、遺伝子発現をサイレントな状態に維持する機構が備わっていると

寸の虫にも生殖細胞がある。次代に生命を残すためには卵や精子などの生殖細胞が必要なのである。一方、体細胞と呼ばれる細胞は、筋肉や神経などの体のパーツを作り上げ、個体の生存を支えている。しかし、体細胞はやがて個体の死とともにその役割を終えてしまう。このように運命が大きく異なる生殖細胞と体細胞は、1つの受精卵の細胞分裂により生み出された姉妹同士である。では、どのように生殖細胞への発生運命が決定されるのか？それを解明するのが私たちの課題である。多くの動物で生殖細胞の形成に関わる因子が卵の一部の細胞質に局在することが明らかになっており、この細胞質を取り込んだ細胞が生殖細胞に、取り込まなかった細胞が体細胞になることが知られている。その中で解析が進んでいるショウジョウバエ（図1）では、生殖細胞の分化に関わる因子が卵の後極の細胞質（極細胞質）に局在することが示されている（図2）。当研究室では、生殖細胞の形成に関わる因子を同定し、その機能解析を以下のように行なっている。



図1 ショウジョウバエの成虫
左が雌、右が雄。

長い間考えられてきたが、その機能の一端を担う分子がナノスであった。また、ナノスは、極細胞の細胞死を抑制する働きを持つ分子でもある。現在までの知見を総合すると、ナノスは、極細胞の細胞死、さらに極細胞が体細胞に分化することを抑制することで、極細胞の分化過程を正常に進行させる働きがあると考えられる。

生殖細胞としての決定に関わる因子の解析

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

生殖細胞としての決定に関わる因子は、生殖巣に取り込まれた極細胞内で生殖細胞特異的な遺伝子の発現を引き起こすと考えられている。そこで、胚から極細胞を生殖巣ごと単離し、そこで発現している遺伝子を網羅すること、さらに極細胞特異的に発現する遺伝子を同定することを試みている。これら遺伝子の発現制御機構を明らかにすることにより、生殖細胞として

の運命決定に関わる因子が単離できると考えている。また、突然変異を用いた遺伝学的な解析により、生殖細胞の特質を決定する遺伝子の特定もおこなっている。現在のところ、卵形成過程で発現し、遺伝子産物が極細胞質に存在し、極細胞に取り込まれ、極細胞中で機能すると予想される遺伝子が単離されている。さらに、この遺伝子の突然変異は、極細胞形成や極細胞の生殖細胞への移動過程には影響しないのに対し、減数分裂過程に影響を与える。減数分裂は生殖細胞の重要な特質の一つであることから、この遺伝子が生殖細胞の特質を決定する因子をコードしていると考えている。現在、この突然変異の原因遺伝子の単離も試みている。

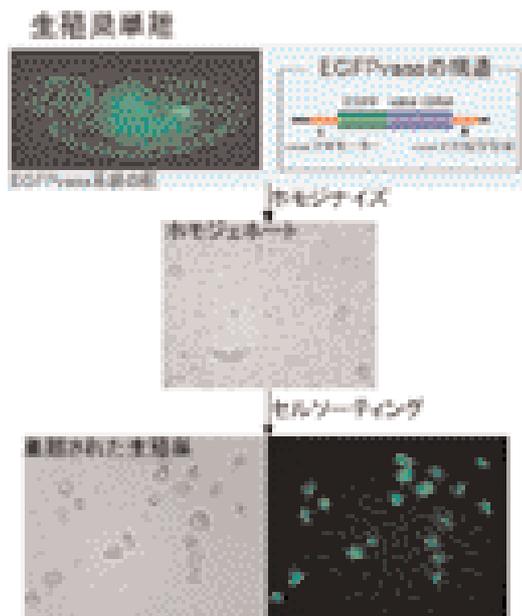


図3 胚をすりつぶし細胞（組織）分取装置により生殖巣を単離する過程

参考文献

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

STAFF



小林 悟
教授



向 正 則
助手



重信 秀治
助手

技術課技術職員
野田 千代

博士研究員
佐藤 仁泰

総合研究大学院大学院生
林 良 樹
北 舘 祐
林 誠
谷 津 潤

技術支援員
有田 佳代
植田 佳子
土谷 直美
佐藤 香織

事務支援員
本多 聡子



www.nibb.ac.jp/cib2/
分子発生学研究部門

この十数年のあいだに、脊椎動物の形態形成のしくみについてはいろいろなことが明らかになってきた。その過程ではショウジョウバエにおける遺伝学的研究成果やモデル脊椎動物の胚を用いた遺伝子操作技術が大きな助けとなってきた。その成果自体は十分に大きなものであるが、同時にこれから解明すべき新たな問題をも提起している。本部門では、それら新たな課題の中から本質的に異なる2つの問題に焦点をあて、チャレンジを行っている。

形態形成シグナルの作用の多様性を生み出す分子的基盤の解析

BMP, FGF, Wnt それに Hedgehog といった分泌性のタンパク質は脊椎動物の形態形成過程でくりかえし使われ、その作用は多彩である。本部門ではこれまでに主に Wnt シグナルに着目し、マウスの発生過程における Wnt-1 ならびに Wnt-3a の機能を変異体を用いて解析してきた。そこで明らかになったことは、これらシグナルは初期発生過程において体節中胚葉の運命決定 (図1) や個体の前後軸上での各体節のアイデンティティーの形成、さらに脊髄神経管背側の領域形成 (図2)、神経管背側から遊走する神経堤細胞の増殖、さらに神経管の両側に位置する体節皮筋板の部域化等、複数の役割を担うということである。

では、「くり返し使われる同じシグナル (単一のインプット) からどのようにして受け手の細胞ごとに異なる作用 (複数のアウトプット) が生じ

るのであろうか?。」この問題にアプローチする一つの方法は、個々の現象に特異的に活性化される標的遺伝子に着目することである。本部門ではおもにマウス ES 細胞を用いた遺伝子トラップ法によりそのような標的遺伝子の探索を行い、これまでに神経発生や器官形成過程で Wnt シグナルによって発現が誘導される遺伝子を同定してきた。そのような遺伝子が発生過程においてどのような役割をはたしているのかを明らかにするため、機能欠失型変異体を作成し解析を進めている。

その一方で、遺伝学的手法を用いて、「受け手の細胞 (組織) ごとにシグナルの作用が異なるしくみ」を明らかにしようとしている。中胚葉形成過程において Wnt や FGF シグナルの標的遺伝子として T (Brachyury) 遺伝子の発現が誘導されることが知られている。この遺伝子は中胚葉以外の組織ではたとえ Wnt や FGF シグナルの作用を受けても本来であれば発現することはない。このようなシグナルに対する組織特異的応答性に、異常を呈するゼブラフィッシュ突然変異体を我々は既に数系統樹立

しており、その解析からシグナルの作用の特異性・多様性が生じるしくみを明らかにしたいと考えている。

脊椎動物体幹部の形態形成機構の解析

個体や組織の領域形成は多くの場合ショウジョウバエでの遺伝学や古典的実験発生学による研究からモルフogen というシグナルの勾配により一義的に決定づけられるものと考えられてきた。しかしながら、脊椎動物の体幹部における領域形成は時間の経過とともに後部側の領域が逐次的に付加されていくため、シグナルの勾配とは別の機構で行われていることが予想される。事実、体幹部で最も明瞭な領域をもつ体節の形成に

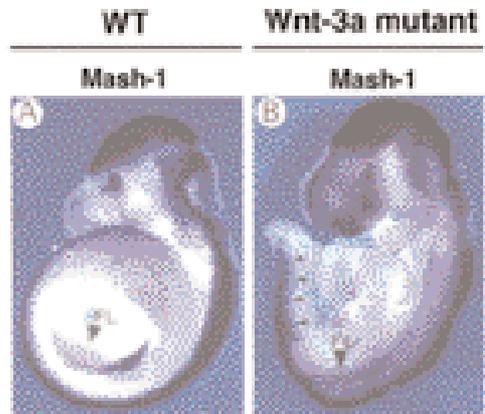


図1 Wnt-3a 変異体における体節形成の異常

Wnt-3a 変異体においては体幹部の伸長が停止する (A, B)。前肢芽 (FL) より後方では、体節が形成されず (F: MF-1 は体節のマーカー)、その代わりに神経管が余計に形成される (B-E: Mash-1, Hes-1 は神経管のマーカー)。すなわち、Wnt-3a 変異体では体節前駆細胞が神経上皮細胞へと運命転換しているものであり、Wnt-3a が体節中胚葉の運命選択に重要な役割を担っているものと考えられる。

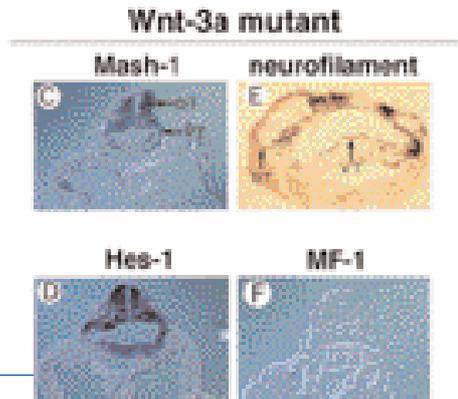




図2 Wnt-1/-3a 二重変異体における背側介在神経の領域特異化の異常

Wnt-1/-3a 二重変異体においては背側介在神経のうち背側に位置するD1,D2 神経細胞の数が減少し、そのかわりにより腹側に位置するD3 神経細胞の数が造花する。一方、神経管から取り出した組織片にWnt-3a タンパク質を加えると、D1,D2 神経細胞の数が増加し、そのかわりにD3 神経細胞の数が減少する。従って、脊髄神経管の最も背側の領域 (roof plate) から分泌されるWnt シグナルは背側介在神経の特異化を制御しているものと考えられる。

は分子時計という特別な装置が必要である。

本部門では、体節を含む脊椎動物体幹部の形態形成機構を体系的に解析するため、体節の形成や体幹部の伸長などに異常を呈するゼブラフィッシュの突然変異体を独自に単離し、

その解析を進めている (図3)。また、それと平行して、体節を含む体幹部の形成過程において発現する遺伝子を数多く単離し、それらの機能解析も行っている。これらの解析を通して、動物の形態形成を司る新たなしくみを解明したいと考えている。

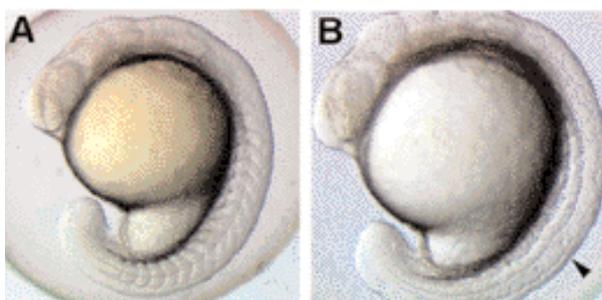


図3 体節に異常を呈するゼブラフィッシュ突然変異体

A 野生型 B 変異体

参考文献

1. Yoshikawa, Y., Fujimori, T., McMahon, A. P. & Takada, S. (1997) Evidence that absence of Wnt-3a signaling promotes neuralization instead of paraxial mesoderm development in the mouse. *Dev. Biol.* **183**, 234-242
2. Ikeya, M., Lee, S. M. K., Johnson, J. E., McMahon, A. P. & Takada, S. (1997) Wnt signalling required for expansion of neural crest and CNS progenitors. *Nature* **389**, 966-970
3. Ikeya, M. & Takada, S. (1998) Wnt signaling from the dorsal neural tube is required for the formation of the medial dermomyotome. *Development* **125**, 4969-4976
4. Muroyama, Y., Fujihara, M., Ikeya, M., Kondoh, H., & Takada, S. (2002) Wnt signaling plays an essential role in neuronal specification of the dorsal spinal cord. *Genes Dev.* **16**, 548-553
5. Ohbayashi, N., Shibayama, M., Kurotaki, Y., Imanishi, M., Fujimori, T., Itoh, N., & Takada, S. (2002) Fgf18 is required for cell proliferation and differentiation during osteogenesis and chondrogenesis. *Genes Dev.* **16**, 870-879

STAFF



高田 慎治
教授



越田 澄人
助手



川村 哲規
研究員

技術課技術職員
内海 秀子

博士研究員
大林 典彦
倉田 智子
赤沼 啓志
高田 律子

技術支援員
与那嶺 享子
小田 律子

事務支援員
織田 敬子

特別共同利用研究員
山口 良文

発生制御学研究室

タンパク質のS-パルミトイル化が動物の発生を制御するメカニズムを解析している。

S-パルミトイル化はGタンパク質などが受ける化学修飾のひとつであり、この修飾が情報伝達の制御に重要な役割をしている。カイコの胚発生の機構解析で、p260/270という蛋白質が特定の細胞組織で多量に発現されることを明らかにした。この蛋白質は、パルミチン酸を転移するS-パルミトイル化酵素である。

マウスの胚でp260/270のホモログが発現されることやこのタンパク質が脂肪酸合成酵素であることを明らかにした。脂肪酸合成酵素は、マウ

スの胚の脳や脊髄、及び神経節などで発現され、それらの神経系の神経細胞で多量に発現されていた。この時期の神経細胞の突起伸長にはGrowth Associated Protein 43 (GAP-43) が関与しているが、GAP-43のS-パルミトイル化が突起伸長の制御をしていることがわかっている。脂肪酸合成酵素が直接GAP-43のS-パルミトイル化を行うことやこの酵素の阻害剤が神経突起伸長を抑制することから、この酵素がS-パルミトイル化を行うことで神経突起伸長を制御していると考えている。今後も脂肪酸合成酵素によるS-パルミトイル化の発生の制御機構を解析する計画である。

参考文献

1. Ueno, K. and Suzuki, Y. (1997) p260/270 expressed in embryonic abdominal leg cells of *Bombyx mori* can transfer palmitate to peptides. *J. Biol. Chem.* 272, 13519-13526.
2. Ueno, K. (2000) Involvement of fatty acid synthase in axonal development in mouse embryos. *Genes Cells* 5, 859-869.

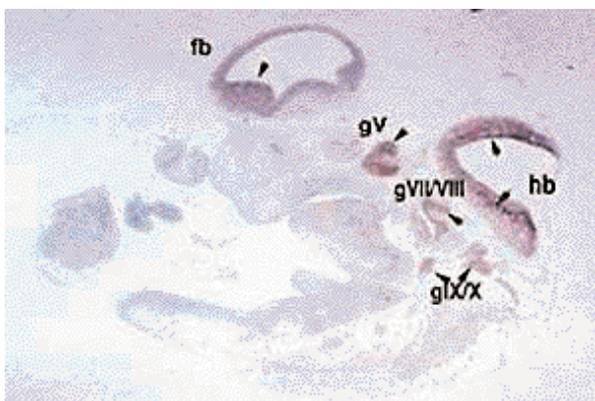


図1 マウスの胚（受精後11日）の *in situ hybridization* 脂肪酸合成酵素のmRNA（紫色に染色されている）は前脳（fb）や後脳（hb）などの中枢神経系やcranial ganglia（gV, gVII/VIII, gIX/X）などの末梢神経系で多量に発現されていた。

STAFF



上野 孝治
助教授

www.nibb.ac.jp/reprogenetics/

生殖遺伝学研究室

生 殖腺形成・性決定分化過程の脊椎動物共通の分子基盤を明らかにするために、細胞や遺伝子産物を生きた個体内で可視化し、メダカ性転換突然変異体なども用いて、遺伝子レベル・細胞相互作用レベルでその機構を明らかにしようとしている。

生殖腺は遺伝情報を次世代に伝達する配偶子を形成する重要な器官である。生殖腺発生過程の多くの場合、まず生殖腺原基が形成され、これが環境や遺伝子の作用を受けて卵巣か精巣へと（性的二型：雌雄）分化する。この生殖腺分化過程が個体レベル（外見）でも影響を与え、雌雄の違いを生み出している。このような性的二型が生じる過程を性決定分化過程と言い、多くの生物に見られる普遍的な現象と言える。また発現遺伝子解析などからは生殖腺発生過程の分子機構基盤は共通と考えられるがその詳細は不明である。その分子機構を「個体レベル」で詳細に解析するために、モデル動物のメダカを用いて生殖腺形成に関わる特定の細胞・蛋白質を「生きたまま可視化」できる解析系を確立した。その結果、性決定分化・生殖腺形成に関与する細胞の発生過程、特定分子の細胞内での相互作用・動態がリアルタイムで解析可能となった（図1）。

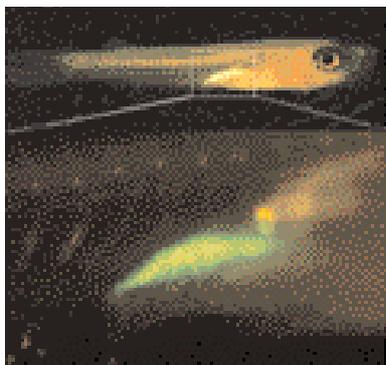


図1 生殖細胞が蛍光を発する形質転換メダカ

現在、生殖腺を構築する2つの細胞系列「生殖細胞系列」と「生殖腺体細胞系列」の各分化段階の特定と相互作用、またその相互作用が性決定分化過程のどこに関与しているかについて、変異体解析やRNA微量注入による特定遺伝子機能解析、細胞系譜同定などを通じて研究を行っている。

1) 性分化・生殖腺形成異常の突然変異体の単離とその原因の探索

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

図2 性転換突然変異体 *totoro*

そのうちのひとつ *totoro* は遺伝的性と表現型の性が不一致（Y染色体を持っていても卵巣形成がおきたりする）の表現型を示し、生殖細胞分化増殖が異常をきたしていることが明らかとなりつつある（図2）。

2) 特定発生段階—細胞からの網羅的発現解析と主要な遺伝子の機能解析

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

3) 特定細胞を新たに可視化した遺伝子導入メダカの開発

4) 生殖腺形成・性決定分化に関与する細胞の詳細な発生運命解析



特定遺伝子産物で可視化した細胞を *in vivo* のムービー撮影などで追跡し、細胞発生運命と遺伝子機能を解析しつつある。

参考文献

1. Morinaga, C. et al. (2004) Mutations affecting gonadal development in Medaka, *Oryzias latipes*. *Mech. Dev.* **121**, 829-839.
2. Naruse, K. et al. (2004) Medaka Gene Map: The Trace of Ancestral Vertebrate Proto-chromosomes Revealed by Comparative Gene Mapping. *Genome Res.* **14**, 820-824.
3. Tanaka, M. et al. (2001) Establishment of medaka (*Oryzias latipes*) transgenic lines with the expression of green fluorescent protein exclusively in germ cells: A useful model to monitor germ cells in a live vertebrate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **98**, 2544 - 2549.
4. Wakamatsu, Y. et al. (2001) The see-through medaka: A fish model that is transparent throughout life. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **98**, 10046 - 10050.
5. 田中実 et al. (2003) RNA 翻訳制御による生殖細胞形成. *細胞工学* **22**(10), 1073-1076.
6. 木下政人 et al. (2000) トランスジェニックフィッシュ系統の作出とプロモーター解析. *蛋白質核酸酵素* 12月増刊号「小型魚類研究の新展開」**45**, 2954-2961.

STAFF

田中 実
助教授特別協力研究員
斉藤 大助特別共同利用研究員
青木 裕美子
中村 修平
有田 かおり
黒川 紘美



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

網膜における領域特異化の分子機構

脳・神経系では、領野、神経核、等と呼ばれる数多くの部区分が存在し、それぞれ独自の機能を担っている。しかしながら、その形成の仕組みは未だ十分に解明されていない。我々は、脳の一部から発生する眼の網膜における領域特異化の問題を取り上げ、網膜において前後軸（鼻耳軸）並びに背腹軸方向の領域特異性獲得の分子機構を明らかにする研究を行っている。既にRLCS法によって、ニワトリ胚の網膜において領域特異的に発現する分子群を網羅的に単離・同定する作業を完了した（図1A）。同定した分子は前後軸方向で33分子、背腹軸方向で20分子におよぶが、この中には数多くの転写調

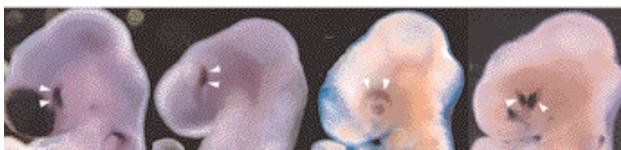


図1 A 網膜内で領域特異的に発現する遺伝子群
in situ hybridizationによる個々の遺伝子の発現領域の解析。それぞれ、網膜の前側、後側、背側、あるいは腹側で特異的に発現している遺伝子であることが判る。

節因子、膜分子、分泌因子、シグナル伝達因子、細胞骨格関連分子、等が存在している。これまでに、CBF-1、-2等の転写調節因子、RALDH-1、-3等のレチノイン酸合成酵素、Ventriculinと名付けたBMP-2、-4の中和因子等を同定し、報告している。また、異所的な遺伝子発現、遺伝子変換マウスの作成等によって、これらの遺伝子の役割と相互関係を解析している（図1B）。この研究を通して、網膜における領域特異化の仕組みを解明する。

領域特異的神経結合形成の分子機構

神経系では、その発生過程において、様々な領域で、ある領域の神経細胞から発した神経軸索が、別の特定の領域の神経細胞に対して二次元的相対位置関係を保存した形で正確に対応して結合する、いわゆるトポグラフィック投射路が形成される。網膜視蓋投射の系では、網膜の鼻側（前側）あるいは耳側（後側）の領域から発した視神経は、視中枢（ニワトリでは視蓋、哺乳類では上丘）のそれぞれ後側、前側の領域に選択的に神経結合を形成する。同様に、背側からは腹側に、腹側からは背側の領域に投射が起こる。この視神経のトポグラフィ

<http://niwww3.nibb.ac.jp/>

統合神経生物学研究部門

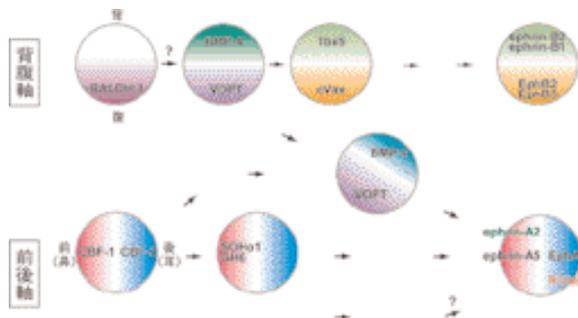


図1 B 網膜における領域特異化の遺伝子カスケード

発生段階は左から右へと進む。Ventriculin (VOP1) はまず背腹軸方向に勾配をなしてBMP-4と拮抗するが、次に両軸に対して勾配をなして、BMP-2と拮抗する。この連続的な2つのBMPシグナルが領域特異的視神経投射に重要な働きをしている。

ックな投射には、上記の網膜の領域特異化が密接に関係している。我々は、網膜において領域特異的な発現を示す転写調節因子等の発現部位を変えることによって、視神経の投射先における領域を人為的に変えることを示した。ニワトリとマウスを用いて、視神経が視中枢の正しい相手と神経結合を形成する仕組み、特に神経軸索先端の成長円錐の挙動やシナプス形成を統御する分子機構を中心に研究を行っている（図2A）。

受容体型プロテインチロシンホスファターゼ (Ptpz) の関わる生命現象

Ptpzは主に中枢神経系に発現するプロテオグリカンに属する分子である（図2B）。Ptpzには3つのスプライシングアイソフォームが存在する。我々はPtpzのリガンド分子としてPleiotrophinとMidkineを同定するとともに、これらリガンドの結合により神経細胞分化、細胞移動が誘導されること、またPtpzがC末でPSD95ファミリーと結合していること、等を明らかにしてきた。最近、Ptpz遺伝子ノックアウトマウスを用いて、本分子が胃粘膜上皮細胞に

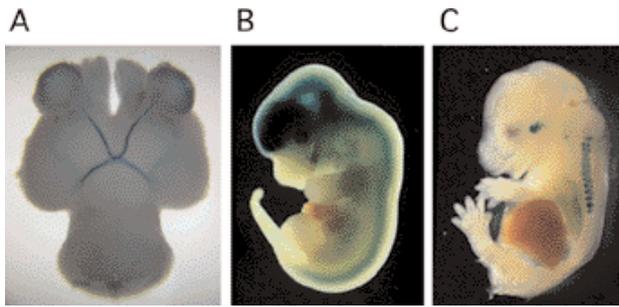


図2 遺伝子変換マウスによる遺伝子機能の研究

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

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

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

も発現しており、H. pylori 菌の分泌する VacA 毒素の受容体として胃潰瘍形成に関与していることを明らかにした。今後、本分子の情報伝達系の究明と、脳形成、脳機能（特に記憶、情動、行動）における役割に迫る。

塩分摂取行動制御の脳内機構

Na_x (Na_v2/NaG) イオンチャンネルは、電位依存性 Na チャンネルフ

アミリー (Na_v1) と一次構造上、比較的近い構造を有するものの、その機能と役割は明らかになっていなかった。我々は、 Na_x 遺伝子欠損マウスを作成し（図 2C）、その解析を通して、このチャンネルが体液中の塩濃度検知に関わる脳室周囲器官に発現していること、欠損マウスでは脳室周囲器官の神経活動が活性化されていること、また、食塩水を過剰に摂取することを見出した。更に最近、このチャンネルが、細胞外の Na^+ イオン濃度の生理的範囲での上昇にตอบสนองして開口する Na チャンネルであることを明らかにした（図 3）。今後は、体液塩濃度の恒常性維持に関わる脳内機構と行動制御機構を明らかにする研究を展開する。

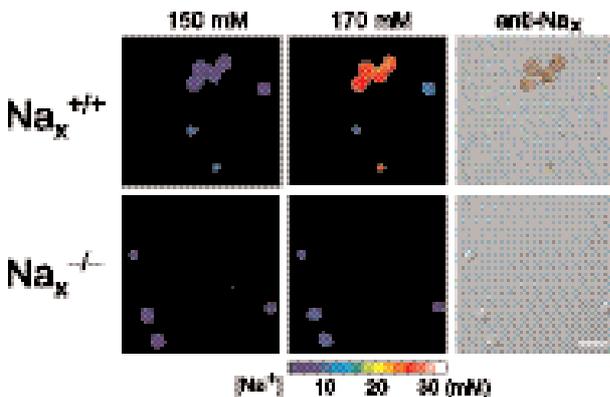


図3 脳弓下器官ニューロンの Na^+ 流入応答

Na_x 遺伝子を欠損した細胞あるいは発現していない細胞では、細胞外 Na^+ 濃度上昇にตอบสนองした Na^+ 流入は見られない。

参考文献

1. Yuasa, J., Hirano, S., Yamagata, M. and Noda, M. (1996) Visual projection map specified by expression of transcription factors in the retina. *Nature* **382**, 632-635.
2. Sakuta, H., Suzuki, R., Takahashi, H., Kato, A., Shintani, T., Iemura, S., Yamamoto, T.S., Ueno, N. and Noda, M. (2001) Ventroptin: A novel BMP-4 antagonist expressed in a double-gradient pattern in the retina. *Science* **293**, 111-115.
3. Shintani, T., Kato, A., Yuasa-Kawada, J., Sakuta, H., Takahashi, M., Suzuki, R., Ohkawara, T., Takahashi, H. and Noda, M. (2004) Large-scale identification and characterization of genes with asymmetric expression patterns in the developing chick retina. *J. Neurobiol.* **59**, 34-47.
4. Kawachi, H., Fujikawa, A., Maeda, N. and Noda, M. (2001) Identification of GIT1/Cat-1 as a substrate molecule of protein tyrosine phosphatase ζ/β by the yeast substrate-trapping system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**, 6593-6598.
5. Fujikawa, A., Shirasaka, D., Yamamoto, S., Ota, H., Yahiro, K., Fukada, M., Shintani, T., Wada, A., Aoyama, N., Hirayama, T., Fukamachi, H. and Noda, M. (2003) Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori*. *Nature Genet.* **33**, 375-381.
6. Watanabe, E., Fujikawa, A., Matsunaga, H., Yasoshima, Y., Sako, N., Yamamoto, T., Saegusa, C. and Noda, M. (2000) Nav2/NaG channel is involved in control of salt intake behavior in the central nervous system. *J. Neurosci.* **20**, 7743-7751.
7. Hiyama, T.Y., Watanabe, E., Ono, K., Inenaga, K., Tamkun, M.M., Yoshida, S. and Noda, M. (2002) Na_x channel involved in CNS sodium-level sensing. *Nature Neurosci.* **5**, 511-512.

STAFF



野田 昌晴
教授



新谷 隆史
助手



作田 拓
助手



楡山 武史
助手



高橋 弘雄
研究員

技術課技術職員

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

特別協力研究員

田村 洋
総合研究大学院大学
大河原 剛
井原 賢
米原 圭祐
田中 瑠美
櫻谷 和真
清水 秀忠
中村 佳世

技術支援員

溝口 正枝
山田 薫
綾部 夕子
後藤 恵
事務支援員
小玉 明子

基礎生物学研究所



www.nibb.ac.jp/divspe1/

脳生物学研究部門

大脳皮質は、ヒトを含めた霊長類でもっとも顕著に進化しており、その高次脳機能に重要な役割を果たしている。前世紀の初頭、ブロードマンは、大脳皮質をヒトにおいて52の領野に分けた。これが有名なブロードマンの領野である。彼の考えが大筋に於いて受け入れられるには、半世紀余りを要したが、現在では、機能的MRI法等のイメージング手法を駆使した大脳皮質の各領域の機能的局在が詳しく調べられており、大脳皮質領野という概念は、ヒトを含めた霊長類の高次機能を理解する時、重要な概念の一つとなっている。

大脳皮質領野形成機構

(1) 大脳皮質領野

大脳皮質領野が発生的にどのようにして決定されるのかということについては、従来より2つの異なる考え方があった。一つは、将来大脳皮質を将来構成する細胞が脳室の分裂層にある時にすでにその運命が決定されているという考え方であり、今一つは、視床からの入力によって視覚野、聴覚野等への領域特異性が決定されるという考え方である。この10年余りの間に、げっ歯類を材料に用いた研究から、大脳皮質の領域（この場合領野よりは広い）に特異的に発現する遺伝子がいくつか調べられ、それが視床の入力とは独立に遺伝的にその発現が制御されていることが明らかになった。しかし、大脳皮質領野の決定がどの程度まで遺伝的にプログラムされており、どの程度まで環境入力によって可変的かは、依然未解決の問題である。

(2) 大脳皮質の進化

大脳皮質は、哺乳類、殊にヒトで最も顕著に発達している。例えば、神経細胞を作る分裂組織や海馬等では、体重比で補正して、食虫類とヒトでは4~5倍程度の差しか無いにも拘わらず、大脳皮質では200倍もの差がある。このことは、哺乳類の脳機能の進化に於いて、大脳皮質の進化が極めて重要であることを示している。ネズミと霊長類の比較解剖学的な対象は、大脳皮質以外の脳構造については、95%近くの対応がみついているが、大脳皮質については、逆に殆ど対応がみついていない。最近のヒトや遺伝子マウスの全配列の決定によっても、ヒトとマウスでは、遺伝子数は殆ど変化していないとされている。しかし、どのようにして大脳皮質領野の急速な拡大が進化上生じたのか非常に興味深い。

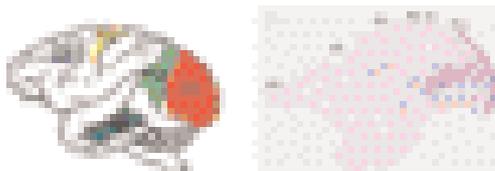
(3) 霊長類の大脳皮質領野特異的に発現する遺伝子

私達は、上述した大脳皮質領野特異性の発生と進化の未解決の問題を分子細胞レベルから解明する為には、大脳皮質の発達した霊長類の大脳皮質領野に特異的に発現する遺伝子を分離し解析することが有効と考え、研究を開始した。渡我部等は、マイクロアレイ法により、1088遺伝子中、ヒトの3領野（前頭葉、運動野、後頭葉）に於いて、どの程度の遺伝子発現の差異が見られるのか検討した（那波新潟大脳研教授との共同研

究）。その結果、個体差を平均化した上で領野間の差を比較すると、最大3~4倍の差異を示すものが1つ、2~3倍のものが1つある以外は、全て2倍以内の差異しかなかった。従って、大脳皮質の遺伝子発現は、意外な程領野間での差がないことが分った。しかし、この結果は、領野間での発現パターンが異なるものが存在しないということの意味するものではない。数は少なくとも領野間で顕著な発現の差を示す遺伝子が存在する可能性はある。そこで、Differential Display法を用いて、霊長類（マカク属）の大脳皮質の代表的領野間（前頭葉、運動野、側頭葉、視覚野等）で発現に顕著な差が見られる遺伝子を探索した。その結果、領野間で最大10倍以上の差のある遺伝子を見出した。そのうちの1つは、視覚野に特異的に発現する遺伝子 *occ1* (occipital 1; 図1参照、文献2より引用) であり、他の1つは、運動野特異的に発現する遺伝子 (*gdf7*) である (文献3)。更に、連合野や高次感覚野に特異的に発現している遺伝子 *RBP* を見出した (印刷中)。

例えば、*occ1* は、一次視覚野 (V1) に顕著に発現がみられ、2次視覚野 (V2) では、急激にその発現が低下し、更に前部に移行するに従って、その発現量は急速に低下する。これは、前述したブロードマンの領野に厳密に対応する発現パターンを示すおそらく最初の例である。興味深い

ことに、*occ1* 遺伝子は、網膜からの電氣的活動を遮蔽すると、視覚野での発現が顕著な低下を見せる。従って、*occ1* は、大脳皮質の視覚野がどのように発生と進化的制御を受けているのか

図1 大脳皮質領野と視覚野特異的に発現する遺伝子 *occ1*

を明らかにする上で、有力なアプローチと考え解析を進めている。

前述したように、*occ1*, *gdf7*, *RBP*等の大脳皮質の領域特異的な顕著な発現パターンを示す遺伝子は、約3万遺伝子の内でも、おそらく30個よりかなり少ない(0.1%以下)と推測されるが、現在、RLCS法により20個程の遺伝子を分離しており、このような遺伝子の機能的解析から、哺乳類の大脳皮質の発生と進化の様式を明らかにしたいと考えている。

学習行動下での遺伝子発現

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

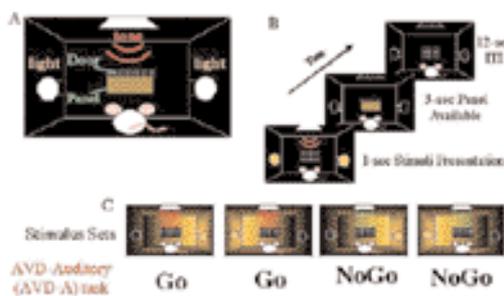


図2 視聴覚弁別課題

刺激としてランダムに呈示し、餌報酬により訓練したラットに於いて、例えば音刺激条件下での*c-Fos*の聴覚野と視覚野に於ける発現量を比較したところ、聴覚野で有意に*c-Fos*発現の増大が見られた。更に、この課題依存的な*c-Fos*の発現が興奮性の神経細胞にのみ見られることを明らかにし、電気生理学方法や従来のイメージング法では難しい細胞レベルでの神経回路網の変化を知ることが可能であることを示した。

今一つは、当研究室で開発した、ホイール走行システムである(図3)。これは、ホイール上の足場の形を変化させて回転したときマウスがその形に応じて走行できるようになるのに必要な脳内に於ける神経回路を調べるものであり、手続き記憶の脳内経路を細胞レベルで明らかにすることを目指しているが、線状体の介在神経のサブクラスによって、パターン変化時の*c-Fos*発現が異なることを見出している。この知見も従来の電気生理学やイメージングでは、知られていないものであり、行動解析と結び付けた遺伝子発現の手法が今後有効であることを示している。更に、多点電極記録法による生理学的手法を平行して行い、大脳皮質や線状体に於ける情報処理の特質を解析している。

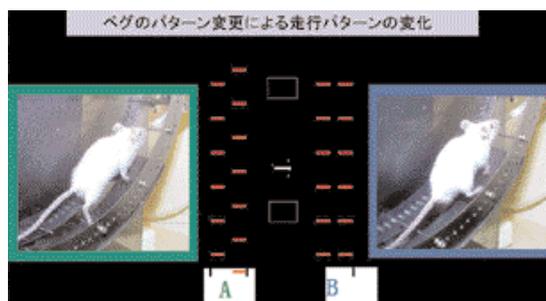


図3

参考文献

1. Onishi, A., Koike, S., Ida, M., Imai, H., Shichida, Y., Takenaka, O., Hanazawa, A., Komatsu, H., Mikami, A. Goto, S., Suryobroto, B., Kitahara, K. and Yamamori, T. (1999) Dichromatism in macaque monkeys. *Nature* **402**, 139-140
2. Tochitani, S., Liang, F., Watakabe, A., Hashikawa, T. and Yamamori, T. (2001) *occ1* is preferentially expressed in the primary visual cortex in an activity-dependent manner: a pattern of gene expression related to the cytoarchitectonic area in adult macaque neocortex. *Eur. J. Neurosci.* **13**, 297-307.
3. Watakabe, A., Fujita, H., Hayashi, M. and Yamamori T. (2001) GDF7, a BMP/TGF beta family member, is enriched in the primary motor area of monkey neocortex. *J. Neurochem.*, **76**, 1455-1464.
4. Sakata, S., Kitsukawa, T., Kaneko, T., Yamamori, T. and Sakurai, Y. (2002) Task-dependent and cell-type-specific Fos enhancement in rat sensory cortices during audiovisual discrimination. *Eur J Neurosci.*, **15**, 735-743.
5. 山森哲雄 活動依存的遺伝子発現を指標とした学習行動のメカニズムの解明 蛋白質核酸酵素 (増刊号, 神経回路の機能発現のメカニズム, 大森治紀, 渋谷克栄, 野田亮, 山森哲雄編) 49 433-438, 2004年

STAFF



山森 哲雄
教授



小峰由里子
助手



渡我部昭哉
助手



木津川尚史
助手
(休職中)



司 晓輝
Si, Xiaohui
研究員

技術課技術職員
大澤 園子
博士研究員
坂田 秀三

総合研究大学院大学院生
高畑 享
佐々木 哲也
高司 雅史
広川 純也
中村 徹

特別協力研究員
小松 勇介

技術支援員
三木 和彦
石川 隆子
林 ひとみ

行動生物学研究部門

フェロモンと行動

一方で私たちは、ほ乳類プライマーフェロモン分子の単離精製・構造決定を行っている。最近では覚醒・緊張状態を高める警報フェロモンや、逆に緊張を解きリラックスさせる安寧フェロモンなどの存在を示唆する報告もあり、応用的価値に対する期待が高まっている。しかしながら、神経機構や行動様式の単純な昆虫でのフェロモン研究とは異なり、ほ乳類では未だ傍証的なものにすぎず、栄養条件、光条件、温度条件、内分泌条件といった諸種の要因がフェロモン効果の生物学的検定を難しくしている。そこで、生理機能に影響を及ぼすフェロモン解析系の確立が急務である。当研究部門では、げっ歯類（マウス・ラット）をモデル動物に、性差・生育環境・内分泌環境に規定される行動変化に関連した遺伝子の

同定、発現制御機構、フェロモンに対する応答性について解析を行っていく。

参考文献

1. Kiyokawa Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. (2004) Partner's stress status influences social buffering effects in rats. *Behavioral Neuroscience* (in press)
2. Kinoshita M, l'Anson H, Tsukamura H and Maeda K-I. (2004) Fourth ventricular alloxan injection suppresses pulsatile luteinizing hormone release in female rats. *Journal of Reproduction and Development* (in press)
3. Kiyokawa Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. (2004) Testosterone modification on alarm pheromone production and secretion. *Hormones & Behavior* **45**: 122-127
4. Kiyokawa Y, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. (2004) Alarm pheromones with different functions are released from different regions of the body surface of male rats. *Chemical Senses* **29**: 35-40
5. Moriyama R, Tsukamura H, Kinoshita M, Okazaki H, Kato Y and Maeda K-I. (2004) *In vitro* increase in intracellular calcium concentrations induced by low or high extracellular glucose levels in ependymocytes and serotonergic neurons of the rat lower brainstem. *Endocrinology* **145**: 2507-2515.
6. Imamura T, Ohgane J, Ito S, Ogawa T, Hattori N, Tanaka S, Shiota K. (2001) CpG island of rat sphingosine kinase-1 gene: Tissue dependent DNA methylation status and multiple alternative first exons. *Genomics* **76**: 117-125.

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

脳のDNAメチル化パターン

私たちは、ジーンサイレンシングの中心的メカニズムの一つであるDNAメチル化を指標として、染色体上の性差を調べている。このようなエピジェネティックな修飾は、一旦分化すると固定化され、ゲノム上に体内外の環境に関わる重要な情報を記憶させるシステムとして働いている。社会行動を考えたとき、仮に遺伝的バックグラウンドが同一な個体同士でも、生育環境が違えば行動パターンは互いに異なることから、脳において通常は発現を抑制されている遺伝子群が関係している可能性もあり、この場合、ゲノムDNA上にその仕組みを考えなければならない。性差については、性染色体に性特異的遺伝子が全て揃っているというよりも、むしろ常染色体上の遺伝子群の脳における発現制御も深く関連していると考えている。脳の性差と関連したゲノム領域の網羅的同定が当面と目標となる。



図1 脳における様々な分子の発現パターン

脳の領域や細胞の形態・機能にしたがったDNAメチル化パターンが形成され、遺伝子発現を規定していると考えられる。

STAFF



森 裕 司

教授

(東京大学大学院農学生命科学研究科)



束 村 博 子

助教授

(名古屋大学大学院生命農学研究科)



今 村 拓 也

助手



池 邑 良 太

研究員

www.nibb.ac.jp/neurophys/

神経生理学研究室

脳の機能は、感覚情報処理・記憶学習・運動制御・情動など多岐に渡るが、全ての機能は神経細胞とグリア細胞の働きが基盤となっている。我々の研究室では、特に神経細胞とグリア細胞の相互作用に着目して研究を進めている。その過程で、このような相互作用は神経の再生や可塑性、最近では体液ナトリウム濃度のセンシングに関与していることが明らかとなってきた。

Na_xナトリウムチャンネルの生理機能

Na_xは一次構造の上では電位依存性ナトリウムチャンネルと相同性を持つが、電位刺激では活性化されることはなく永らく機能不明のチャンネル分子であった。我々はNa_x遺伝子欠損マウスを開発、解析を進めたところ、①Na_x遺伝子が脳のナトリウム受容部位であるとされる脳室周囲器官のグリア細胞に発現していること(図1)、②遺伝子欠損マウスは過剰に塩分を摂取すること(図2)、遺伝子欠損マウス由来の細胞は、細胞外ナトリウム濃度を検出するセンサー機能が欠失していることを発見した。すなわち、Na_xは脳で体内の高くなったナトリウム濃度を検出しているセンサー分子であると考えられる。



図1 脳におけるNa_xの発現部位(青色)
Na_xは脳室周囲器官と呼ばれる特殊な器官に発現する。脳室周囲器官には血液脳関門が存在しないため、血液中のナトリウム濃度を直接検出することができる。

Na_xが検出している細胞外ナトリウム変化は極めて微小であり、このようなイオンチャンネルは他に例がない。Na_xは脳室周囲器官という特殊な器官だけに発現しているだけではなく、大脳皮質など特定の領域に広く分布している。また末梢神経系では、非ミエリン形成型のシュワン細胞に特異的に発現している。神経細胞とグリア細胞との間隙は極めて狭く、神経細胞の電気的活動は細胞外ナトリウム濃度変化を伴うと考えられるため、Na_xは体液ナトリウム濃度の検出以外にも脳神経系の機能に重要な働きがある可能性があり、今後の課題である。

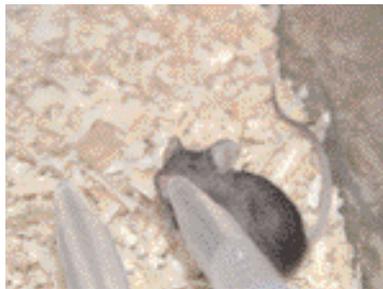


図2 Na_x遺伝子欠損マウスの行動解析
マウスに中身の異なる2つの飲水瓶を提示し、その嗜好性を定量的に測定する。その結果、Na_xナトリウムチャンネルは、食塩摂取という動物の行動を制御する分子であることが判明した。

コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの生理機能

コンドロイチン硫酸プロテオグリカン(CSPG)は軟骨の主成分の一つであるが、脳においても発生期から成熟した至るまで様々なタイプのCSPGが発現している。我々はモノクロナル抗体を作成して脳のCSPGを探索したところ、特定のCSPGが一部の神経細胞の周囲を取り巻くグリア細胞の細胞内外に発現していることを発見した(図3)。この構造はperineuronal netと呼ばれており、脳の可塑性が失われる時期か



ら発現してくる構造体である。一般的にCSPGは神経突起の伸長を阻害することから、脳内の特定の神経回路網を固定化する役割を担っているものと考えられる。この特定の神経回路の役割や、どのようなアルゴリズムで特定の神経細胞が選択されるなど、今後の神経科学のテーマとして興味深いところである。

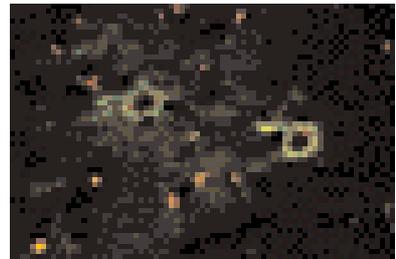


図3 Perineuronal net
特定のCSPGが一部の神経細胞を取り巻いている(緑色)。粒状に見えるのは、シナプス部位が抜けているためである。

参考文献

1. Watanabe, E., Fujita, S.C., Murakami, F., Hayashi, M. and Matsumura, M. (1989) *Neuroscience* 29, 645-657
2. Watanabe, E., Fujikawa, A., Matsunaga, H., Yasoshima, Y., Sako, N., Yamamoto, T., Saegusa, C., and Noda, M. (2000) *J Neurosci*, 12, 7743-7751
3. Hiyama, T.Y., Watanabe, E., Ono, K., Inenaga, K., Tamkun, M.M., Yoshida, S., Noda, M. (2002) *Nature Neurosci*, 5, 511-512
4. 渡辺英治、野田昌晴(2003)ナトリウムチャンネルの構造と機能。神経研究の進歩, 47, 159-168

STAFF



渡辺 英治
助教授

技術支援員
竹内 和美

神経生化学研究室

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

(1) ドーパミン情報伝達の研究

ドーパミン受容体は遺伝子の構造・薬理的性質・情報伝達様式によりD1様受容体(D1, D5)およびD2様受容体(D2, D3, D4)に大別される。ドーパミンによる情報伝達は、ペプチドホルモンの分泌調節・運動の調節・摂食行動の調節・シナプス伝達および神経発達などに関与する(文献1)。また、パーキンソン病などの神経疾患、統合失調症などの精神疾患の病因解明と治療に深く関わる。

D1様受容体とD2様受容体は細胞内情報伝達において正反対の性質をもつが、協働的に作用し機能が発揮される。ドーパミンの情報伝達の理解を深めるため、D1様受容体とD2様受容体の両方を欠損することによりドーパミンの情報伝達を変換した変異マウスを用いる。D1様受容体/D2様受容体の



多重変異マウスでは、単独の欠損マウスでは見られない行動異常が観察される。この表現型を指標にしてドーパミンの情報伝達の役割を明らかにしたい。

(2) 新しいコンディショナル変異導入法の開発

マウス個体を用いた遺伝子機能解析を詳細に行うため、独自の方法でマウスの特定組織や特定時期において標的遺伝子にアミノ酸置換による機能変換を導入する「コンディショナル変異導入法」を開発している。NMDA型グルタミン酸受容体(NMDAR)は興奮性シナプス伝達を担い、神経細胞の発達・分化、神経伝達の可塑性、神経細胞障害に重要な役割をもつ(文献2)。これまでにNMDARを標的遺伝子として、本変異導入法によりアミノ酸置換を導入し、NMDAR異常活性化を示すマウスを作製した。本マウスを用いてNMDARの異常活性化に関与する分子群の探索をおこない、新しい治療標的分子の候補を見出す。

(3) 膜タンパク質複合体の機能解析

肢帯型筋ジストロフィーの一群であるサルコグリカノパチー(SGP)は、サルコグリカン(SG)複合体のサブユニット(α -, β -, γ - and δ -SG)が責任分子である。SGは筋線維膜上に存在し、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因分子ジストロフィン(DYS)とDYS複合体を形成する。私たちは、SG欠損マウスを作成し、SGサブユニットのいずれか一つが欠損しても、DYS複合体全体の機能異常により筋ジストロフィーを示すことを報告した(文献3, 4, 5)。このことは、DYS複合体全体を対象として機能を考えるべきことを示している。この知見を応用し、神経伝達物質受容体が形成する複合体を対象として機能解析を行なう。

図1 NMDAR変異導入マウスは、tail suspension testで clasp ing (四肢の屈曲)を示す。

参考文献

1. Wang, Y., Xu, R., Sasaoka, T., Tonegawa, S., Kung, M.-P., and Sankoorikal, E-B. (2000) Dopamine D2 Long receptor-deficient mice display hypolocomotion and reduced level of haloperidol-induced catalepsy. *J Neurosci*, **20**, 8305-8314
2. Iwasato, T., Erzurumlu, R. S., Huerta, P. T., Chen, D. F., Sasaoka, T., Ulupinar, E., and Tonegawa, S. (1997) NMDA receptor-dependent refinement of somatotopic maps. *Neuron*, **19**, 1201-1210
3. Araishi, K., Sasaoka, T., Imamura, M., Noguchi, S., Hama, H., Wakabayashi, E., Yoshida, M., Hori, T., and Ozawa, E. (1999) Loss of the sarcoglycan complex and sarcospan leads to muscular dystrophy in beta-sarcoglycan-deficient mice. *Hum Mol Genet* **8**, 1589-1598
4. Hagiwara, Y., Sasaoka, T., Araishi, K., Imamura, M., Yorifuji, H., Nonaka, I., Ozawa, E., and Kikuchi, T. (2000) Caveolin-3 deficiency causes muscle degeneration in mice. *Hum Mol Genet* **9**, 3047-3054
5. Sasaoka, T., Imamura, M., Araishi, K., Noguchi, S., Mizuno, Y., Takagoshi, N., Hama, H., Wakabayashi-Takai, E., Yoshimoto-Matsuda, Y., Nonaka, I., Kaneko, K., Yoshida, M., and Ozawa, E. (2003) Pathological analysis of muscle hypertrophy and degeneration in muscular dystrophy in gamma-sarcoglycan-deficient mice. *Neuromuscul Disord* **13**, 193-206

STAFF



菅岡 俊邦
助教授



www.nibb.ac.jp/gene1/

分子遺伝学研究部門

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

アサガオの易変性変異とトランスポゾン

我々は平賀源内の「物類品鑑」(1763)に記載された「時雨絞(雀斑; *flecked*)」や19世紀初頭の文化文政期に出現した「吹掛絞(*speckled*)」、紫地に青色の絞り花を咲かせる易変性「紫(*purple*)」変異など花色に係る易変性変異の同定を行った。その結果、江戸時代に花卉園芸化されて多種多様な変異が分離されたアサガオの自然突然変異の大部分は、我々がアサガオから最

初に単離した *En/Spm* 系の *Tpn1* と名付けたトランスポゾンとその類縁因子の挿入変異であることが明らかになった。*Tpn1* はトランスポゾンがコードしている転移に必要な転移酵素遺伝子が欠損している非自律性因子で、同じ細胞内に共存する自律性因子が作り出す転移酵素が作用して初めて転移脱離できる。多くの自然突然変異も *Tpn1* 類縁の非自律性トランスポゾンの挿入変異であり、また易変性の変異形質を示さず安定な変異であると考えられている自然突然変異の中にも、エピジェネティックな遺伝子発現の抑制などによって挿入された *Tpn1* 類縁の非自律性トランスポゾンが転移脱離できなくなって一見安定な変異形質を示すものや、挿入トランスポゾンの脱離やDNA再編成に付随する変異など種々の安定化機構が関与したと思われるものも見出せた。また、エピジェネティックな遺伝子発現制御が関与

する花模様の形成機構や花で発現する遺伝子の網羅的解析も行っている。

アサガオ近縁種の易変性変異

メキシコ原産で18世紀頃欧米で園芸化されたマルバアサガオにも「条斑絞(*flaked*)」と呼ばれる絞り花を咲かせる易変性変異が知られている。この易変性変異は、*Ac/Ds* 系のトランスポゾン *Tip100* が色素合成系遺伝子に挿入した自然突然変異であった。さらに、マルバアサガオの花色に関わる安定な自然突然変異の中にも新たな *Ac/Ds* 系トランスポゾンの挿入変異変異系統もあることが判明した。これらの結果は、アサガオやマルバアサガオの園芸化や育種の過程に自然突然変異原としてのトランスポゾンが重要な役割を果たしてきたことを示唆している。また、20世紀中葉に米国で園芸化された鮮やかな青色の花を咲かせるソライロアサガオの白色花自然突然変異体も

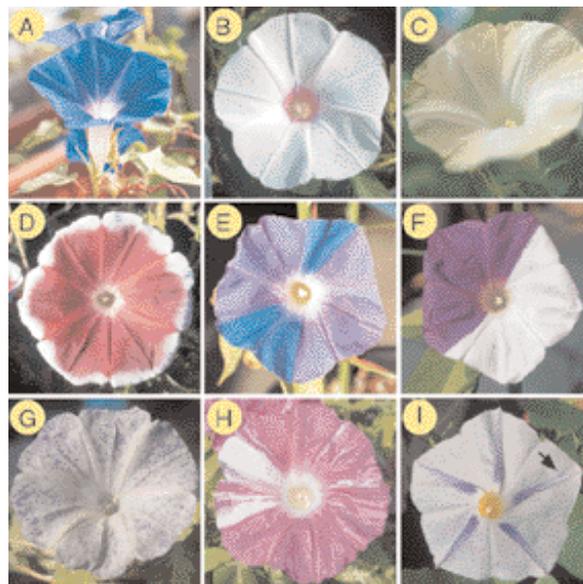


図1 野生型の青花アサガオ(A)と花色と模様に関する自然突然変異(B)-(H)、易変性ソライロアサガオ(I)易変性「雀斑」変異(F)、易変性「吹掛絞」変異(G)、易変性「紫」変異(E)、および少なくとも(B, C, H)の変異にも *Tpn1* 類縁因子が関与している。矢印は青色スポット。

トランスポゾン挿入変異体であった。淡青色地に青色の小さなスポットの花を咲かせる自然突然変異は、色素合成に係る転写制御遺伝子内にタンデムな重複が起こった変異で、体細胞相同組換えが重複配列で起きて復帰変異が生ずると思われる。

イネの易変性変異

ゲノム配列の解明が行なわれた単子葉植物のイネは、全世界の人口の過

半数の主食であり、また穀類のモデル植物でもある。しかしながら、トウモロコシの場合とは異なり、イネの易変性変異に関する解析はほとんどない。そこで、淡黄緑色地の葉に濃緑色のセクターが入る易変性 *virescent* 変異をマップベースクローニングにより、*Ac/Ds* 系の新たなトランスポソンの挿入変異であることを明らかにした。現在、このトランスポソンの転移活性を制御するために、エピジェネティックな転移制御の機構解明を行っている。

相同組換えを利用したイネゲノムの改変

イネのゲノム配列が明らかになるに従い、かなりのイネの遺伝子のホモログがシロイヌナズナには見出されないことも明らかになってきた。それ故、相同組換えによりゲノム上の内在性遺伝子をあらかじめデザインした配列に正確に改変する遺伝子ターゲティング法は未知遺伝子の機能解明のための必要不可欠な“Reverse Genetics”の手法と考えられる。従来、高等植物においては導入遺伝子の非相同組換えによるランダムなゲノムへの挿入に比べて相同組換えは起こりにくいため、組換えや修復の過程に関わる遺伝子の機能を改変して、相同組換えと非相同組換えの起こる相対的頻度を改善し、ターゲットされた形質転換体を得ようとする研究に多くの関心が集まっている。

しかしながら、ゲノム配列の解読後の機能ゲノム学的展開を視野に入れ、相同組換えのための遺伝子導入に伴って再生能や稔性の低下など種々の遺伝形質に影響を与えることは好ましくないと考え、ゲノム解析が進行していたイネ品種“日本晴”を用いて稀に生じる正しくターゲットされた体細胞相同組換体を多数の形質転換体中より探すことにした。そのため、我々は導入ベクターや選抜方法を工夫し、形質転換効率を高めて稀に起きる体細胞相同組換体を効率的に選抜するイネの遺伝子ターゲティング法を開発し、食味に関わる *Waxy* 遺伝子をモデルとした遺伝子ターゲティングに成功した。今後、さらにこの手法を用いて遺伝子発現の制御機構のみならず、ゲノムの動態の解明にも迫りたいと考えている。

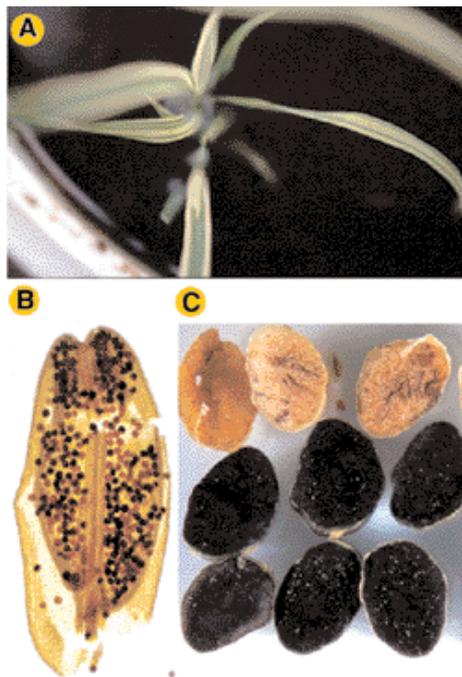


図2 イネの易変性 *virescent* 変異 (A) と相同組換えにより *Waxy* 遺伝子が改変されたトランスジェニックイネの籾 (B) と胚乳 (C)

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

参考文献

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

STAFF



飯田 滋 教授
寺田 理枝 助手
星野 敦 助手
桐根 一夫 助手
朴 慶一 研究者

技術課技術職員

田中 幸子
山口 勝司

特別協力研究者

香村 敏郎

技術支援員

森田 裕将
齊藤 美保
浅尾 久世
池谷 恭子
松本 美和子

博士研究者

定塚 恵世
股 彰 顕

総合研究大学院大学院生

大西 誠
島谷 善平

特別共同利用研究者

COTSAFTIS, Olivier

高木 恭子

事務支援員

三城 和子



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

複製阻害による組み換えの活性化

複製の阻害によって、組み換えが活性化されることを大腸菌で見出した。大腸菌ゲノムには複製を阻害する部位が知られている。その阻害部位近傍の組み換えが活性化することに気付いた。このようにゲノム上に見出される高い組み換え領域を「組み換えのホットスポット」と

呼んでいる。つまり複製阻害点はホットスポットになるが、複製阻害が起こらなくなった変異株では、組み換えは消失し、コールドスポットになった。この現象は、おそらく複製が正常に進行しなくなった時、その回避あるいは突破するために起こる生物反応の一部であろうと考えた。もしそうであれば、生物に普遍的な反応である可能性が高いと考え、この関係が真核生物でも成り立つかどうかを調べた。

複製阻害による遺伝子増幅

複製を阻害する部位は、バクテリアばかりでなく真核生物（酵母からヒトまで）のゲノムにも存在する。場所はリボソームRNA遺伝子（rDNAと呼ぶ）にある。真核生物のrDNAは、典型的な「繰り返し（リピート）遺伝子」として知られる。例えば出芽酵母では約150コピーのrDNAが12番染色体の一個所に集中している。このようなリピート遺伝子は、高等動物ゲノムに広く存在するリピート配列と同様不安定で、そのコピー数は常時変動している。複製阻害部位（RFBと呼ぶ）は図1のように各コピー内に存在し、rDNAの転写方向と逆（つまり左方向）から来る複製のみを阻害する。我々はこの部位での阻害が不

能になった変異株を分離し、その原因遺伝子（FOB1）を同定した。次にこの変異株のrDNA領域における組み換えを調べたところ、実際起こっていなかった。それどころか、この変異株では、通常起こっているはずのrDNAコピー数の増加や減少が全く起こっていなかった。この現象の説明は、基本的に大腸菌の複製阻害による組み換えの活性化モデルでうまく説明できる（詳しくは<http://www.nibb.ac.jp/~gene2/>）。これまではrDNAを含めリピート遺伝子のコピー数の変動の原因と機構は不明のままだったが、この発見が突破口となりrDNAをモデルとして当研究室で解析が進んでいる。

酵母のこの発見から、大腸菌の複製阻害点でも遺伝増幅が起こっている可能性が生じたため、調べたところ図2のような結果を得た。阻害点近傍に2コピーの繰り返しDNAを作ると、約10%の菌で約400コピーに増幅していることがわかった。

遺伝子増幅と遺伝子進化

「生物の進化」はもちろん生物学の大問題であるが、その前に「遺伝子の進化」が先行するだろう。各生物種のゲノム配列決定により、多量で詳細な遺伝子構造間の比較がなされているものの、そこから遺伝子進化の遷移状態や機構がわかることはなさそうである。一般には、遺伝子進化（一つの遺伝子から異なる機能を持つ遺伝子への変化）には、ま

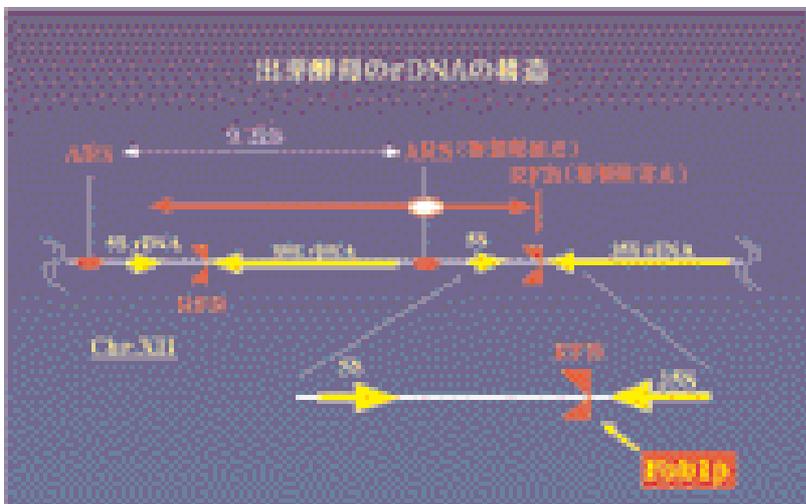


図1 出芽酵母のリボソームRNA遺伝子（rDNA）

1単位（9.1kb）に2種類のrDNA（5Sと35SrDNA）が含まれ、それが約150コピー繰り返される。各単位に複製開始点（ARS）と複製阻害点（RFB）が存在する。複製はARSより両方向に進行するが、右方向の複製のみRFBにおいて阻害される。この阻害にはFOB1遺伝子産物（Fob1p）が必要である。この阻害がrDNAの組み換え、コピー数の増減に必須である。

ず遺伝子コピーの増加が先行するという。次にそれらへの多数の変異が導入された後、選択圧が掛かり、それら遺伝子集団の中から新しい機能を獲得した

遺伝子が選ばれのが一つの考え方であろう。これこそ現在我々が取り組んでいるテーマの延長線上にある、魅力に富んだ手の届きうるテーマである。

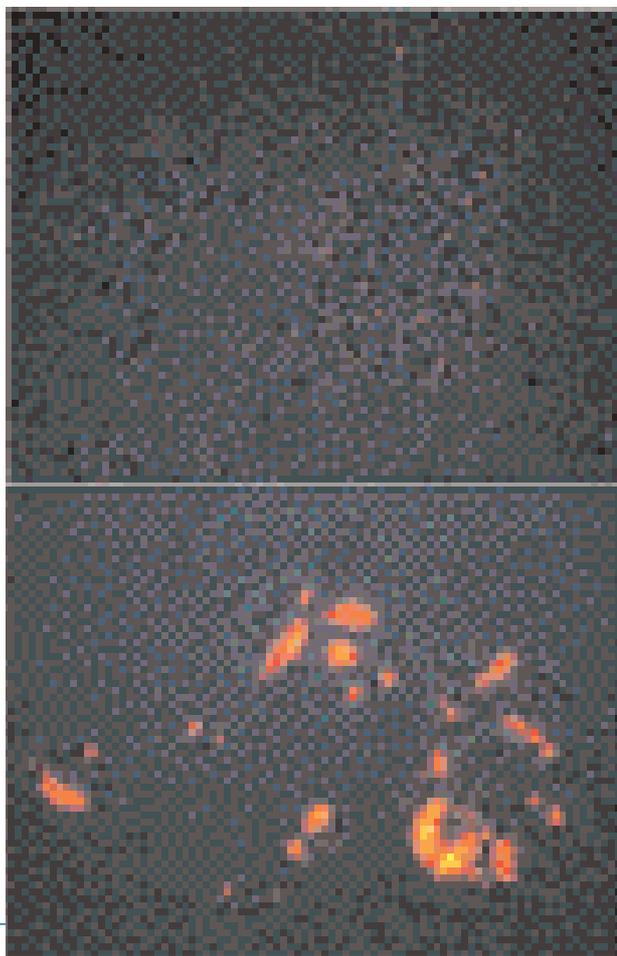


図2 大腸菌の複製阻害によるDNA増幅

上：1コピー株のコントロール。各細胞に1～2ケの小さなシグナルが見える。共に蛍光標識したHotDNAを用いてFISH法により観察した。

下：複製阻害により組換えが活性化される領域（Hot）を人為的に2コピーのリピート構造にすると菌の一部でHotDNAの爆発的な増幅（強いシグナル）が起こる。ハレーションを抑えるため、明るさを上の1/16に低下させている。

参考文献

1. Kobayashi, T., Heck, J. D., Nomura, M. and Horiuchi, T. (1998) Expansion and contraction of ribosomal DNA repeats in *Saccharomyces cerevisiae*: requirement of replication fork blocking (Fob1) protein and the role of RNA polymerase I. *Genes Dev.* **12**, 3821-3830.
2. Kodama, K., Kobayashi, T., Niki, H., Hiraga, S., Oshima, T., Mori, H. and Horiuchi, T. (2002) Amplification of Hot DNA segments in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol.* **45**, 1575-88.
3. Johzuka, K. and Horiuchi, T. (2002) Replication fork block protein, Fob1, acts as an rDNA region specific recombinator in *S. cerevisiae*. *Genes Cells* **7**, 99-113.
4. Takeuchi, Y., Horiuchi, T. and Kobayashi, T. (2003) Transcription-dependent recombination and the role of fork collision in yeast rDNA. *Genes Dev.* **17**, 1497-1506.
5. Kobayashi, T., Horiuchi, T., Tongaonkar, P., Vu, L., & Nomura, M. (2004) SIR2 regulates recombination between different rDNA repeats, but not recombination within individual rRNA genes in yeast. *Cell* **117**, 441-453.
6. 小林武彦, 竹内 靖, 定塚勝樹, 堀内高 (2001) 「DNA複製フォークの進行阻害と遺伝子増幅」蛋白質 核酸 酵素 増刊号 『DNA修復ネットワークとその破綻の分子病態』 **46**, 1004-1012.

STAFF



堀内 高
教授



小林 武彦
助手



定塚 勝樹
助手



芹澤 尚美
研究員

技術課技術職員
諸岡 直樹

博士研究員
児玉 顕一
Ganley, Austen
大住 克史

特別協力研究員
崔 泰林

総合研究大学院大学院生
渡邊 孝明

特別共同利用研究員
氏家 義史

技術支援員
石根 直美
稲垣 雅美

事務支援員
三上(永田) 由利子



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

植物細胞の起源

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

単細胞から多細胞への進化

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

www.nibb.ac.jp/evodevo/

生物進化研究部門

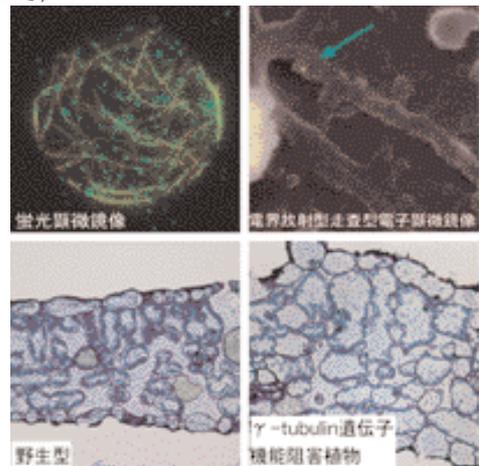
細胞から組織への進化

植物細胞は動物細胞と異なり細胞壁で囲まれており動けない。従って、細胞表層微小管系による細胞分裂・伸長方向制御によってその後の組織形態が決定される。我々は表層微小管の端に γ -チューブリンが存在し、遺伝子サイレンシングで表層微小管が消失し細胞形態が崩れることを明らかにした。そして、動物・菌類と異なり、植物細胞では γ -チューブリンが細胞表層にも局在することによって表層微小管系が形成されているのではないかという仮説を提唱した。 γ -チューブリンを細胞表層へ局在させる進化の鍵となったタンパク質の解明を目指している。

分裂組織の形成・維持機構の進化

茎頂分裂組織から無限に茎葉が形成される発生様式は植物の大きな特徴であるが、その分子機構はよくわかっていない。我々は茎頂分裂組織の観察が容易なヒメツリガネゴケで

図2 表層微小管上の γ -チューブリン(上左)は、電子顕微鏡で見ると微小管の端に局在し(上右)、タバコの中間の葉で発現を抑制すると、細胞の形態が異常になる(下右左)。



遺伝子トラップ系を作出し、約2万ラインをスクリーニングし茎頂分裂組織特異的発現を示す遺伝子の解析をすすめている。また、茎頂分裂組織は陸上植物の中で多様性に富んでいる。そこで、被子植物の茎頂分裂組織形成維持に重要なKNOX, ZWILLE, NACなどの転写因子、オーキシンの極性輸送およびその排出キャリアーであるPIN遺伝子のシグナルやコケでの機能を調べることにより茎頂分裂組織の多様性の分子実態を明らかにしようとしている。

花の進化

被子植物の生殖器官である花はホメオティック遺伝子によって形成される。花の起源と進化を調べるためにシャジクモ藻類、コケ植物、シダ植物、裸子植物における花器官形成ホメオティック遺伝子ホモログ(MADS-box遺伝子, LEAFY遺伝子)

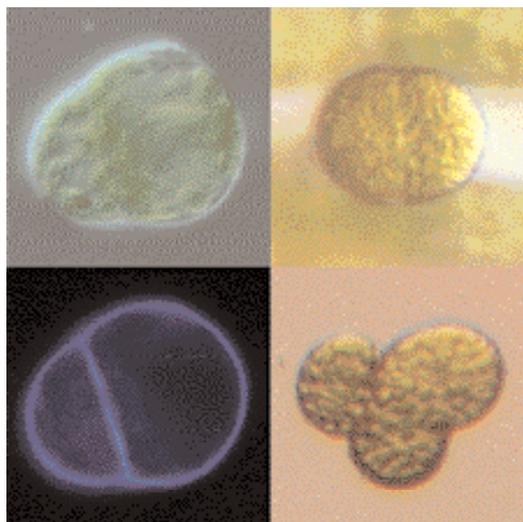


図1 ヒメツリガネゴケプロトプラストの正常な不等分裂(左上, 左下は細胞壁を染色してある)と異常を示すもの(右上, 右下)。

の機能解析を行った。その結果、これらの遺伝子は元来、卵、精子形成に関わっており、植物が陸上化した前後に遺伝子重複によって数が増え、増えた遺伝子が機能分化することによって花器官が進化した可能性が高いことがわかった。

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

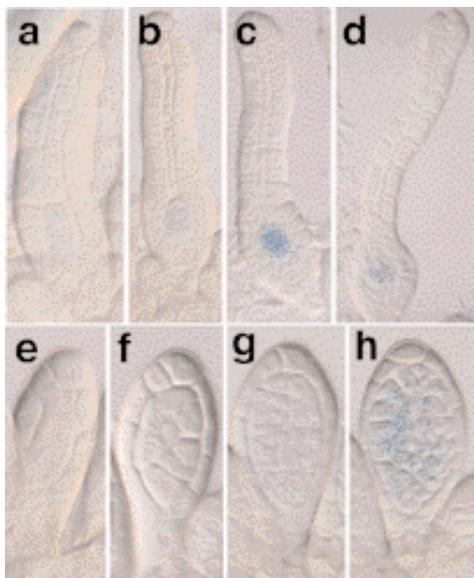


図3 ヒメツリガネゴケ MADS-box 遺伝子は卵 (a-d)、精子 (e-h) 形成時に発現している。

世代の進化

コケ植物と被子植物は4億年前に分岐した。ヒメツリガネゴケの完全長 cDNA ライブラリーを作成し、約8万の EST シーケンスを行い、シロ

イヌナズナゲノムと比較した。その結果、被子植物はコケ植物と大きく形態が異なっているにも関わらずほとんど同じ遺伝子を持っていることがわかった。約800程度の遺伝子だけがコケ特異的であり、これらは被子植物が進化する過程で失われてしまったものや、菌類などから平行伝搬してきたものらしい。ヒメツリガネゴケは植物の中で最も遺伝子ターゲティング効率が良いことから、分子生物学の新しいモデルとして注目されており、本 EST データおよび完全長 cDNA クロームは重要なリソースになると期待される。

種形成の分子機構

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

参考文献

1. Nishiyama, T., Fujita, T., Shin-I, T., Seki, M., Nishide, H., Uchiyama, I., Kamiya, A., Carninci, P., Hayashizaki, Y., Shinozaki, K., Kohara, Y. and Hasebe, M. (2003) Comparative genomics of *Physcomitrella patens* gametophytic transcriptome and *Arabidopsis thaliana*: Implication for land plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 8007-8012.
2. Kofuji, R., Sumikawa, N., Yamasaki, M., Kondo, K., Ueda, K., Ito, M. and Hasebe, M. (2003) Evolution and divergence of MADS-box gene family based on genome wide expression analyses. *Mol. Biol. Evol.* **20**, 1963-1977.
3. Sakakibara, K., Nishiyama, T., Sumikawa, N., Kofuji, R., Murata, T. and Hasebe, M. (2003) Involvement of auxin and a homeodomain-leucine zipper I gene in rhizoid development of the moss *Physcomitrella patens*. *Development* **130**, 4835-4846.
4. Hasebe, M., Wen, C.-K., Kato, M. and Banks, J. A. (1998) Characterization of MADS homeotic genes in the fern *Ceratopteris richardii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 6222-6227.
5. Hasebe, M., Omori, T., Nakazawa, M., Sano, T., Kato, M. and Iwatsuki, K. (1994) *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 5730-5734.
6. 長谷部光泰 (2002) 発生と進化を結ぶヒメツリガネゴケ。蛋白質核酸酵素 **47**, 1494-1499.

STAFF					技術課技術職員	博士研究員	技術支援員
					住川 直美	佐藤 良勝 青野 直樹 宮崎 さおり	木谷 雅和 青木 栄津子 大野 慈子 鈴木 順子 成瀬 まゆみ 尾藤 良美 牧野 治子 渡瀬 昌洋 谷川 由希 市川 有希
長谷部光泰 教授	村田 隆 助教授	藤田 知道 助手	日渡 祐二 助手	西山 智明 研究員		総合研究大学院大学院生 橋本 薫	特別共同利用研究員 森長 真一 細川 健太郎
							事務支援員 小島 洋子

種形成機構研究部門

生物の進化を探るにあたって重要なファクターと考えられるものの一つは、多様化の原動力としての種分化・種形成のメカニズムである。また、多様化という現象を理解するにあたっては、生物の新奇形質の獲得が遺伝学的・発生的にどのようなプロセスで起こってきたか明らかにすることも必須である。本研究部門では、分子的手法を用いてそれらのメカニズムを明らかにしてゆく。

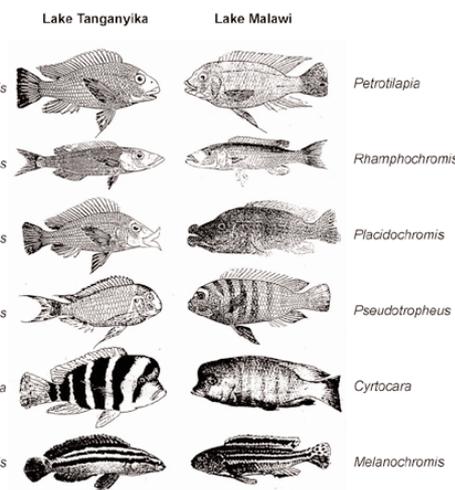
種分化・種形成のメカニズムを探る

アフリカ大陸のタンガニイカ湖、マラウイ湖、ビクトリア湖という三大湖には、それぞれ数百種の固有のカワスズメ科魚類（シクリッド）が生息しており、爆発的な適応放散によって著しい多様性を獲得していることで知られている。しかし、その表現型の多様化の背景となる遺伝子や発生プロセスの進化はまだほとんど明らかにされていない。東工大の岡田研究室では、種分化とその後の諸形質の多様化に関わる形態形成遺伝子を同定・単離し、その遺伝子が分子レベルでどのような影響をシクリッドの種分化に与えてきたかを検証している。本研究室では、この問題へのより発生的な観点から新しいアプローチ法を探る。その一環として、国立遺伝学研究所川上浩一助教授との共同研究を行い、ゼブラフィッシュでTol2トランスジェニックシステムを使ったゾーントラップスクリーニング法を行っている。本手法で探索された遺伝子が、シクリッドで特に多様性が見られる顎部の形態形成などに

どう関わっているのかは、興味深い課題である。

発生プロセスのシステムとしての進化を探る

上述の様に、個々の形態形成遺伝子の進化を探ることはもちろん重要であるが、実際は多くの形質は単一の遺伝子によってではなく、複数の遺伝子によって「システム」としてその発生プロセスがコントロールされている。シクリッドの例では、顎、歯、鰭などの多様性が、それぞれのシステムの、どの部分の、こういった変異によって獲得されてきたかは興味深い問題である。このような概念は、進化過程における新奇形質の獲得という問題に普遍的に当てはめることができるであろう。



参考文献

1. Shimamura M, Yasue H, Ohshima K, Abe H, Kato H, Kishihiro T, Goto M, Munechika I, Okada N (1997) Molecular evidence that whales form a clade within even-toed ungulates. *Nature* 388:666-70.
2. Takahashi K, Nishida M, Yuma M, Okada N (2001) Retroposition of the AFC family of SINES (short interspersed repetitive elements) before and during the adaptive radiation of cichlid fishes in Lake Malawi and related inferences about phylogeny. *J. Mol. Evol.* 53: 496-507.
3. Takahashi K, Terai Y, Nishida M, Okada N (2001) Phylogenetic relationships and ancient incomplete lineage sorting among cichlid fishes in Lake Tanganyika as revealed by analysis of the insertion of retroposons. *Mol. Biol. Evol.* 18:2057-66.
4. Terai Y, Mayer WE, Klein J, Tichy H, Okada N (2002) The effect of selection on a long wavelength-sensitive (LWS) opsin gene of Lake Victoria cichlid fishes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:15501-6.
5. Terai Y, Morikawa N, Okada N (2002) The evolution of the prodomain of bone morphogenetic protein 4 (bmp4) in an explosively speciated lineage of East african cichlid fishes. *Mol. Biol. Evol.* 19:1628-32.

図：タンガニイカ湖とマラウイ湖のシクリッドに観察される形態的多様性と類似性

シクリッドは爆発的な多様化を示しながらも異なる系統で似た形質を進化させている。(Kocher et al. 1993. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2:158-65 より転載)

STAFF



岡田 典弘
教授
(東京工業大学大学院生命理工学研究科)



高橋 一彦
助手



佐々木 剛
研究員

特別共同利用研究員
 梶本 禎哉
 藤村 衛至

構造多様性研究室

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

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

モンシロチョウを用いた研究により、鱗翅目昆虫の翅においても、脊椎動物の指の形成過程で知られるアポトーシス（細胞死）と類似の現象

が起きていることが示され、この細胞死が成虫翅の輪郭を出現させるメカニズムになっていることが分かった。また、細胞死の時期の前後で、翅の背腹上皮間の接着が強くなり、この結果、退化域での顆粒細胞による死細胞の貪食が効率よく行われていることがわかっている。

終令幼虫から蛹をへて成虫にいたる過程で、翅には気管およびトラキオール（毛細気管）が何度も進入して、空気供給をおこなうとともに、翅脈の配列や斑紋パターンを形作る因子として作用しているらしい。トラキオールの配列と鱗粉列に注目して、顕微鏡・電顕を併用して詳細に観察している。このような研究は、翅脈依存性の斑紋パターンのなりたちを研究する基礎としても重要である。

参考文献

1. Kodama, R., Yoshida, A. and Mitsui, T. (1995) Programmed cell death at the periphery of the pupal wing of the butterfly, *Pieris rapae*. *Roux. Arch. Dev. Biol.* 20, 418-426.
2. Yoshida, A., Arita, Y., Sakamaki, Y., Watanabe, K. and Kodama, R. (1998) Transformation from the pupal to adult wing in *Oidesmatophorus hirosakianus* (Lepidoptera: Pterophoridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 91, 892-857.

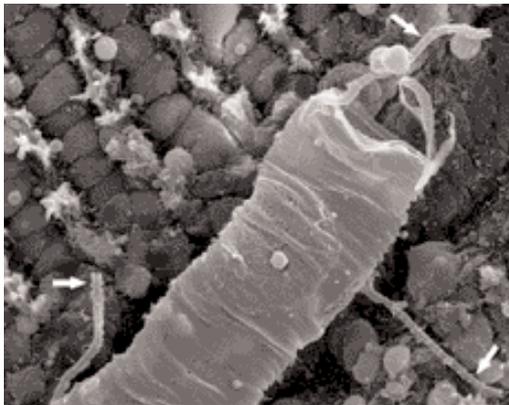
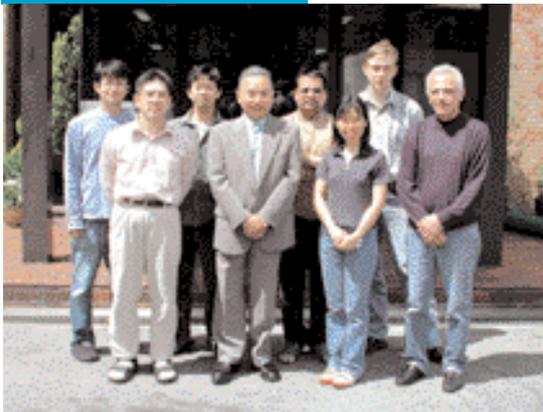


図1 走査電子顕微鏡による、蛹の翅の内部の観察 中央の灰色の筒が気管で、気管から細いトラキオールが伸び出している（白矢印）。背景は鱗粉細胞への分化が進行中の翅上皮細胞。

STAFF



児玉 隆治
助教授



www.nibb.ac.jp/celreg/

環境適応研究部門

生物を取り巻く自然環境は常に変化している。例えば温度は季節の移行に伴う長期的な、あるいは昼夜における短期的な時間経過の中で変動している。当研究室では、植物が「いかに環境の変化を検知し適応しているか」について、高等植物およびそのモデルであるラン藻を用いて、遺伝子発現の調節機構の視点から研究している。

システムティック・ゲノミクスとDNAマイクロアレイ法による環境変化検知機構の解明

全ゲノム塩基配列の決定により、ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 には 44 個のヒスチジキナーゼと 42 個のレスポンスレギュレーターが存在することが明らかになった。これらのタンパク質は二成分制御系と呼ばれるシグナル伝達系を構成しており、外部環境変化の検知に関わることが予想されている。当研究室では、これらのヒスチジキナーゼとレスポンスレギュレーター、さらにセリン/スレオニンキナーゼ及びシグマ因子などの遺伝子の破壊株を作成し、これらの遺伝子破壊株における全遺伝子発現の変化を DNA マイクロアレイ法で網羅的に解析している。その結果、低温、高温、浸透圧、イオン欠乏等の検知に関与するセンサーおよび遺伝子発現制御因子の同定に成功した。

我々は低温誘導性遺伝子 *desB* (ω 3 脂肪酸不飽和化酵素をコードする)の発現制御の研究から、低温シグナルの検知に関わる因子として、ヒスチジキナーゼ Hik33 を同定した。これは全ての生物を通じて最初に発見された低温センサーである。さらに、Hik33 が浸透圧、強光、塩、酸化ストレス等を検知するマルチストレスセンサーであることも明らかにしている。また、ドットプロット法と DNA マイクロアレイ法を併用したスクリーニングにより、塩ストレス及び高浸透圧下で 4 つの二成分制御系が遺伝子発現の制御に関わることを明らかにした (図 1)。

我々はまた、脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子を破壊し、細胞膜の流動性を低下させた変異株とヒスチジキナーゼ Hik33 の破壊株を組み合わせ、Hik33 による低温誘導性遺伝子の発現制御には膜の流動性に関わっていることを明らかにした。今後は、Hik33 のマルチストレス検知の分子メカニズムを明らかにするとともに、

複数の二成分制御系が構成するシグナル伝達のネットワークについても解明していく計画である。

環境ストレスによる光合成能低下のメカニズムの解明

光合成の機構は光のエネルギーを巧みに捉え、化学的結合エネルギーに変換する。しかしながら、この光合成機構は光によって迅速に損傷を受け失活する性質を持っている。この光損傷のメカニズムは光化学系 II 蛋白質複合体において詳細に解析されている。しかし、光合成生物は直ちに損傷を受けた蛋白質を新規合成して光化学系 II 蛋白質複合体を修復し、これによって光合成活性の低下を防いでいる。

我々は光化学系 II 蛋白質複合体の損傷速度および修復速度を独立して測定するシステムを開発し、両過程に対する様々な環境ストレスの効果を調べた。その結果、損傷の速度は光強度だけに依存して、他の環境ストレス条件による影響を受けないことがわかった。一方、修復の速度は、種々の環境ストレスにより著しく低下することが明らかになった。さらに、活性酸素に起因する酸化ストレスが光化学系 II 蛋白質複合体の修復を阻害することを明らかにし、またこの原因が活性酸素による蛋白質合成の阻害（特にペプチドの伸長）であることを明らかにした (図 2)。これらの結果は、今までの活性酸素による光合成活性の低下が光化学系 II 蛋白質

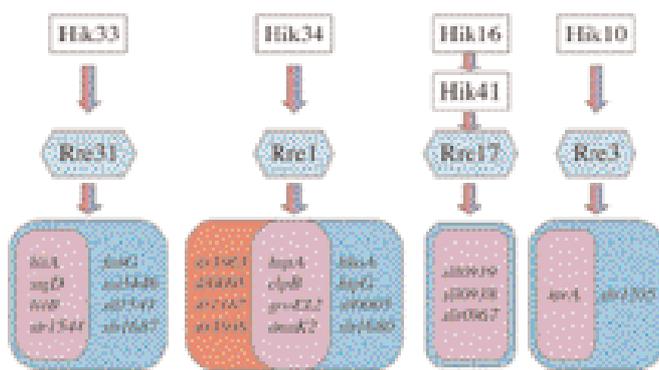


図 1 4 つの二成分制御系による塩ストレスおよび高浸透圧ストレス誘導性遺伝子の発現制御機構図
 特定の二成分制御系で発現制御を受ける遺伝子群が塩ストレス下と高浸透圧下では異なる。塩ストレス下でのみ発現が制御される遺伝子 (赤)、高浸透圧ストレス下でのみ発現が制御される遺伝子 (青)、および両方のストレス下で発現の制御を受けている遺伝子 (紫)。

複合体の損傷の促進によるものとする考えを覆すものであった。

また光化学系IIの光阻害とその修復過程における塩ストレスの効果を翻訳阻害剤の存在下および非存在下で比較することで、塩ストレスが濃度依存的に光化学系IIの修復過程を阻害することを明らかにした。さらに、標識化合物により光化学系II反応中心D1タンパク質の*de novo*合成を追跡した結果、塩ストレスによりD1タンパク質の合成が翻訳レベルで阻害されることを明らかにした。またノーザン解析および転写阻害剤を用いた解析の結果、塩ストレスがD1タンパク質の代謝を、転写、mRNAの分解の過程で阻害することを明らかにした。これらの結果は、塩ストレスが細胞の代謝や光化学系の活性のどのステップに影響を及ぼすのかを明らかにした極めて重要な知見である。

適合溶質と環境ストレス耐性能の関係の解明

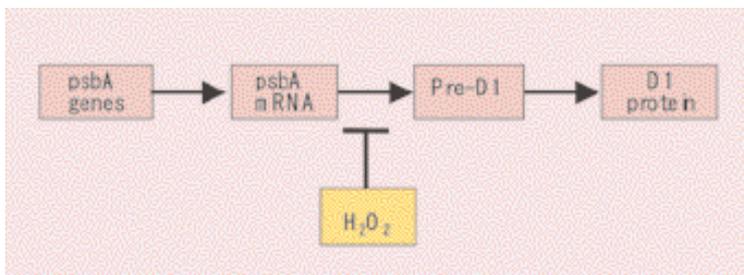


図2 光化学系II反応中心D1タンパク質の*de novo*合成経路における過酸化水素の阻害効果

psbA 遺伝子にコードされたD1タンパク質はmRNAに転写後、pre-D1タンパク質に翻訳され、さらに修飾を受けて成熟型D1タンパク質となる。この生合成経路において過酸化水素は翻訳のステップを阻害する。

塩ストレス耐性と適合溶質（塩ストレスに曝された微生物や植物細胞内に高濃度に蓄積する低分子化合物）の関係を解明するため、ラン藻 *Synechocystis* において適合溶質であるグルコシルグリセロールの合成系に関わる遺伝子の破壊株を作製し解析をおこなった。グルコシルグリセロールリン酸合成酵素の破壊株 ($\Delta ggpS$) では、グルコシルグリセロールを細胞内に蓄積できず、野生株に比べて塩耐性能が低下していた。フローサイトメトリーと電子顕微鏡による解析の結果、破壊株では塩ストレスにより細胞の膨張、破裂が観察されるが、グルコシルグリセロールを添加することで回復することを明らかにした。さらにこの原因がNaClによる細胞分裂過程の阻害であることを明らかにした。この結果、グルコシルグリセロールが塩ストレス下における細胞分裂機構の保護に重要な役割を果たしていることがわかった。

参考文献

1. Wada, H., Gombos, Z. and Murata, N. (1990) Enhancement of chilling tolerance of a cyanobacterium by genetic manipulation of fatty acid desaturation. *Nature* **347**, 200-203.
2. Suzuki, I., Los, D.A., Kanesaki, Y., Mikami, K. and Murata, N. (2000) The pathway for perception and transduction of low-temperature signals in *Synechocystis*. *EMBO J.* **19**, 1327-1334.
3. Nishiyama, Y., Yamamoto, H., Allakhverdiev, S.I., Inaba, M., Yokota, A. and Murata, N. (2001) Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery. *EMBO J.* **20**, 5587-5594.
4. Allakhverdiev, S.I., Nishiyama, Y., Miyairi, S., Yamamoto, H., Inagaki, N., Kanesaki, Y., and Murata, N. (2002) Salt stress inhibits the repair of photodamaged photosystem II by suppressing the transcription and translation of *psbA* genes in *Synechocystis*. *Plant Physiol.* **130**, 1443-1453.
5. Inaba, M., Suzuki, I., Szalontai, B., Kanesaki, Y., Los, D.A., Hayashi, H., and Murata, N. (2003) Gene-engineered rigidification of membrane lipids enhances the cold inducibility of gene expression in *Synechocystis*. *J. Biol. Chem.* **278**, 12191-12918.
6. Marin, K., Suzuki, I., Yamaguchi, K., Ribbeck, K., Yamamoto, H., Kanesaki, Y., Hagemann, M., and Murata, N. (2003) Identification of histidine kinases that act as sensors in the perception of salt stress in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **100**, 9061-9066.

STAFF



村田 紀夫
教授



鈴木 石根
助手

博士研究員
高橋 俊一
Jogadheni Syama Sundar, Prakash
Suleyman, Allakhverdiev

特別協力研究員
Kalyanee, Paithoonrangsarid
Vladimir Borisovich, Panichkin
Domitry A., Los

事務支援員
兼崎 和子

分子環境生物学研究部門



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

ンを投与された雌マウスの膣や子宮には前ガン病変が誘起され、若い女性の膣明細胞腫の発生は胎児期の合成エストロゲン（DES）曝露が原因であることが1970年に明らかにされている。さらに周生期の性ホルモンや抗ホルモンの投与の影響は生殖器官にとどまらず、免疫系、中枢神経系、代謝系、行動など非生殖系の異常も誘起されることが知られている。このような生体に対して多様な影響を及ぼすホルモンやホルモン作用を示す化学物質の生体への作用機構を明らかにし、ホルモン感受性の高い臨界期について分子レベルで解明することを目的としている。

生殖器官への不可逆的な影響

出生時のマウスの生殖器官の発達はヒトの妊娠3-4ヶ月の胎児の生殖器官の発達段階と相同であることから、周生期のマウスは、ヒトでの胎児曝露のモデルとなりうる。出生直後のマウスへエストロゲンやアンドロゲンを投与すると、本来のエストロゲンに対する反応性を失い、不可逆的な膣上皮の角質化・腫瘍化、子宮の形成不全・扁平上皮化・腫瘍、輸卵管腫瘍、多卵性卵胞・多核卵、不妊などが誘起される。これらの組織ではガン原遺伝子（c-jun, c-fos）mRNAが発現し、細胞分裂率が高く、EGFとc-Fosの増加がみられており、EGFの恒常的発現～EGF受容体の活性化に伴うエストロゲン受容体の

恒常的活性化～増殖因子の発現上昇というポジティブループにより、エストロゲン非依存的な細胞増殖が制御されていると考えられる（文献1）。また、このような膣上皮のエストロゲン非依存的な細胞増殖、角質化誘起の分子機構を解析する目的で、ディファレンシャルディスプレイ法を用いて不可逆化に関与する新規遺伝子の探索を行っている。これまでに、不可逆化した膣に特異的に発現しているいくつかの遺伝子のクローニングに成功しており、その遺伝子の発現と機能について解析を行っている（文献2）。こうした遺伝子の一つは、卵巣除去によりエストロゲンの影響がなくなると急速に発現が減少するが、不可逆化したマウスではその制御が狂い、恒常的な発現が誘発されることが明らかになってきている。またその特異的な発現から、上皮の角質化に関連していることが予想され、現在その機能解析を進めている。これらの解析は、ホルモン投与による不可逆化誘起の機構解析に繋がるものと期待される。

内分泌かく乱物質の作用機序の解明

内分泌かく乱物質の作用機序を明らかにするためのアプローチの一つとして、遺伝子発現のレベルからの解明を行っている。本来のステロイドホルモン受容体は転写因子であることから、エストロゲンや内分泌かく乱物質が転写に及ぼす影響を解析することにより、その機能的な共通性と特異性を見出そうとしている。DNAマイクロアレイを用いて約1万の遺伝子の発現状態を解析することにより、エストロゲンや内分泌かく乱物質が遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにしている（文献3、4）。こ



図1 周生期の性ホルモン投与によって誘起される変化

哺乳動物では、特に出生前後（周生期）の臨界期（窓）にホルモンやホルモン関連物質の影響を受けやすく、生殖器官などに恒久的な分子的变化が誘起されることが知られている。例えば、子宮や膣の細胞分裂・分化は女性ホルモンのエストロゲンやプロゲステロンによって調節されており、周生期に性ホルモ

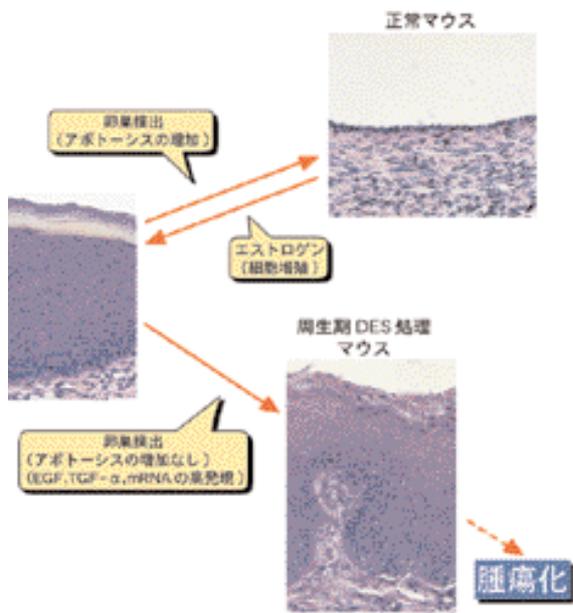


図 2 周生期の DES 投与によって誘起される腫の不可逆的变化

通常、卵巣を摘出すると、アポトーシスが増加するが、周生期にDESを投与されたマウスでは細胞増殖因子 (EGF, TGF- α) の mRNA 増加や、細胞壊死因子 (TNF- α , Fas) の発現の低下が誘導されるため、アポトーシスが起これなくなる。さらにER発現も低下している。これらの現象と腫瘍化の関連が注目されている。

これらの比較により、エストロゲン本来の遺伝子発現パターンと内分泌かく乱物質による遺伝子発現パターンが異なっていることを明らかにしており、こうした遺伝子の機能を解明していくことにより、内分泌かく乱物質の広範な影響について明らかにしていく。

は虫類、両生類および魚類への影響

発生中の胚に対するエストロゲンや化学物質の影響はアフリカツメガ

エル、アメリカワニ、海産メダカのマミチヨグやゼブラフィッシュで、骨形成の異常や性分化の異常として見いだされている。これらの動物では、エストロゲン受容体は胚にも存在し、エストロゲン様物質の影響を受ける可能性がある。エストロゲンおよびエストロゲン様物質の作用機構を解析するために、エストロゲン受容体、エストロゲン応答遺伝子のクローニングが不可欠であり、現在遺伝子の解析をすすめている (文献 5, 6)。

エストロゲン様化学物質の検出

一般にビスフェノールAなどのエストロゲン様物質の検出には酵母を用いた系、培養細胞を用いた系、動物に投与して子宮肥大を観察する系などがある。実験動物に与えられる餌にどれほどのエストロゲン様物質が含まれているのかを酵母を用いた系を使って調べた (文献 7)。餌に含まれている様々な植物由来のエストロゲン様物質により、餌はエストロゲン活性を持っていることが示された。この検定法は簡便であることから、様々な化学物質がエストロゲン活性を持つかどうかを調べる非常に重要な系を提供する。

参考文献

1. Miyagawa, S., Y. Katsu, H. Watanabe and T. Iguchi: Estrogen-independent activation of erbBs signaling and estrogen receptor α in the mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol. *Oncogene* **23**, 340-349, 2004
2. Katsu, Y., D. Lubahn and T. Iguchi: Expression of novel C-type lectin in the mouse vagina. *Endocrinology* **144**, 2597-2605, 2003
3. Watanabe, H., A. Suzuki, M. Kobayashi, D. Lubahn, H. Handa and T. Iguchi: Analysis of temporal changes in the expression of estrogen regulated genes in the uterus. *J. Mol. Endocrinol.* **30**, 347-358, 2003
4. Watanabe, H., A. Suzuki, M. Kobayashi, D. Lubahn, H. Handa and T. Iguchi: Similarities and differences in uterine gene expression patterns caused by treated with physiological and non-physiological estrogens. *J. Mol. Endocrinol.* **31**, 487-497, 2003
5. Urushitani, H., M. Nakai, H. Inanaga, Y. Shimohigashi, A. Shimizu, Y. Katsu and T. Iguchi: Cloning and characterization of estrogen receptor α in mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *Mol. Cell. Endocrinol.* **203**, 41-50, 2003
6. Katsu, Y., D.S. Bermudez, E. Braun, C. Helbing, S. Miyagawa, M. Gunderson, S. Kohno, T. Bryan, L. Guillette and T. Iguchi: Molecular cloning of the estrogen and progesterone receptors of the American alligator. *Gen. Comp. Endocrinol.* **136**, 122-133, 2004
7. Kato H, T. Iwata, Y. Katsu, H. Watanabe, Y. Ohta and T. Iguchi: Evaluation of estrogenic activity in diets for experimental animals using in vitro assay. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 1410-1414, 2004

STAFF



井口 泰泉
教授



渡邊 肇
助教授



勝 義直
助手



漆谷 博志
研究者

技術課技術職員
水谷 健

博士研究員
曾根 清明

総合研究大学院大学院生
宮川 信一
永田 恵美子
小林 未佳
石本 洋一

技術支援員
市川 理恵
後藤 麻友
鈴木 敦子
日名子 恵
大塚 絵里
小林 かおる

特別共同利用研究員
加藤 英男

事務支援員
今泉 妙依子



「葉」の研究から植物を理解する

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

第1に葉は、植物の最も重要な器官である。花弁、雄しべ、雌しべ、すべて葉の変形した器官である。したがって、葉の形態形成の仕組みを明らかにすることができれば、植物の地上部におけるかたち作りの仕組みは、大部分を理解できることになる。第2に、光合成の場である葉は、光など環境シグナルの受容部位であるため、環境適応や可塑性が著しい。したがって葉の制御機構を解明することは、植物の環境適応戦略の理解、あるいは植物のかたちの多様性形成機構の解明にも必須である。

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

葉の形を制御する遺伝子

これまでの発生遺伝学的解析の結果、世界に先駆け、シロイヌナズナより *ROT3*, *AN*, *AS1*, *AS2*, *BOP* 遺伝子等、葉形態形成の鍵となる遺伝子制御過程の同定に成功してきた (図1, 文献1)。その中でも、シロイヌナズナの葉の全形が、縦方向と横方向との二方向独立に制御を

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

植物発生遺伝学研究部門

受けている、という事実を明らかにした業績は、世界的に高く評価されており、海外の教科書にも引用されている。縦の長さを制御する *ROT3* はブラシノステロイド合成系に関連した遺伝子、また横幅を制御する *AN* は動物の *CtBP* 遺伝子に類似した遺伝子 (文献2) である。興味深いことに、それぞれ、動物ゲノムにも類似遺伝子が存在するが、植物に特異的なサブファミリーの一員を構成しており、葉の形の制御系が植物で独自の進化を遂げたことを示唆している。また葉の有限成長性が異常となった変異体、*as2* および *bop* の解析 (文献3) から、*AS2* や *BOP* は、ホメオボックス遺伝子の *KNOX* の葉における発現を制御する遺伝子であることが判明している。

しかし現在、葉の発生過程の複雑さに比べ、判明している事実はまだまだわずかである。厚さの制御、あるいは光や重力等の外部環境因子の作用など、他の側面についての解析をも

行なうことで、葉の形態制御系のネットワークを詳細に明らかにしていきたいと考えている。

葉を構成する細胞数、細胞の形状はどのように制御されているのか

葉は、有限成長型の器官という点で、植物が持つ器官としては異例の特徴を持っている。そのためか、細胞分裂回数の低下が起きると、それを補償するかのように細胞体積の増加が起きることが多い。そのため、古くから植物の葉では、形態形成のユニットは細胞ではなく葉そのものではないか、とするオルガニズマル説さえ提唱されてきた。しかし補償作用を考慮に入れば、細胞を単位とした形態形成でも十分現在の知見は説明できる。そこでこの解釈を新細胞説として提唱した (文献4, 5) が、補償作用の正体、そのメカニズムについては現在、全く不明である。私たちはそこで、植物に特異的な発生制御過程、補償作用の分子メカニズムも明らかにしようと、葉を構成する細胞数、細胞体積の制御系の変異体の解析も進めている。

それと共に、細胞の増殖過程の遺伝子制御を明らかにする目的で、細胞数の減少を伴う変異体の解析も行なっている。その結果見つかった *ROT4* は、シロイヌナズナの国際ゲノムプロジェクト

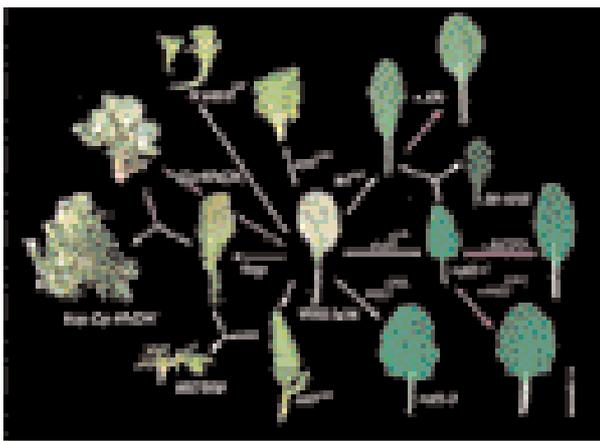


図1 シロイヌナズナの葉形を制御する遺伝子群とその形態的な作用

右半分に表示される遺伝子群は、葉の縦あるいは横といった平面上の極性伸長を制御しており、葉の長さや巾の決定に深く関わっている。左半分に表示される遺伝子群は、葉の形状の複雑さに深く関わっていると共に、葉原基の分裂組織の制御を行なっている。白矢印は、遺伝子の機能喪失を、紫の矢印は、遺伝子の人為的な構成発現を示す。

で見落とされていた遺伝子で、短いペプチドをコードする (Narita et al., 2004)。このようなペプチドが葉の細胞数の制御をしているという知見はこれが初めてであり、しかもこの遺伝子産物と相同性のあるペプチドは、種子植物以外からは見つかっていない。動物にはない特異な細胞増殖制御系として、植物のボディプラン進化のメカニズムを知る上で、重要な手がかりではないかと期待される。

自然界における葉の形の多様性はどのような遺伝子変異によって生じてきたのか

上記のように、シロイヌナズナを用いた解析から、徐々にではあるが、葉の形態を司る基本制御系が明らかになってきた。それを踏まえ、エボデボ的な観点から、自然界における葉

の形態の多様性の、遺伝子的な背景を明らかにできないか、という試みも行なっている。野生植物は遺伝子レベルでの解析がシロイヌナズナに比して難しいため、まだ原因遺伝子の解明につながった例はないが、シロイヌナズナの変異体との比較から、いくつか興味深い知見が得られている。例えばシロイヌナズナでは、各種環境化での矮小化の際、細胞体積の減少が顕著に認められる。また葉が小さい変異体を単離すると、細胞が小型化しているケースが非常に多い(文献 4, 6)。しかし自然界での矮小化、あるいは細葉化の事例を調べてみると、全て細胞の数の減少を示す。この自然界での葉のサイズ制御に関し、現在、アジア各地域のフィールド調査を軸として、他大学の研究者と共同で、各研究ジャンルから総合的に解析を行なっている。

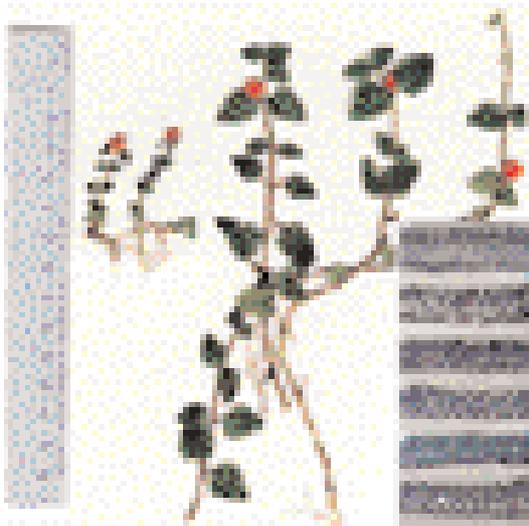


図2 自然界における葉の矮小化の例

日本に広く分布するツルアリドオシの中には、屋久島で知られるヒメツルアリドオシ(左)のように、ごく小型の葉を付ける系統が知られている。この変異の場合、葉を構成する細胞の数のみが変わっている(文献6)。

参考文献

1. Tsukaya, H. (2002) Leaf Development, The Arabidopsis Book, eds. C.R. Somerville and E.M. Meyerowitz, doi/10.1199/tab.0072, <http://www.aspb.org/downloads/arabidopsis/tsukaya.pdf>
2. Kim, G.-T., Shoda, K., Tsuge, T., Cho, K.-H., Uchimiya, H., Yokoyama, R., Nishitani, K. and Tsukaya, H. (2002) The *ANGUSTIFOLIA* gene of Arabidopsis, a plant *CtBP* gene, regulates leaf-cell expansion, the arrangement of cortical microtubules in leaf cells and expression of a gene involved in cell-wall formation. *EMBO J.* **21**, 1267-1279.
3. Ha, C.-H., Kim, G.-T., Kim, B.-C., Jun, J.-H., Soh, M.-S., Ueno, Y., Machida, Y., Tsukaya, H. and Nam, H.-G. (2003) The *BLADE-ON-PETIOLE* gene controls leaf pattern formation through regulation of meristematic activity. *Development* **130**, 161-172.
4. Tsukaya, H. (2002) Interpretation of mutants in leaf morphology: genetic evidence for a compensatory system in leaf morphogenesis that provides a new link between Cell and Organismal theory. *Int. Rev. Cytol.* **217**, 1-39.
5. Tsukaya, H. (2003) Organ shape and size: a lesson from studies of leaf morphogenesis. *Curr. Opin. Plant Biol.* **6**, 57-62.
6. Yokoyama, J., Fukuda, T. and Tsukaya, H. (2003) Morphological and molecular variation of *Mitchella undulata* Siebold et Zucc., with special reference to systematic treatment of the dwarf form from Yakushima Island. *J. Plant Res.* **116**, 309-315.

STAFF



塚谷 裕一
助教授



堀口 吾朗
助手



石川 直子
研究員

博士研究員

Ferjani Ali
矢野 覚士
山口 貴大
Cho, Kyu-Hyong

総合研究大学院大学院生

小塚 俊明
成田 典之
間野 絵梨子
藤倉 潮

技術支援員

高部 恵理子
山口 千波
酒井 桂子
近藤 牧子



光情報研究部門(客員部門)

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

葉緑体光定位運動

食物を食べてエネルギーを獲得する動物と違って、植物は太陽光をエネルギー源として光合成を行い、有機物を自ら合成して自活している。植物の生活にとって最も重要な戦略は、いかにして光合成を効率的に行うかである。植物は弱光下では葉緑体を細胞表面に集め、効率よく光を吸収し、強光下では、葉緑体の傷害をさけるために細胞の脇側の細胞壁に移動する。これらの現象は19世紀から知られており、また植物細胞には普遍的な現象であることから、植物にとっては重要な現象であると考えられる。そこで我々は実際に植物にと

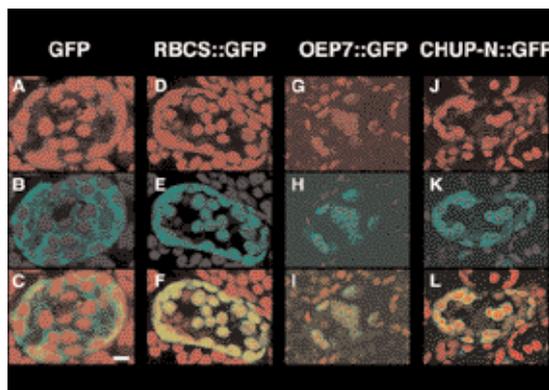
ってどれほど重要な現象であるのか、また光の強弱を感知しているのはどのような色素系であるのかを解析してきた。光受容や移動のメカニズムについてはまだ解明されていない部分が多く、今後の我々の研究に託されている。

トランスポゾンと遺伝子サイレンシング

遺伝子解析の結果、アミノ酸配列が明らかになったが機能がわからない遺伝子が膨大な数に上っている。我々は機能未知の遺伝子作用を明らかにする手法を開拓するために、相同組み換え技術の開発、トランスポゾンの解析、遺伝子サイレンシングの利用法などをイネやシダを使って行っている。新しいトランスポゾンの発見や、シダにおける特異な遺伝子サイレンシングの発見があり、これらの現象の今後の利用に向けて技術の確立を急いでいる。

参考文献

1. Kikuchi, K., K. Terauchi, M. Wada and H. Hirano (2003) mPING plant MITE mobilized in anther culture. *Nature* **42**: 167-170.
2. Wada, M., T. Kagawa and Y. Sato (2003) Chloroplast movement. *Annu. Rev. Plant Biol.* **54**: 455-468.
3. Oikawa, K., M. Kasahara, T. Kiyosue, T. Kagawa, N. Suetsugu, F. Takahashi, T. Kanegae, Y. Niwa, A. Kadota and M. Wada (2003) CHOLOROPLAST UNUSUAL POSITIONING1 is essential for proper chloroplast positioning. *Plant Cell* **15**: 2805-2815.
4. Kagawa, T., M. Kasahara, T. Abe, S. Yoshida and M. Wada (2004) Function analysis of Acpht2 using mutants deficient in blue light-induced chloroplast avoidance movement of the fern *Adiantum capillus-veneris* L. *Plant Cell Physiol.* **45**: 416-426.
5. Kasahara, M., T. Kagawa, Y. Sato, T. Kiyosue and M. Wada (2004) Phototropins mediate blue and red light-induced chloroplast movements in *Physcomitrella patens*. *Plant Physiology* in press.



葉緑体光定位運動の集合反応も逃避反応も欠損した *chup1* 突然変異体の原因遺伝子 *CHUP1* はアクチン結合ドメイン、ロイシンジッパーなどを持つタンパク質をコードしており、葉緑体の運動に重要な役割を持つと考えられる。柵状組織の細胞内で一過的に発現させた *CHUP1* N末端部分と GFP の融合タンパク質は、葉緑体の外包膜に存在する *OEP7* と GFP の融合タンパク質の分布 (G, H) と同じ分布を示した (J, K)。一方 GFP のみは細胞質 (B, C) に、*RBCS* と GFP の融合タンパク質は葉緑体内 (E, F) に存在することが示された。これらの結果は、*CHUP1* が葉緑体の包膜上に存在し、葉緑体の移動に関与していることを強く示唆している。写真上段は chlorophyll の蛍光、中段は GFP の蛍光、下段は両者を重ね合わせたもの。

STAFF



和田 正三
教授
(東京都立大学大学院理学研究科)



山内 大輔
助教授
(姫路工業大学大学院理学研究科)



菊池 一浩
助手



小倉 康裕
研究員

特別協力研究員
末次 憲之
技術支援員
左右田 茜
清水 峰子
特別共同利用研究員
上中 秀敏
及川 和聡
高橋 文雄

光環境学研究室

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

背景

ミドリムシ(図1)は、鞭毛を動かして水中を泳ぎ回り、また、植物と同じように緑色の葉緑体多数によって光合成をしている単細胞微生物である。また、光に向かって集まってくる、いわゆる「走光性」を示す生物として小・中学校の教科書によく紹介されている「国民的美生物」とも言えよう。

では、ミドリムシはどのようにして光を感じて明るい所へ集まったり(光集合)強い光を避ける(光逃避)のであろうか?このような、光感覚の仕組み、とりわけ、光センサーの実体については、100年以上の研究が積み重ねられて来たが、明確な答えは得られなかった。最近、私たちは、この長年の謎に関して、決定的な答えを得る事に成功した(文献1)。

実験と結果

まず、基礎生物学研究所の大型スペクトログラフを利用してミドリムシ細胞の運動に注目した波長感度を調べたところ、紫外線と青色光が有効であり、このことからビタミンB₂の仲間であるフラビンが関与していることが推察された。

次に、ミドリムシの細胞内で光を感じるのはどこかという点、眼点に近接して鞭毛の基部付近に膨らんだ部分(PFB: paraflagellar body)と考えられている(図1)。PFBは蛍光顕微鏡で観察するとフラビン含

まれていることを示す特徴的な緑色の蛍光を発する。そこでPFBの取出しかたを工夫し、純度の良いPFBを得ることに成功した。

こうして得られたPFBからフラビンを含むタンパク質を精製し、分析した結果、このフラビタンパク質は青色光で活性化されアデニル酸シクラーゼの性質を持つことが明らかになった。アデニル酸シクラーゼは、多くの生物の細胞内情報伝達系においてセカンドメッセンジャーとして機能するサイクリックAMP(cAMP)を産生する酵素であるが、このような、自身が光受容分子として機能するアデニル酸シクラーゼは従来全く知られておらず、きわめてユニークな分子と言ってよい。我々はこれを光活性化アデニル酸シクラーゼ(PAC: Photoactivated Adenylate Cyclase)と名付た。味や匂いの感覚等、多くの場合アデニル酸シクラーゼはセンサータンパク質からの信号をGタンパク質を介して受け取り、その活性が制御されるが、PACはそれ自身がセンサーでもあることから、すばやい信号伝達が可能であると推測され、ミドリムシの光

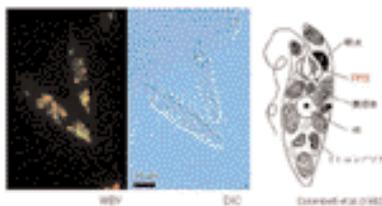


図1 ミドリムシの光受容器官
Paraflagellar body (PFB)



感覚のような速い反応を媒介するのに好適な分子であると考えられる。

将来の展望・夢と社会的意義

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

参考文献

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

STAFF



渡辺 正勝
助教授

さきかけ研究員
伊 関 峰 生

技術支援員
伊 藤 真 紀 子
鈴 木 淑 子

博士研究員
伊 藤 慎 治
吉 川 伸 哉
鈴 木 武 士

ストレス応答機構研究室

植物は常に変化する自然環境へ柔軟に適応することで自らの生育を可能にしているが、その仕組みの詳細は不明である。当研究室では、植物の環境適応におけるイノシトールリン脂質 (PI) 代謝系の役割を解明するため、環境変化の形態形成への影響とPI代謝系で中心的な役割を果たしているホスホリパーゼC (PLC) の機能との関連を解析している。

ヒメツリガネゴケ *Physcomitrella patens* は、相同組み換えによる遺伝子破壊が可能であることから植物の遺伝子機能を解析する上で大変優れた研究材料である。ヒメツリガネゴケのPLCをコードする2つのcDNAを単離し、それらの産物、PpPLC1及びPpPLC2、の構造を解析したところ、両者ともこれまでに高等植物から単離されたPLCの構造と高い相同性を示した(図1)。さらに、PpPLC1が高等植物PLCと同様の酵素活性を持っていたことから、植物PLCがヒメツリガネゴケから高等植物まで良く保存されていることが明らかとなった。

PpPLC1とPpPLC2は高等植物PLCのN末端側に保存されているNドメインと名付けられたEFハンド様の保存領域を持つが、PpPLC2のそれは挿入配列を持っており(図1)、それが機能的かどうかは不明である。また、PpPLC2はPpPLC1のような酵素活性を示さなかったことから、構造的にも酵素活性的にもこれまでに植物では報告のないヒメツリガネゴケに固有で新規のものと考えている。

以上を踏まえ、植物PLCの機能解析を目的としてPpPLC1遺伝子の破壊株を作出した。得られた遺伝子破壊株では、1)芽の形成とそれに引き続く茎葉体の形成が全く見られな

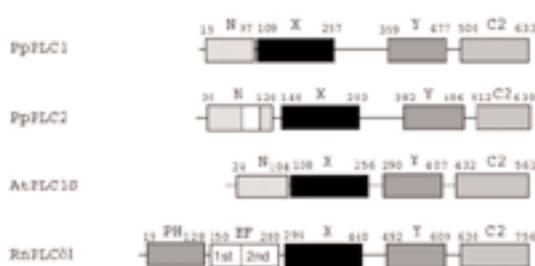


図1 ヒメツリガネゴケ PLCの構造的特徴

触媒領域を形成するXおよびYドメインとC末端側のC2ドメインは高等植物とほ乳類のPLCにも保存されているが、Nドメインは植物PLCにのみ見られる。哺乳類PLCに見られるPHドメインは植物PLCでは保存されていない。At, シロイヌナズナ; Rn, ラット

い、2)重力応答が見られない、3)クロロフィル量が低いため全体的に黄色っぽい、などの表現型が観察された(図2参照)。さらに、1)が芽の形成に必要なサイトカニンへの応答の消失によっていたため、PpPLC1がサイトカニンや重力の信号伝達系の制御に関わっていると考えられた。PLCとサイトカニン信号伝達系の関連はこれまでに報告がない新しい知見であり、現在さらに詳しく解析している。また、芽の

形成が塩や浸透圧などの環境ストレスによって抑制されるため、形態形成と環境ストレス応答を制御する信号伝達系の間にはPpPLC1を介した何らかの関連があると推察された。その詳細についても解析中である。

参考文献

1. Mikami, K., Katagiri, T., Iuchi, S., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (1998) A gene encoding phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase is induced by water stress and abscisic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 15, 563-568.
2. Mikami, K. and Hartmann, E. (2004) Lipid metabolism in mosses. In, *New Frontiers in Bryology: Physiology, Molecular Biology and Functional Genomics* (A.J. Wood, M. J. Oliver and D. J. Cove, eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp 133-155.
3. Mikami, K., Repp, A., Graebe-Abts, E. and Hartmann, E. (2004) Isolation of cDNAs encoding typical and novel types of phosphoinositide-specific phospholipase C from the moss *Physcomitrella patens*. *J. Exp. Bot.* 55, 1437-1439.

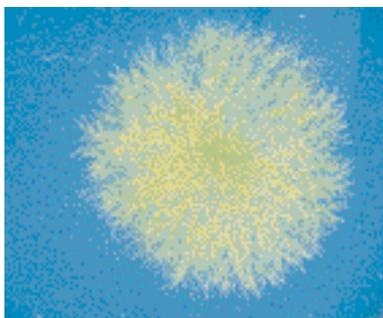
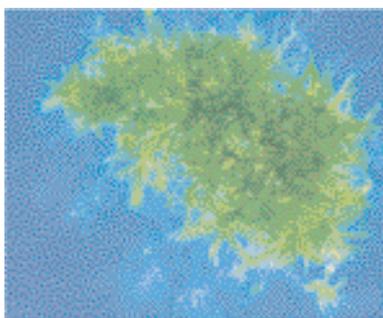


図2 ヒメツリガネゴケのPpPLC1遺伝子破壊株(plc1)で見られる視覚的特徴

plc1(下)は野生株(上)に比べて緑色の度合いが低く、また芽から形成される茎葉体が全く見られない。

STAFF



三上 浩司
助教授

理論生物学研究部門

私たちのグループは、計算機や数理的手法を用いて、生命現象に取り組んでいる。特に、時空間中にパターンが展開する過程である発生・形態形成現象を理解する為には、数理モデルは必要不可欠である。また、増加し続ける生命科学の情報を統合して高次生命現象の理解につなげる上でも、数理的手法は有効だと考えている。

遺伝子ネットワークと細胞状態の多様性

遺伝子の発現は、存在する転写調節因子の組み合わせによって厳密にコントロールされており、発現調節領域において、いわば論理計算が行われている。発生過程において遺伝子が相互作用する結果、活性遺伝子に違いが生じ、多様な細胞分化状態や複雑な体制が実現されると考えられる。我々は遺伝子ネットワークを一般的に扱える、常微分方程式モデルを開発した。これにより遺伝子活性の動的な変化や定常状態が、数理的に解析できた。細胞分化状態に相当する定常状態について、詳細な解析に初めて成功した。その結果、「遺伝子の数が増加しても、分化状態の多様性は全く増加しない」という意外な結果が得られた。つまり、進化の過程における遺伝子数の増加は、体制の複雑化の直接の原因ではない。実際の生物に見られる多様な細胞状態が実現するためには、多数の遺伝子が自身の発現を制御していることが必要だと分かった。

葉脈ネットワークパターン

葉脈は馴染み深いパターンであるが、その形成のメカニズムはまだ明らかでない。葉脈形成を説明する複

数の仮説のそれぞれについて数理モデルを作り解析した。(A) auxin 消費型モデル：葉の辺縁部で供給される auxin ホルモン濃度が高い所で、葉脈が誘導されるとするモデル。計算機シミュレーションを行うと、伸長と分岐の繰り返しにより葉脈が作られる一方で、全体として等間隔のネットワークが形成された。一方で葉脈は決して閉じたループを形成しない。(B) 運河モデル：auxin 流量の大きいところで、葉脈が誘導されるとするモデル。計算機シミュレーションを行うと、葉脈は閉じたループを含むネットワークを形成するが、伸長に伴うほぼ一定間隔の分岐は見られない。実際の葉では、二つのモデルの両方の仕組みが働いていると予想できる。

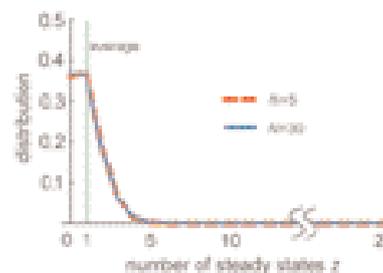


図1 定常状態（細胞の分化状態）の数の分布
横軸は一つのネットワークが作る細胞分化状態の数。縦軸はその分布。ランダムに作られたネットワークのほとんどは、分化状態を0~2個しか持たず、遺伝子の数(N)が増えてもそれは変わらない。実際の生物の遺伝子ネットワークは、平均から極端に偏っていると言える。

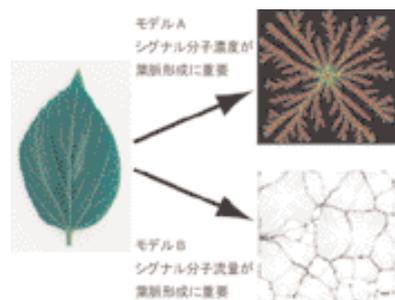


参考文献

1. Kurosawa, G., Mochizuki, A. and Iwasa, Y. (2002) Processes promoting oscillations -- comparative study of circadian clock models. *J. Theor. Biol.* **216**, 193-208.
2. Tohya, S., Mochizuki, A. and Iwasa, Y. (2003) Random cell sorting can form cone mosaic patterns in fish retina and explain the difference between zebrafish and medaka. *J. Theor. Biol.* **221**, 289-300.
3. Shoji, H., Mochizuki, A., Iwasa, Y., Hirata, M., Watanabe, T., Hioki, S. & Kondo, S. (2003) Origine of directionality in the fish stripe pattern. *Dev. Dyn.* **226**, 627-633.
4. Ryoji, T., Mochizuki, A. & Iwasa, Y. (2003) Possibility of Tissue Separation Caused by Cell Adhesion. *J. Theor. Biol.* **221**, 459-474.

図2 二つの仮説に基づく葉脈形成パターン

モデルAでは枝分かれを繰り返し、ほぼ等間隔の脈分布を作るが、ネットワークは閉じない。モデルBでは葉脈は閉じたループを作るが、分岐を繰り返さない。



STAFF



望月 敦史
助教授



遠矢 周作
研究員

特別協力研究員
藤田 浩徳

特別共同利用研究員
望月(綾部) 慈子
山上 歩

ゲノム情報研究室

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

微生物ゲノム比較解析システム

ゲノムサイズが数メガ塩基程度の原核生物においては、全配列が決定されたゲノム数がすでに百を超え、なお数百のプロジェクトが進行中である。こうした圧倒的なデータ量と多様性を持つ微生物ゲノムの比較解析を推進するため、微生物ゲノム比較解析システム MBGD の構築を行っている。特に、比較解析を行う際

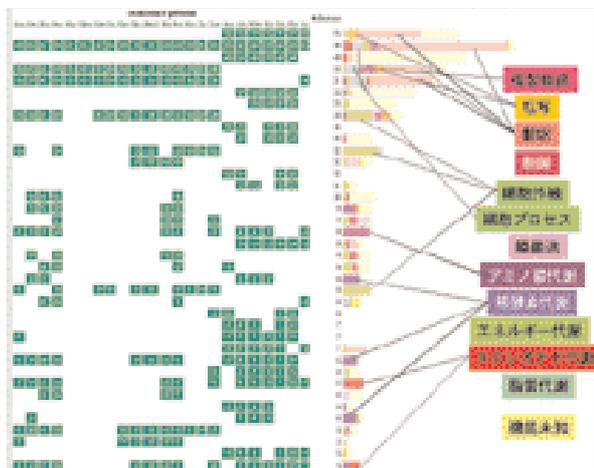
に必要な多数のゲノム間のオースログ対応付けについて、効率的なアルゴリズムの開発を行っている。また、オースログ分類の結果として得られる系統パターン（ある遺伝子が各ゲノム中に存在するかしないかというパターン）や融合タンパク質の存在などから遺伝子の機能推定を行える可能性が指摘されており、大量のデータを活用することにより、その可能性を高めることも目指している。

近縁ゲノムの比較解析

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

参考文献

1. Uchiyama I. (2000) Hierarchical clustering procedure for grouping orthologous domains in multiple genomes. in *Currents in computational molecular biology* 146-147.
2. Nobusato, A., Uchiyama I., Ohashi, S., Kobayashi, I. (2000) Insertion with long target duplication: a mechanism for gene mobility suggested from comparison of two related bacterial genomes. *Gene* 259:99-108.
3. Kuroda, M., Ohta, T., Uchiyama, I., Baba, T., Yuzawa, H., Kobayashi, I., Cui, L., Oguchi, A., Aoki, K., Nagai, Y. et al. (2001) Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 357:1225-1240.
4. Takami, H., Takaki, Y., Uchiyama, I. (2002) Genome sequence of *Oceanobacillus iheyensis* isolated from the Iheya Ridge and its unexpected adaptive capabilities to extreme environments. *Nucleic Acids Res.* 30:3927-3935.
5. Uchiyama, I. (2003) MBGD: Microbial genome database for comparative analysis. *Nucleic Acids Res.* 31:58-62.



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

STAFF



内山 郁夫

助手

計算科学研究センター
基生研電子計算機室担当

所長研究室

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

1) ドーパミン神経系の機能解析

ドーパミンは、中枢神経の神経伝達物質で、受容体を介して、運動の制御、情動、報酬系など、心の働きにも関与する重要な働きをしていると考えられる。人では、その働きが衰えたり、過剰になると、パーキンソン病や統合失調症などになると言われてきた。所長実験室では、ドーパミン受容体として重要な、D1、D2の欠損マウスを作り、さらに、これら2重欠損マウスを作り観察したところ、それぞれの欠損マウスには特徴的な運動の亢進と低下とが認められるが、成長し生殖能力も持つことが判った。一方、2重欠損マウスは、授乳は順調に出来るものの、離

乳期にさしかかると、急速に運動量が低下し、また食欲がまったく感じられず、生後3週目頃に餓死することが判った。

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

そこで、テトラサイクリン系の条件的遺伝子発現システムを使い、2重欠損マウスのD1遺伝子の発現制御可能なマウスの作製を試みた。その結果、見事に条件的遺伝子発現を示すマウスが得られ、現在、その生産段階に入っている。このマウスを使って今後、分子生物学、形態学、行動学的な実験を行う予定である。

2) グルタミン酸受容体 (NMDA 受容体) の機能解析

NMDA受容体は、多くの実験から、記憶と学習とに関連していると



考えられている。我々もNMDA受容体のうちNR2A、NR2Bの欠損マウスを作り解析してきたが、その過程で、2重欠損マウスのうちNR2Aホモ、NR2Bヘテロマウスにおいて、統合失調症に観られる行動異常を観察した。そこで、今後、行動測定のための新しい装置を開発し、研究を深めていきたい。

3) Ras 遺伝子の欠損と、脳での働き

H-Rasタンパク質は、海馬での記憶に関与していることを明らかにしてきたが、H、N、Kの3つの主要なRasタンパク質のそれぞれの役割を、多重欠損マウスの解析を通して行う。

STAFF

所長
勝木 元也

博士研究員
小林 聡子

技術支援員
宮川 敦士
勝木 邦子
宮川 裕子

培養育成研究施設

施設長：西村幹夫教授（併）

培養育成研究施設は、良質な研究材料の確保に必要な培養・育成設備及び適正な実験計測・解析のための種々の設備からなり、これらを一括して管理運営

することにより、研究の能率化を計ろうとするもので、次の5室、1圃場から構成される。

大型スペクトログラフ室

www.nibb.ac.jp/lspectro/



生命現象の光による調節の仕組みを解析するための世界最大・最高性能の分光照射装置であり、全国の研究者に対して開かれた共同利用設備である。毎年、(1) 光情報による細胞機能の制御、(2) 光エネルギー変換、(3) 生物における空間認識・明暗認識、(4) 紫外線に

よる生体機能損傷と光回復、の4テーマに関し共同利用実験を公募している（平成15年度は23件が採択され、そのうち2件は外国人研究者が参加している）。平成14年度の「高度化」により、レーザー照射システムや2光子顕微鏡・DNAアレイ解析装置等を導入した。



大型スペクトログラフ照射室

STAFF

助教授

渡辺 正勝

技術課技術職員

東 正一

中村 貴宣

技術支援員

市川 千秋

細胞器官培養室



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

分離及び動物細胞への外来遺伝子導入などの実験が行われている。

STAFF

助手

濱田 義雄

技術支援員

竹下 美也子

鈴木 祐子

人工気象室・実験圃場・下等真核細胞培養室



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

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

下等真核細胞培養室は、一定の環境条件下で下等な真核生物を培養、維持するための設備を整えている。



人工気象室

STAFF

技術課技術職員
難波 千宮子

技術支援員
鈴木 恵子

電子計算機

電子計算機室

www.nibb.ac.jp/cproom/jp/



を介して所外へもアクセスできる。これらを用いてメールやWWWなどのネットワークサービス、データベースなどの情報提供を行っている。一部は所外に向けての情報発信をも行っている。配列解析等コンピュータ利用全般に関する相談、新しいサービスの導入と広報活動にも力を入れている。

UNIX サーバーおよびワークステーションを中心に周辺機器やパーソナルコンピュータを有する。それらは所内の全研究室とネットワーク接続されており、インターネット (SINET)

また、配列モチーフを利用した配列解析法の研究や、ゲノムプロジェクトの成果を取り入れたデータベースの構築の研究などが行われている。



STAFF

助手
内山 郁夫
計算科学研究センター
基生研電子計算機室担当

技術課技術職員
三輪 朋樹
西出 浩世

技術支援員
牧原 暢子

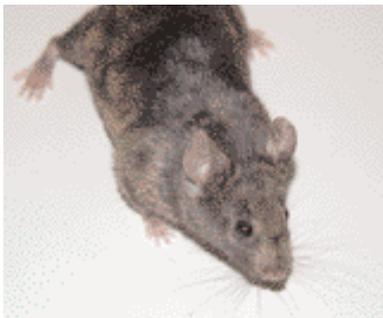
www.nibb.ac.jp/transgen/

形質転換生物研究施設

施設長：高田慎治教授（併）

作業者の健康保持と汚染防止に努め、高い精度の動物実験を行なうという概念のもとに作られている。また「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律」に定める基準に適合した構造をもち、遺伝子組換え生物の施設外への拡散防止措置がとられている。

山手地区施設の3階・4階の飼育エリアはバリア区域となっており、SPF マウス飼育室、胚操作実験室、行動解析実験室を備えている。遺伝子ノックアウトマウス・トランスジェニックマウス作製法により遺伝子操作マウスの開発・飼育維持・解析を行ない、開発したマウス系統を受精卵凍結法により系統保存を行っている。また、飼育エリアの階上には、インタースティシャルスペースが備えられ、飼育エリアの外から施設の保守が可能な構造をもつなどの特徴がある。



山手地区施設の1階部分では、主として小型魚類・鳥類を用いた実験と動物の飼育が行われている。前記の基準に従った遺伝子操作動物の作成と飼育管理が行われるように専門の技術支援員が配置されている。また効率的な飼育を可能とするため、小型魚類では、照明と温度が自動制御される自動循環水槽や、鳥類飼育室では大量のニワトリ卵を孵卵できる恒温室などが装備されている。温

度・湿度や水量・水質も管理室で一括管理され、異常があれば警報で示されるようになっている。現在、このような施設のもと、分子の個体導入や細胞移植実験に寄与できるメダカ・ゼブラフィッシュ・ニワトリ卵を飼育管理しており、神経や生殖腺形成など、細胞挙動や機能、遺伝子同定や機能解析の研究などに貢献している。



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

また、専任教員は、施設の運営業務に並行して各自の研究を進めている。

STAFF

助教授

笹岡 俊邦
田中 実
渡辺 英治

技術課技術職員

林 晃司

技術支援員

市川 広美
野口 裕司
吉田 悦子
河村 基史
山口 京子
安田 聖愛

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

形質転換生物研究施設は、こうした基礎生物学研究に必要な動物や植物の遺伝子操作生物(形質転換生物)の開発と解析を行なうための施設であり、平成10年4月に設置され、明大寺地区内に2室を設け、施設長(併任)と助教授(専任)1名で活動を開始した。平成13年度には明大寺地区にSPFグレードのマウス飼育施設が稼働し、遺伝子操作マウスの開発・解析・系統保存が進められてきている。平成15年度には専任の助教授2名が新たに着任し、技術職員、技術支援員、事務支援員のスタッフとともに、施設の運営・管理をおこない、機能解析研究を推進している。

平成15年度には、山手地区にSPFマウス、小型魚類、鳥類、昆虫などの形質転換動物を開発・解析する施設棟(総床面積2500平方メートル)が竣工した。本施設は、研究者・施設スタッフ・動物・飼育器材・機器類の動線を明確にし、飼育エリアのクリーンエリアとセミクリーンエリアを厳密に区分して、動物や

情報生物学研究センター

センター長：高田慎治教授(併)

情報生物学研究センターは生物の示す基本的かつ多様な諸現象を、生物情報学と生物学の融合によって解明すること、ならびにその過程で得られた情報科学的技術や知識を基礎生物学研究所内外の研究者の利用に供することを目的としている。生物諸科学と数理・情報科学を融合した新しい生命科学の創造を目指して活動を行っている。

近年のゲノム研究の急速な進展により、多くの生物種でゲノム構造が解明されてきた。これらをもとに難病に対する新薬の開発や、病害虫に強い植物の開発などが、社会的要請として現れ始めている。また、多数の遺伝子とその複雑なネットワークによって構築されている、高次生命現象を解明することは、次の生命科学の課題である。これらの要請に対応していくには、膨大なゲノム情報を解明して、生物学本来の目的に沿って整理し、重要な要素の抽出を行うことが重要な鍵となっている。

数理・情報科学はこのような現状に対して、強力に力を発揮できる二

つの特徴を備えている。第一に計算機を用いることで、人の情報処理能力を超える膨大な実験データを処理できること、第二に実験では再現不可能な系や、あるいは過去の生物の進化についてすら、仮想的な系を組み計算機実験を行えることである。これらの数理・情報生物学が持つ高いポテンシャルを十分に駆使し、様々な高次生命現象への理解に迫る研究や、その方法論の開発を行っている。

数理・情報科学的研究を、生物現象の予測に生かすためには、実験生物学と情報学や計算生物学との連携を進展させることが必要である。これにより新たな情報処理技術の発見や学問領域の形成も期待される。これまでに情報生物学研究センターでは、基礎生物学研究所の特長である普遍的な生物現象を研究することを主題として、活動を上げてきた。今後それら基礎研究を続けていく一方で、より一層多方面の研究者との共同研究を推し進める。ゲノム情報の処理、生物情報からの生物現象の



予測、地球時間で進んできた生物の進化多様性獲得の研究など、基礎生物学研究に必須の分野に、研究の最新のツールを提供し、共同研究を推進する。

生命現象に対する数理・情報科学的取り組みの歴史はまだ浅い。研究者間の交流を継続して積極的に進めていく必要がある。情報生物学研究センターでは、生命科学における数理・情報生物学者同士の交流を推し進めるため、定期的に研究会を行っている。研究会では、新しい視点や情報処理技術の交換の場として、活発に交流が行われている。生物科学と情報学の知識と技術をともに使いこなせる研究者を養成することもセンターの目的の一つであり、若手研究者の養成に力を入れている。

STAFF

助教授
望月 敦史

事務支援員
梅林 弘美



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

研究施設においては、各種分析機器の保守・管理及び測定、ラジオアイソトープ施設の管理、大型スベクトログラフや計算機、ネットワークの維持管理、実験動物・植物の飼育や栽培、及び細胞・組織の培養等を行っている。また、研究部門においては、研究者のもとで種々の実験の補助、実験材料の調製、蛋白質等の

精製及び分析、遺伝子の解析、形態観察、形質転換生物の作成等を行い、幅広い、高度な技術を通して研究を支援している。また、研究所共通の機器や室の保守・管理等の研究支援も行っている。

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

1. **ミーティング**：毎週月曜日に課長から教授会議、各種委員会等の報告を受け、課の運営を議論し、日常業務の連絡や技術的な情報交換を行っている。

2. **課内セミナー**：毎週、ミーティング終了後、各自の携わっている日常業務に関する技術について、まとめ、発表し情報交換を行うことにより相互の技術交流を深め、知識の向上に努めている。

3. **課内研修**：専門技術の幅を広げるため、新しい技術の取得を目的に、相互に技術情報の交換、各種機器の操作法や、実験技術の実習等を行う。また、業務を遂行する上で必要な安全教育も行う。平成13年度

からは、外部講師等を招き、集中的な技術研修を目的とする、技術ワークショップを企画している。

4. **生物学技術研究会**：他大学及び研究機関等の生物学の研究分野に携わる技術系職員との技術の交流や情報交換を目的に、毎年「生物学技術研究会」を開催している。日常関わっている幅広い技術活動での成果や問題点を発表し、討論することにより技術の向上に努めている。

平成15年度は、平成16年2月19日～20日に、当研究所技術課主催の「第15回生物学技術研究会」と、隣接の生理学研究所技術課主催の「第26回生理学技術研究会」を合同開催した。全国44機関60部局から159名の参加があり、活発な技術交流が行われた。両研究会の合同開催は平成13年度から行っており、生物系技術分野における共通技術で、一層幅広く交流できることで好評である。この研究会の報告は、「生物学技術研究会報告第15号」と「生理学技術研究会報告第26号」の合併号として出版される予定である。

www.nibb.ac.jp/techdep/

技 術 課



第15回 生物学技術研究会（第26回生理学技術研究会と合同開催）

■技術課長



古川 和彦

■研究施設技術班



東 正一
技術係長



松田 淑美
技術係長



三輪 朋樹
技術係長



森 友子
技術係長



難波千宮子
技術主任



澤田 薫
技術主任



林 晃司
技術主任



飯沼 秀子
技術職員



牧野由美子
技術職員



高見 重美
技術職員

■研究系技術班



西出 浩世
技術職員



中村 貴宣
技術職員



小林 弘子
技術班長



田中 幸子
技術係長



大澤 園子
技術係長



近藤 真紀
技術係長



壁谷 幸子
技術主任



高木 知世
技術職員



水谷 健
技術職員



山口 勝司
技術職員



竹内 靖
技術職員



内海 秀子
技術職員



岡 早苗
技術職員



住川 直美
技術職員



諸岡 直樹
技術職員



野田 千代
技術職員

■技術支援員

伊藤 崇予
森部 初美
鈴木 恵子
近藤 牧子
牧原 暢子
市川 千秋
河村 真美子
竹下 美也子
百々(谷川)由希子
原田 美幸

■事務支援員

片岡 ゆかり
中根 佳保里
都築 志保子
向田 恭世
弘中 東美江

岡崎統合バイオサイエンスセンター

センター長：北川禎三教授（併）

本センターは、分子科学研究所、基礎生物学研究所、生理学研究所の岡崎3研究所の共通研究施設として2000年4月に設立された。設立目的は分子科学、基礎生物科学、生理学などの学際領域にまたがる諸問題に対し、総合的な観点と方法論を適用、駆使し、新しいバイオサイエ

ンスを切り開くことである。私達は生命現象の基本に関する諸問題を分子レベルから細胞、組織、個体レベルまで統合的に捉え、独創的に研究展開したいと考えている。そうした理念のもとに、現在以下のような3つの研究領域が設置されている。

時系列生命現象研究領域

発生遺伝研究室
分子発生研究室
神経分化研究室

生命環境研究領域

生体分子研究室
生命環境研究室
植物発生研究室

戦略的方法論研究領域

ナノ形態生理研究室
分子生理研究室
生物無機研究室
生体物理研究室

計算科学研究センター

センター長：永瀬茂教授（併）

計算科学研究センターは、我が国唯一の分子科学計算のための共同利用基盤センターとしての経験を活かし、分子科学計算に加えて分子科学—生物の境界領域に展開を図る岡崎3研究所共通研究施設である。機構

内の岡崎3研究所はもちろん、国内外の分子科学研究者、バイオサイエンス研究者に対して大学等では処理が困難な大規模な計算処理環境を提供する共同利用施設としての基盤強化を目指している。

動物実験センター

センター長：池中一裕教授（併）

機構における研究基盤の強化を図るため、これまでの生理学研究所動物実験施設を岡崎3研究所共通の研究施設として動物実験センターに転換した。センターでは、実験動物の

飼育と供給、系統の保存と併せて動物実験の指導、条件整備等といった機能の一層の充実を図ることを目指している。

アイソトープ 実験センター

センター長:高田慎治教授(併)

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

センター運営は、センター長(併任)、助教授1名、技術職員3名、事務支援員1名、技術支援員2名で行われている。

使用許可核種は次のようになっている。

明大寺地区実験施設

共通棟 RI 室： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{28}Mg 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{42}K 、 ^{45}Ca 、 ^{89}Sr 、 ^{125}I

形質統御棟 RI 室： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^{45}Ca 、 ^{125}I

山手地区実験施設

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

平成15年度の放射線業務従事者数は明大寺地区実験施設123名、山手地区実験施設41名、延べ施設利用者数は明大寺地区実験施設4965名、山手地区実験施設1271名であった。



アイソトープ実験センタースタッフ

STAFF

助教授

小川 和男

技術支援員

伊藤 崇予
片桐 泉

技術課技術職員

松田 淑美
澤田 薫
飯沼 秀子

事務支援員

兼氏 君恵

共通施設

基礎生物学研究所および生理学研究所に共通する施設として、現代の生物科学研究を総合的に推進し得るよう、6室を設置している。これらに、平成12

年度から機構共通研究施設となったアイソトープ実験センターおよび動物実験センターを含めて、一つの生物科学総合実験研究システムとして機能している。

基礎生物学研究所が担当する施設

分析室

www.nibb.ac.jp/analyins/CAI-home.html



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

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

1. タンパク質・遺伝子解析装置

プロテインシーケンサ、アミノ酸分析計、DNAシーケンサによりタンパク質と核酸の一次構造決定や組成分析を行い、ペプチド合成装置によりペプチドの化学合成を行う。さらに表面プラズモン共鳴を利用した生体分子相互作用解析装置により、生体分子間の特異的相互作用を解析する。また核酸やプラスミドの抽出・分離装置、PCR等も備えている。

2. 分離分析装置

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

3. 物理化学的解析装置

核磁気共鳴装置(NMR)、電子スピン共鳴装置(ESR)および質量分析装置(MS)による生体物質の定性・定量分析および構造や機能の解析を行う。特にMALDI/TOF-MSはプロテオーム解析などに活用されている。

4. 分光分析装置

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



プロテインシーケンサ

5. 顕微鏡・画像解析装置

共焦点レーザースキャン顕微鏡、超深度形状測定顕微鏡や環境制御型走査電子顕微鏡を備え、組織学的・細胞学的観察および細胞・組織レベルでの解析を行う。またバイオイメージアナライザ、画像解析装置等により、電気泳動像、フィルム等の画像解析を行う。



MALDI/TOF-MS

参考文献

1. Yoshikawa, S., Nagasato, C., Makino, Y., Murakami, A., Kawai, H., Ichimura, T. and Motomura, T. (2002) Nuclear Histone Proteins of Gametes in an Oogamous and two Isogamous Brown Algae *J. Phycol.* **38**, 318-324.

STAFF

技術課技術職員
森 友子
牧野 由美子
高見 重美

技術支援員
森部 初美

事務支援員
服部 宣子

■ 洗滌室

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

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

■ 廃棄物処理室

実験で生じた廃液および廃棄物を回収し、研究所内外の環境保全を行う。

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

廃水処理施設では、両研究所から排出される約 200t / 日の廃水処理を行い、併せて処理水の水質管理を

行っている。また、平成 15 年度は基礎生物学研究所および生理学研究所の各部門・施設から約 2,000L の濃厚廃液を回収し、処理を廃棄物処理業者に委託した。



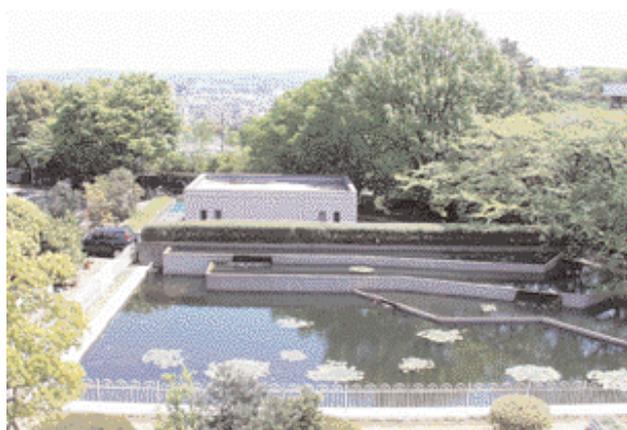
実験洗浄廃水処理施設

■ 共通施設棟 I

1階 分析室

2階 アイソトープ実験センター

地階 電子顕微鏡室および分析室



生理学研究所が担当する施設

■ 電子顕微鏡室

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

■ 機器研究試作室

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

■ 低温・冷凍実験室

生物活性物質の分離調製と試料の保存を行う。

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

総合研究大学院大学とは

総合研究大学院大学は、基礎学術分野の総合的発展を目指した大学院教育を行うために、学部を持たない大学として1988年に設置されました。神奈川県葉山に本部をもち、18の基盤機関である国立学術研究機関に学生を分散配置し大学院教育を行っています。生命科学研究科は分子生物機構論専攻と同じ岡崎にある生理学研究所の

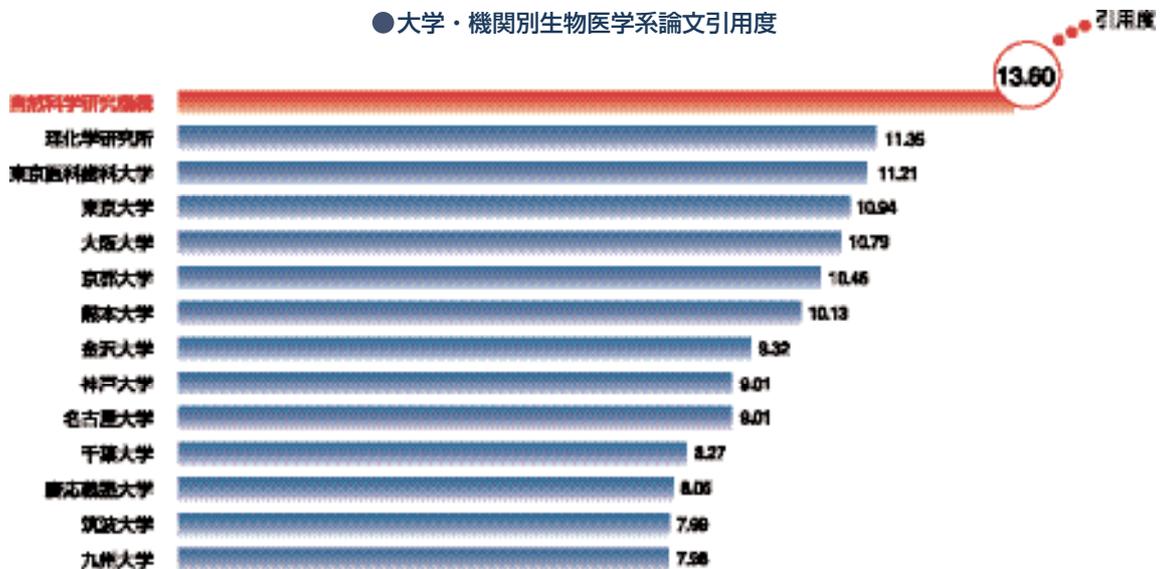
生理科学専攻と、静岡県三島市の国立遺伝学研究所の遺伝学専攻との3専攻により構成されています。分子生物機構論専攻は、分子生物学を基盤として動植物にかかわる基本的、かつ、高次な生物現象を分子レベルまで掘り下げて解析する高度な研究者の養成課程です。

基礎生物学研究所の素晴らしい研究環境

基礎生物学研究所（基生研）は大学における学術研究の発展に資するため、基礎生物学に関する総合研究を行うことを目的として、1977年に創設されました。生命現象の基礎的な問題の解明を目指し、動物・植物を対象に、生物の基本単位である細胞の構造・働き・増殖・分化、器官の形成、外界からの刺激に対する生体の反応・制御等について先端的な研究を行っています。基礎生物学研

究所は、我が国の生物学研究の中核の一つとして、最先端の施設や設備が整備されているばかりでなく、教授陣は、優れた創造的な研究を発信し続けており、論文の被引用回数は、我が国だけでなく世界でもトップクラスに位置しています。また科学研究費の獲得率でも常にトップクラスです。基礎生物学研究所で学位を取得するためには、総合研究大学院大学（総研大）に入学する必要があります。

●大学・機関別生物医学系論文引用度



ISI NCR for Japan (1981-2002)に対する根岸の調査

これまで総合研究大学院大学は修士課程修了者を対象とする博士課程の大学院として開かれていましたが、今年4月から5年一貫制のコースが開設され、学部卒業生から基礎生物学研究所で学ぶことが可能となりました。21世

紀の新しい日本の生物学をリードする意欲に溢れた若者の入学を期待し研究所内外で大学院説明会を行っています。修士課程修了者の入学も従来通り10月と4月の2回行っています。

基礎生物学研究所は、大学共同利用機関として、広く基礎生物学に及びこれに関連する分野における研究者の共同利用に供されるとともに、研究者の養成に関しては、国・公・私立大学の要請に応じて、「特別研究学生」を受け入れ、大学院における教育に協力を行ってきたが、近年における、研究所の研究活動への大学院学生の参画の重要性に鑑み、平成9年度からは当該大学院学生を「特別共同利用研究員」として受け入れ、併せて研究指導を行い大学院教育の協力を行うこととした。

■ 平成16年度特別共同利用研究員

氏 名	所属大学院・研究科・専攻等	研究 題 目
小笠原 希実	東京海洋大学・海洋科学技術研究科 食 品 生 産 学 専 攻	紅藻類に含まれる抗菌物質に関する研究
川 俣 朋 子	神戸大学・自然科学研究科・生命科学専攻	酵母のオートファジーの膜動態に関する分子遺伝学的解析
宮 林 香 奈 子	東北大学・農学研究科・応用生命科学専攻	生殖腺分化課程におけるArxの機能解析
吉 兼 奈 美	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科・動物分子工学専攻	ショウジョウバエNAT1の機能解析
鄭 惠 英	東京大学・工学系研究科 化 学 生 命 工 学 専 攻	アフリカツメガエルを用いた初期発生におけるFGFシグナリングの解析
及 川 和 聡	東京都立大学・理学研究科 理 学 生 物 科 学 専 攻	葉緑体の局在を制御するCHUP1タンパク質の機能解析
上 中 秀 敏	東京都立大学・理学研究科 理 学 生 物 科 学 専 攻	ヒメツリガネゴケの光による分枝形成の解析
森 長 真 一	東北大学・生命科学研究所 生 体 シ ス テ ム 生 命 科 学 専 攻	閉鎖花の収斂進化に関する進化遺伝学的研究
細 川 健 太 郎	東京大学・総合文化研究科 広 域 科 学 専 攻	被子植物の多様な花形態をもたらす分子機構の解析
望 月 慈 子	九州大学・生物資源環境科学府 生 物 資 源 開 発 管 理 学 専 攻	潜葉虫-寄生蜂間にみられる拮抗関係の数理的研究
山 上 歩	名古屋大学・理学研究科 生 命 理 学 専 攻	細胞ベースシミュレーションによるショウジョウバエ個眼形成の数理的研究
加 藤 英 男	山口大学・連合獣医学研究科 基 礎 獣 医 学 専 攻	内分泌かく乱化学物質の生体に及ぼす影響
山 口 良 文	京都大学・生命科学研究所 統 合 生 命 科 学 専 攻	脊椎動物の形態形成機構に関する研究
雉 本 禎 哉	東京工業大学・生命理工学研究科 生 体 シ ス テ ム 学 専 攻	東アフリカ産カワスズメ科魚類の顎部の形態形成に関する遺伝子の単離と解析
藤 村 衡 至	東京工業大学・生命理工学研究科 生 体 シ ス テ ム 学 専 攻	東アフリカ産カワスズメ科魚類の頭部形態の多様化に関する研究

第1回 生物学国際高等コンファレンス (OBC)

The Biology of Extinction
「絶滅の生物学」

開催期間 2004年1月25日～30日

オーガナイザー 九州大学 巖佐 庸
Duke大学 Stuart L. Pimm

「絶滅」という現象をめぐる第一線の研究を展開している、数理生物学から生態学におよぶ幅広い専門分野の研究者を招待し、6日間にわたって徹底的に討論を重ねる場とした。取り上げられた話題は、化石時代の絶滅から、現在進行中の絶滅まで：種の多様性の生成・維持のメカニズムおよび種の絶滅のメカニズムの理論的考察；絶滅の発生生物学的検討；絶滅が招来する結果についてなど多岐にわたった（詳しくは <http://obc.nibb.ac.jp/1st/index.html> 参照）。その結果、さまざまな時間的・空間的スケールや理論的切り口で絶滅を研究していながら、従来面識のなかった多くの研究者が親しく交流することが出来、「絶滅」という現象をめぐる研究者のソサエティーを立ち上げることができた。



招待講演者

- | | | |
|---|---|---------------------|
| Akcakaya, Resit H.
(Applied Biomathematics, USA) | McCarthy, Michael A.
(Royal Botanic Gardens Melbourne, Australia) | 石濱 史子 (東京大学) |
| Brook, Barry W.
(Charles Darwin University, Australia) | Naeem, Shahid
(Columbia University, USA) | 巖佐 庸 (九州大学) |
| Brooks, Thomas
(Conservation International, USA) | Nee, Sean P.
(University of Edinburgh, UK) | 江田 真毅 (東京大学) |
| Cardillo, Marcel
(Imperial College London, UK) | Pimm, Stuart L.
(Duke University, USA) | 太田 英利 (琉球大学) |
| Colegrave, Nick
(University of Edinburgh, UK) | Purvis, Andy
(Imperial College London, UK) | 河田 雅佳 (東北大学) |
| Colwell, Robert K.
(University of Connecticut, USA) | Roberts, Callum M.
(University of York, UK) | 嶋田 正和 (東京大学) |
| Cooper, Steven
(South Australian Museum, Australia) | Roopnarine, Peter D.
(California Academy of Sciences, USA) | 泰中 啓一 (静岡大学, 一般) |
| Courchamp, Franck
(CNRS, France) | Root, Terry L.
(Stanford University, USA) | 高橋 一彦 (基礎生物学研究所) |
| Dunn, Robert R.
(Curtin University, Australia) | Roy, Kaustuv
(University of California, San Diego, USA) | 田中 嘉成 (中央大学) |
| Etienne, Rampal S.
(University of Groningen, Netherland, 一般) | Russell, Gareth J.
(Columbia University, USA) | 千葉 聡 (東北大学) |
| Flannery, Tim F.
(South Australian Museum, Australia) | Saether, Bernt-Erik
(Norwegian University of Science and Technology, Norway) | 辻 宣行 (国立環境研究所) |
| Frankham, Richard
(Macquarie University, Australia) | Schneider, Stephen H.
(Stanford University, USA) | 富松 裕 (北海道大学) |
| Halley, John M.
(Aristotle University of Thessaloniki, Greece) | Shaffer, Bradley H.
(University of California, Davis, USA) | 夏原 由博 (大阪府立大学, 一般) |
| Hanski, Ilkka A.
(University of Helsinki, Finland) | Sodhi, Navjot S.
(National Academy of Singapore, Singapore) | 箱山 洋 (中央水産研究所) |
| Helgen, Kristofer M.
(University of Adelaide, Australia) | Strecker, Ulrike
(University of Hamburg, Germany) | 長谷部光泰 (基礎生物学研究所) |
| Inchausti, Pablo
(Universite de Rennes 1, France) | Thomas, Chris
(University of Leeds, UK) | 増田 理子 (名古屋工業大学, 一般) |
| Jackson, Jeremy B. C.
(University of California, San Diego, USA) | Voss, Stephen R.
(University of Kentucky, USA) | 松田 裕之 (横浜国立大学) |
| Jetz, Walter
(Princeton University, USA) | Vrijenhoek, Robert C.
(Monterey Bay Aquarium Research Institute, USA) | 望月 敦史 (基礎生物学研究所) |
| Koh, Lian Pin
(National University of Singapore, Singapore, 一般) | Weisrock, David W.
(University of Kentucky, USA) | 矢原 徹一 (九州大学) |
| Kunin, William E.
(University of Leeds, UK) | Wilcox, Chris
(The Ecology Centre, Australia) | 横溝 裕行 (九州大学, 一般) |
| Lande, Russell S.
(University of California, San Diego, USA) | Wilkens, Horst
(University of Hamburg, Germany) | 鷺谷いづみ (東京大学) |
| MacMynowski, Dena P.
(Stanford University, USA) | | |

第49回 基礎生物学研究所コンファレンス

Dynamic Vacuoles in Plants
「液胞の動態から見た植物の生存戦略」

開催期間 2003年11月25日～27日

提案代表者 基礎生物学研究所 大隅 良典

特定領域研究「植物の生存戦略における液胞機能を総合的理解」(基生研・大隅良典代表)の終了を機に、成果を広く国内外の研究者と議論し、今後の展望を明らかにすることを目的として本会議は開催された。国内外から予想を遙かに超える120名の参加者(海外から25人)を得て、ポスター発表30を含む多くの研究発表がなされ、熱心な議論が行われた。

主なる内容は、液胞形成とそのダイナミズム、液胞の分解機能、液胞の分化と発生、液胞膜輸送、花卉の色素をめぐる諸問題など多岐に亘った。近年のゲノム情報の進展、細胞内タンパク質の可視化技術の進歩、遺伝生化学的な手法を背景に最先端の研究内容が紹介された。液胞膜のもつ輸送体などの解析に加えて、環境耐性、老化、プログラム細胞死、花色制御、オートファジーさらに重力屈性などの植物の高次機能に液胞が深く関わっていることが認識された。研究対象もシロイヌナズナ、タバコ、アサガオ、カサノリ、酵母、麹菌など多岐に亘ったにもかかわらず本質に関する質疑が活発に行われ、多様な研究が相互に関連しているとの認識が広まった点が、特徴であった。これまで個別に研究されてきた液胞機能を総合的に捉え、様々な協力関係が生まれる契機となった点で大きな意義があった。

なお終了後、海外参加者から会議のすばらしさに関して多数の謝辞が送られてきたことも会議の成功を裏付けるものである。



招待講演者

Eduardo Blumwald (University of California, Davis, USA)
Raymond Brouillard (University Louis Pasteur Strasbourg, France)
Karl-Josef Dietz (Bielefeld University, Germany)
Zvulun Elazar (The Weizmann Institute of Science, Israel)
Markus Geisler (University of Zuerich, Switzerland)
Kendal Hirschi (Baylor College of Medicine, USA)
Inhwan Hwang (Pohang University of Science and Technology, Korea)
Markus Klein (University of Zuerich, Switzerland)
Jean-Marc Neuhaus (University of Neuchatel, Switzerland)
Karin G. Schumacher (University of Tuebingen, Germany)
Tom Stevens (Oregon University, USA)
Heven Sze (University of Maryland, USA)
Alessandro Vitale (Consiglio Nazionale Delle Ricerche, Italy)

安楽泰宏 (帝京科学大学)	白武勝裕 (名古屋大学)	久堀 徹 (東京工業大学)
飯田 滋 (基礎生物学研究所)	高橋秀樹 (理化学研究所)	福田裕穂 (東京大学)
池田己喜子 (岡山県立大学)	竹川 薫 (香川大学)	前島正義 (名古屋大学)
大隅良典 (基礎生物学研究所)	田坂昌生 (奈良先端科学技術大学院大学)	三村徹郎 (奈良女子大学)
柿沼喜己 (愛媛大学)	中野明彦 (東京大学・理化学研究所)	森安裕二 (静岡県立大学)
北本勝ひこ (東京大学)	西村いくこ (京都大学)	矢崎一史 (京都大学)
阪井康能 (京都大学)	西村幹夫 (基礎生物学研究所)	山崎真巳 (千葉大学)
佐藤雅彦 (京都大学)	馳澤盛一郎 (東京大学)	吉田久美 (名古屋大学)
嶋田知生 (京都大学)	平田龍吾 (理化学研究所)	

グループ共同研究

研究課題	提案代表者名
黄色植物の青および緑色光を受容する光反応系の解明	片岡 博尚 (東北大学大学院生命科学研究科)
アサガオの花色発現制御機構の解明	斎藤 規夫 (明治学院大学法学部)
車軸藻綱植物と陸上植物の分子進化的解析	伊藤 元己 (東京大学大学院総合文化研究科)
DNA microarray を用いたシアノバクテリアシグマ因子群の機能解析	田中 寛 (東京大学分子細胞生物学研究所)
アゲハチョウ上科の系統発生学的研究	三枝 豊平 (九州大学)

個別共同研究

研究課題	提案代表者名
植物カタラーゼのペルオキシゾームへの輸送とペルオキシゾーム形成	江坂 宗春 (広島大学大学院生物圏科学研究科)
ペクソファジー関連分子の生化学と細胞内挙動解析	阪井 康能 (京都大学大学院農学研究科)
サイクリンBmRNA の翻訳制御に関わる蛋白質の分子同定	山下 正兼 (北海道大学大学院理学研究科)
ヒト生殖巣刺激物質 (GSS) の精製および同定	三田 雅敏 (帝京大学理工学部)
セブラフィッシュ生殖細胞-セルトリ細胞培養系を用いた精子形成調節因子の探索	酒井 則良 (福井県立大学生物資源学部)
魚類生殖腺刺激ホルモン受容体に関する分子生物学的研究	平井 俊朗 (帝京科学大学理工学部)
サイクリン分解の分子メカニズムの解析	徳元 俊伸 (静岡大学理学部)
魚類卵母細胞に存在する核ラミン結合蛋白質の単離および機能解析	山口 明彦 (九州大学大学院農学研究院)
鳥類の生殖腺の形態形成機構の解明	吉岡 秀文 (兵庫教育大学学校教育学部)
コンディショナル遺伝子発現トランスジェニックカエルの作製とアポトーシス機構解明への応用	酒巻 和弘 (京都大学大学院生命科学研究科)
植物由来脂質不飽和化酵素遺伝子の動物細胞での発現解析	大西 正男 (帯広畜産大学畜産学部)
Leptospira 属のグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ遺伝子の解析	西田 生郎 (東京大学大学院理学系研究科)
シアノバクテリアの紫外線応答	坂本 敏夫 (金沢大学大学院自然科学研究科)
微細藻類における環境ストレス応答機構に関する研究	平田 収正 (大阪大学大学院薬学研究科)
酸化ストレスによる修復システムの阻害機構	西山 佳孝 (愛媛大学理学部)
葉に濃緑色のセクターを生ずるアサガオ株における葉緑体形成の易変異性変異に関する研究	佐藤 浩之 (東邦大学理学部)
syntaxin1C 分子の生理機能の解析	赤川 公朗 (杏林大学医学部)
霊長類大脳皮質領野特異的遺伝子の同定と機能解析	榎 佳之 (独)理化学研究所ゲノム科学総合研究センター)
適応進化の分子的検証	青木 誠志郎 (東京大学大学院総合文化研究科)
ヒメツリガネゴケの細胞分裂制御とエチレン作用の解析	東江 昭夫 (東京大学大学院理学系研究科)
ヒメツリガネゴケ F L O / L F Y 相同遺伝子の機能解析	加藤 雅啓 (東京大学大学院理学系研究科)
タバコモザイクウイルスの移行タンパク質を利用した原形質連絡タンパク質の解析	渡邊 雄一郎 (東京大学大学院総合文化研究科)
広分布種における種内遺伝的多様度の解析	石田 健一郎 (金沢大学理学部)
ネナシカズラの寄生根形成部位決定に対する光制御機構の解析	古橋 勝久 (名古屋産業大学環境情報ビジネス学部)
UV-B 光受容体の同定	植野 洋志 (奈良女子大学生活環境学部)
褐藻遊走細胞の鞭毛局在性タンパク質の同定と機能解析	村上 明男 (神戸大学内海域機能教育研究センター)
周期エストロゲン処理によるマウス多卵性濾胞誘導機構の解明	佐藤 友美 (横浜市立大学大学院総合理化学研究科)
アンドロゲン/抗アンドロゲン作用を発現する内分泌かく乱物質の学習および行動に及ぼす影響に関する研究	田村 廣人 (名城大学農学部)
内分泌攪乱物質曝露による核内レセプターの遺伝子発現に及ぼす影響に関する研究	足達 哲也 (大阪府立大学先端科学研究所)
雌性ホルモン処理により発現変化する両生類性転換関連遺伝子の探索と構造解析	高瀬 稔 (広島大学大学院理学研究科)
内分泌攪乱物質の齧歯類子宮における影響	太田 康彦 (鳥取大学農学部)
内分泌かく乱物質の遺伝子発現に与える影響解析	松田 知成 (京都大学大学院地球環境学)
軸糸を構築する分子の網羅的記述と機能解析	稲葉 一男 (東北大学大学院理学研究科附属臨海実験所)
水晶体再生機構の分子生物学的解析	近藤 壽人 (大阪大学大学院生命機能研究科)
ハエトリソウ (Dionaea muscipula) の補中器形成に関与する遺伝子の単離解析	星 良和 (有明工業高等専門学校)
金魚の視神経再生に関与する分子の探索	加藤 聖 (金沢大学大学院医学系研究科)
小脳皮質形成における P T P ζ の役割の解明	田中 正彦 (藤田保健衛生大学総合医科学研究科)

ペルオキシソーム輸送シグナルを持つ低分子量熱ショックタンパク質 HSP15.7 の細胞内局在性	加藤 朗 (新潟大学理学部)
青色花弁色素細胞の液胞成分と発色に関する研究	吉田 久美 (名古屋大学大学院人間情報学研究所)
RNAi の脳内局所注入による神経伝達物質受容体の強制脱落と発現	木村 實 (京都府立医科大学医学部)
子宮内膜細胞の増殖と機能発現に及ぼす内分泌攪乱物質の毒性作用	高橋 純夫 (岡山大学理学部)
脳や精巣に特異的に発現する新規細胞接着分子の機能解析	林 要喜知 (旭川医科大学医学部)
特定トランスジェニックマウス系 Line-4 を用いた聴覚伝導路の研究	工藤 基 (滋賀医科大学)
植物体内における無機元素関連遺伝子についての解析	中西 友子 (東京大学大学院農学生命科学研究科)
タネツケバナにおける閉鎖花の進化遺伝学的解析	酒井 聡樹 (東北大学大学院生命科学研究科)
細胞内葉緑体定位運動機構の解析	門田 明雄 (東京都立大学大学院理学研究科)
高等植物オルガネラの分裂を制御する遺伝子の解析	堤 伸浩 (東京大学大学院農学生命科学研究科)
高等植物の細胞内膜系の分化機構	西村いくこ (京都大学大学院理学研究科)
ペルオキシソーム膜透過装置の解明	伊藤 正樹 (佐賀医科大学医学部)
ショウジョウバエ卵殻形態進化における位置情報の場の多様化の意義に関する研究	松野 健治 (東京理科大学基礎工学部)
植物細胞の不等分裂に関わる遺伝子群の同定, 機能解析	庄野 邦彦 (日本女子大学理学部)
魚類における性ステロイド攪乱物質の作用メカニズムに関する研究	池内 俊貴 (慶応義塾大学環境/バイオサイエンス学部)
オスジロアゲハ(Papilio dardanus)を含むアゲハチョウ群の分子系統解析	関村 利朗 (中部大学応用生物学部)
出芽酵母における RNase T1 発現感受性変異株の遺伝生化学的解析	北本 勝ひこ (東京大学大学院農学生命科学研究科)
ミヤコグサ根粒における SNARE 遺伝子の発現解析	田島 茂行 (香川大学農学部)
Apg 蛋白質の結晶構造解析	稲垣 冬彦 (北海道大学大学院薬学研究科)
マウスの形態形成に関与する新規シグナル伝達因子の機能解析	菊池 章 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科)
酵母液胞アミノ酸トランスポーターの局在性と生理機能	柿沼 喜己 (愛媛大学農学部)
新規β-ガラクトシダーゼプロブを用いた新たな生理学研究ツールの開発	浦野 泰照 (東京大学大学院薬学系研究科)

研究会

研究会名	提案代表者名
ラン藻のゲノム生物学	小俣 達男 (名古屋大学大学院生命農学研究所)
光生物学実験系としての藻類の展望	近江谷 克裕 ((独)産業技術総合研究所人間系特別研究体)
Ecotoxicogenomics	井口 泰泉 (岡崎国立共同研究機構統合/バイオサイエンスセンター)
植物の微小管構築機構の新展開	園部 誠司 (姫路工業大学理学部)
形態進化のメカニズム	岡田 典弘 (東京工業大学大学院生命理工学研究科)

所長招聘研究会

研究会名	提案代表者名
生体シグナルの可視化を目指して	上野 直人 (岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所)
生命の時空間的な制御 - 数理的アプローチを中心に-	望月 敦史 (岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所)
ユーグレノゾアの生物学	渡辺 正勝 (岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所)
環境と遺伝子	井口 泰泉 (岡崎国立共同研究機構統合/バイオサイエンスセンター)
Agt タンパク質の構造機能相関に関する研究会	大隅 良典 (岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所)

大型スペクトログラフ共同利用実験

研究課題	提案代表者名
植物における酸化的 DNA 損傷形成の波長依存性に関する研究	竹内 裕一 (北海道東海大学)
渦鞭毛藻類の光発芽の光受容機構の研究	堀口 健雄 (北海道大学大学院理学研究科)
マウス皮膚における紫外線誘発突然変異の作用スペクトル解析	池畑 広伸 (東北大学大学院医学系研究科)
シアノバクテリアの光応答機構の解析	池内 昌彦 (東京大学大学院総合文化研究科)
ラン藻の光運動反応に及ぼす遠赤色光、青色光、紫外光の影響	広瀬 正紀 (和歌山大学教育学部)
脊椎動物生物時計の光入力系	飯郷 雅之 (宇都宮大学農学部)
イネのフィトクロム突然変異体を用いた子葉鞘の伸長抑制に対する短時間照射光の強度の効果	高野 誠 ((独)農業生物資源研究所)

キュウリの成長に及ぼす UV-B の影響	近藤 矩朗 (東京大学大学院理学系研究科)
好熱性ラン藻 <i>Thermosynechococcus elongatus</i> の走光性に関する研究	眞鍋 勝司 (横浜市立大学総合理学研究科)
ポリマーフィルムの光劣化に対する紫外線波長の影響	大石 不二夫 (神奈川大学理学部)
太陽紫外線 UV-B 放射の観測に用いる基準放射計の分光応答度の評価	佐々木 政子 (東海大学総合科学技術研究所)
シロイヌナズナのフィトクロム発色団構造と生理応答活性の相関解析	河内 孝之 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)
器官培養皮膚組織における紫外線誘発アポトーシスの作用スペクトル	大西 武雄 (奈良県立医科大学)
光合成光阻害の作用スペクトル	村田 紀夫 (岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所)
シロイヌナズナの光屈性を誘導する青色光受容体 phot1 の分子遺伝学的解析	酒井 達也 ((独)理化学研究所植物科学研究センター)
太陽紫外線単独あるいは化学物質共存下での DNA 傷害と突然変異、アポトーシスの誘導あるいはその抑制	根岸 友恵 (岡山大学薬学部)
ユーグレナの光周期的細胞増殖に有効な光の作用スペクトル	後藤 健 (帯広畜産大学)
Synergistic Effects of Monochromatic UV Radiation and Solar-Simulated Radiation on Polymer Photodegradation	Andrady, Anthony L (Research Triangle Institute)
Action spectra for the synthesis of mycosporine-like amino acids(MAAs)	Gudrun Krabs (Alfred-Wegener-Institute for Polar and Marine Science)
ショウジョウバエを用いた光波長識別機能の解析	伊藤 啓 (東京大学分子細胞生物学研究所)
ベタレイン色素合成に関与する光受容体の特定	足立 泰二 (大阪府立大学大学院農学生命科学研究科)
葉の重力応答の光抑制	塚谷 裕一 (岡崎国立共同研究機構統合バイオサイエンスセンター)

形質統御実験施設共同利用実験

研究課題	提案代表者名
イネ雑種不稔遺伝子 S1 の機能解析	佐野 芳雄 (北海道大学大学院農学研究科)
花色合成系遺伝子の発現を制御する転写調節機構の解明	小関 良宏 (東京農工大学工学部)
イネの易変性葉緑素変異体における転移性因子の探索	前川 雅彦 (岡山大学資源生物科学研究所)
サル大脳皮質錐体細胞に発現する voltage-gated ion channel の探索	一戸 紀孝 ((独)理化学研究所脳科学総合研究センター)

環境耐性植物共同利用実験

研究課題	研究者名
Identification of the response regulators that are involved in the transduction of a cold signal in cyanobacteria	SHOUMSKAYA, Maria (ロシア)
Identification of response regulators involved in the cold-inducible gene by DNA microarray technique	PAITHOONRANGSARID, Kalyanee (タイ)
DNA-Microarray analysis of cyanobacterial gene transcription in response to different light conditions.	HUEBSCHMANN, Thomas (ドイツ)
Signal transduction in cyanobacteria	PANICHKIN, Vladimir Borisovich (ロシア)
The UV-induced damage to PSII	ZSIROS, Otto (ハンガリー)
Cold-induced changes in the dynamics of genetically manipulated <i>Synechococcus</i> the akoid membranes	SZALONTAI, Balázs (ハンガリー)
Membrane Dynamism during Nutrient Starvation	ELAZAR, Zvulun (イスラエル)

基生研セミナー

1 伊藤 隆司 (東京大学・大学院新領域創成科学研究科)	2 松岡 信 (名古屋大学・生物機能開発利用研究センター)
3 城石 俊彦 (国立遺伝学研究所)	4 小川 正晴 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)
5 林 茂生 ((独)理化学研究所・発生再生化学総合センター)	6 澤 斉 ((独)理化学研究所・発生再生化学総合センター)
7 友岡 康弘 (東京理科大学・基礎工学部)	8 清末 優子 (カン研究所)
9 内藤 哲 (北海道大学・大学院農学研究科)	10 篠崎 一雄 ((独)理化学研究所・中央研究所)
11 西田 宏記 (大阪大学・大学院理学研究科)	12 富田 勝 (慶応義塾大学・環境情報学部)
13 宇佐見義之 (神奈川大学・工学部)	14 相賀裕美子 (国立遺伝学研究所)
15 高橋 健治 (東京薬科大学・生命科学部)	

所長招へい

1 志賀 貴紀 (北海道大学・大学院薬学研究科)	2 菅原 健二 (北海道大学・大学院薬学研究科)
3 松下美奈子 (北海道大学・大学院薬学研究科)	4 藤岡 優子 (北海道大学・大学院薬学研究科)
5 鈴木 展生 (北海道大学・大学院薬学研究科)	6 稲垣 冬彦 (北海道大学・大学院薬学研究科)
7 羽瀬 泰嘉 (東京工業大学・大学院生命理工学研究科)	8 小原 圭介 (東京大学・大学院理学系研究科)

9 尾板 英子 (お茶の水女子大学・大学院人間文化研究科)	10 中戸川 仁 (京都大学・ウイルス研究所)
11 上島 励 (東京大学・大学院理学系研究科)	12 渡辺 資之 (東京大学・大学院農学生命科学研究科)
13 廣川 純也 (静岡大学・大学院理工学研究科)	14 平野 将司 (熊本県立大学・大学院環境共生学研究科)
15 松村 尚美 (熊本県立大学・環境共生学部)	16 有蘭 幸司 (熊本県立大学・環境共生学部)
17 西田 尚代 (熊本大学・大学院薬学教育部)	18 足立 淳 (京都大学・大学院工学研究科)
19 伊藤 紗弥 (東京大学・大学院農学生命科学研究科)	20 藤田 敏明 (北海道大学・大学院水産科学研究科)
21 大久保信幸 ((独)水産研究総合センター・北海道水産研究所)	22 敖恩宝力格 (帯広畜産大学・大学院畜産学研究科)
23 後藤 健 (帯広畜産大学・畜産学部)	24 近藤 隆 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)
25 加藤 洋教 (熊本大学・生命資源研究・支援センター)	26 荻野由紀子 (熊本大学・生命資源研究・支援センター)
27 木村 宏和 (熊本県立大学・環境共生学部)	28 山田 源 (熊本大学・生命資源研究・支援センター)
29 佐藤 友美 (横浜市立大学・大学院総合理学研究科)	30 重岡 成 (近畿大学・農学部)
31 加藤 季夫 (國學院大学・文学部)	32 本多 久夫 (兵庫大学・健康科学部)
33 古賀 由香里 (熊本県立大学・環境共生学部)	34 幸田 龍紀 (広島大学・大学院医歯薬学総合研究科)
35 鈴木 智晴 (広島大学・大学院医歯薬学総合研究科)	36 藤本 成明 (広島大学・原爆放射線医学研究所)
37 高瀬 稔 (広島大学・大学院理学研究科)	38 前川 哲弥 (岡山大学・大学院自然科学研究科)
39 村上 要介 (岡山大学・大学院自然科学研究科)	40 高橋 純夫 (岡山大学・理学部)
41 鍛冶 晴奈 (京都大学・大学院地球環境学堂)	42 周 佩欣 (京都大学・大学院地球環境学堂)
43 三崎健太郎 (京都大学・大学院工学研究科)	44 松田 知成 (京都大学・大学院地球環境学堂)
45 松原 創 (帝京科学大学・理工学部)	46 平井 俊朗 (帝京科学大学・理工学部)
47 小倉 裕次 (東京工業大学・大学院生命理工学研究科)	47 和田 忠士 (東京工業大学・大学院生命理工学研究科)
49 竹澤慎一郎 (東京大学・分子細胞生物学研究所)	50 松田 学 (東京大学・大学院理学系研究科)
51 藤田 雅代 (東京大学・付属病院)	52 池田 和博 (埼玉医科大学・ゲノム医学研究センター)
53 原 彰彦 (北海道大学・大学院水産科学研究科)	54 牧内 貴志 (順天堂大学・大学院医学研究科)
55 案浦 健 (順天堂大学・大学院医学研究科)	56 鈴木 鐵也 (北海道大学・大学院水産科学研究科)
57 古澤 力 (大阪大学・大学院情報科学研究科)	58 荒木 俊雄 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)
59 唐澤 智司 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)	60 鈴木 浩文 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)
61 宮内 崇行 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)	62 水野 秀昭 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)
63 宮脇 敦史 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)	64 永井 健治 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)
65 齊藤 育 (広島大学・大学院医歯薬学総合研究科)	66 浅島 誠 (東京大学・大学院総合文化研究科)
67 足立 伸次 (北海道大学・大学院水産科学研究科)	68 石川 孝博 (島根大学・生物資源科学部)
69 洲崎 敏伸 (神戸大学・理学部)	70 南森 隆司 (神戸大学・農学部)
71 中澤 昌美 (大阪府立大学・農学部)	72 中野 長久 (大阪府立大学・農学部)
73 長船 哲齊 (日本体育大学・体育学部)	74 奈良 武司 (順天堂大学・医学部)
75 石島 純夫 (東京工業大学・大学院生物理工学研究科)	76 近藤 忠雄 (名古屋大学・大学院生命農学研究科)
77 吉田 久美 (名古屋大学・大学院情報科学研究科)	78 佐藤 公行 (岡山大学)
79 今関 英雅 (名古屋大学)	80 中村 宗一 (琉球大学・理学部)
81 山宮 公子 (愛媛大学・医学部)	82 村上富士夫 (大阪大学・大学院生命機能研究科)
83 日高 聡 (藤田保健衛生大学・医学部)	84 石浦 正寛 (名古屋大学・遺伝子実験施設)
85 井上 慎子 (名古屋大学・生物機能開発利用研究センター)	86 小島 久 (名古屋大学・アイソトープ総合センター)
87 金森 章 (名古屋大学・大学院理学研究科)	88 大川 敏生 (名古屋大学・大学院生命農学研究科)
89 中村 研三 (名古屋大学・農学部)	90 筒井 泉雄 (一橋大学・大学院商学研究科)
91 黒岩 常祥 (立教大学・理学部)	92 上野 洋子 (東京大学・医科学研究科)
93 宮本 恭恵 ((独)産業技術総合研究所)	94 小泉 修 (福岡女子大学・人間環境学部)
95 古屋 秀隆 (大阪大学・大学院理学研究科)	96 片倉 晴雄 (北海道大学・大学院理学研究科)
97 芋川 浩 (理化学研究所・発生・再生科学総合研究センター)	98 楠見 明弘 (名古屋大学・大学院理学研究科)
99 安部 眞一 (熊本大学・大学院自然科学研究科)	100 長尾 一生 (北海道大学・電子科学研究所)
101 金城 政孝 (北海道大学・電子科学研究所)	102 布施 直之 ((独)理化学研究所・発生再生科学研究センター)
103 高松 敦子 (東京大学・生産技術研究所)	104 柴田 達夫 (広島大学・大学院理学研究科)
105 上田 泰己 ((独)理化学研究所・発生再生科学総合研究センター)	106 梅田 民樹 (神戸大学・海事科学部)
107 立川 正志 (名古屋大学・大学院理学研究科)	108 岩崎 秀雄 (名古屋大学・大学院理学研究科)
109 小林 徹也 (東京大学・大学院新領域創成科学研究科)	110 町田 泰則 (名古屋大学・大学院理学研究科)
111 黒澤 良和 (藤田保健衛生大学・総合医科学研究科)	112 山田 博万 (筑波大学・生物科学系)

113 中岡 貴義 (東京大学・大学院理学系研究科)	114 藤井 由紀子 (東京大学・大学院理学系研究科)
115 竹内 秀明 (東京大学・大学院理学系研究科)	116 岡本 仁 ((独)理化学研究所・脳科学総合研究センター)
117 貝淵 弘三 (名古屋大学・大学院医学研究科)	118 島田 尚 (東京大学・分子細胞生物学研究所)
119 大橋 一正 (東北大学・大学院生命科学研究科)	120 加藤 薫 ((独)産業技術総合研究所)
121 新美 輝幸 (名古屋大学・大学院生命農学研究科)	122 榎本 哲郎 (横浜市立大学・大学院総合理学研究科)
123 大内 淑代 (徳島大学・工学部)	124 福原 茂朋 (国立循環器病センター研究所)
125 望月 直樹 (国立循環器病センター研究所)	126 平岡 泰 ((独)通信総合研究所)
127 原口 徳子 ((独)通信総合研究所)	128 竹林・鈴木 公子 (広島大学・大学院理学研究科)
129 鈴木 厚 (広島大学・大学院理学研究科)	130 足立 直子 (神戸大学・大学院自然科学研究科)
131 斎藤 尚亮 (神戸大学・バイオシグナル研究センター)	132 上田 昌宏 (大阪大学・大学院生命機能研究科)
133 碓井 理夫 (京都大学・ウイルス研究所)	134 酒巻 和弘 (京都大学・大学院生命科学研究科)
135 村木 倫子 (東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科)	136 木村 宏 (京都大学・大学院医学研究科)
137 後藤 正憲 (新潟大学・大学院自然科学研究科)	138 前田 昌人 (横浜市立大学・大学院総合理学研究科)
139 片桐 岳信 (昭和大学・歯学部)	140 谷 知己 ((財)東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所)
141 大河原美静 (東京医科歯科大学・難治疾患研究所)	142 澁谷 浩司 (東京医科歯科大学・難治疾患研究所)
143 多羽田哲也 (東京大学・分子細胞生物学研究所)	144 渡部 徹郎 (東京大学・大学院医学系研究科)
145 岡田 康志 (東京大学・大学院医学系研究科)	146 宮園 浩平 (東京大学・大学院医学系研究科)
147 高橋 将文 (東北大学・大学院医学系研究科)	148 郡司 絵美 (東北大学・大学院生命科学研究科)
149 太田 裕作 (東北大学・大学院生命科学研究科)	150 西田 満 (東北大学・大学院生命科学研究科)
151 Cintia Carla Niva ((独)農業生物資源研究所)	152 洲崎 悦生 (九州大学・大学院医学系研究科)
153 植木 龍也 (広島大学・大学院理学研究科)	154 林 誠 (大阪大学・大学院工学研究科)
155 木下 充代 (横浜市立大学・理学部)	156 千田 大 (東京大学・医科学研究科)
157 渡辺 智美 (東京大学・大学院薬学系研究科)	158 並木 俊樹 (東京大学・大学院新領域創成科学研究科)
159 丹羽 隆介 (東京大学・大学院新領域創成科学研究科)	160 三浦 徹 (東京大学・大学院総合文化研究科)
161 伊東 靖子 (東京大学・大学院農学生命科学研究科)	162 上川内あづさ (東京大学・分子細胞生物学研究所)
163 武井 ゆき (東京大学・大学院理学系研究科)	164 錦織 健児 (東京大学・大学院理学系研究科)
165 林 悠 (東京大学・大学院理学系研究科)	166 先崎 直子 (東京大学・大学院理学系研究科)
167 佐藤 剛 (東京大学・大学院理学系研究科)	168 古市 尚高 (新潟大学・農学部)
169 伊藤 孝徳 (岩手大学・農学部)	170 長谷 あきら (京都大学・大学院理学研究科)
171 松浦 啓介 (福井県立大学・大学院生物資源学研究科)	172 岸本 直己 ((独)農業生物資源研究所)
173 高木 博史 (福井県立大学・生物資源学部)	174 大島 靖美 (九州大学・理学部)
175 倉谷 滋 ((独)理化学研究所・発生再生科学研究センター)	176 鐘ヶ江 健 (東京都立大学・大学院理学研究科)
177 関戸 良平 (MRC National Institute for Medical Research)	178 鈴木 啓史 (University of California)
179 Lee Hui Kwan,Rebecca (The University of Hong Kong)	180 飯野 盛利 (大阪市立大学・大学院理学研究科)
181 徳富 哲 (大阪府立大学・先端科学研究科)	182 島崎研一郎 (九州大学・大学院理学研究科)
183 舒 徳干 (蒲郡情報ネットワークセンター・生命の海科学館)	184 西田 篤弘 ((独)宇宙航空研究開発機構)
185 田中 実 (北海道大学・大学院理学研究科)	186 白髭 克彦 ((独)理化学研究所・ゲノム科学総合研究センター)
187 小原 朋子 (パーバードメディカルスクール)	188 澤田 均 (名古屋大学・大学院理学研究科)
189 内田 直滋 (コールドスプリングハーバー研究所)	190 松田 孝彦 (Harvard Medical School)
191 巖佐 庸 (九州大学・大学院理学研究科)	192 柳瀬 敏彦 (九州大学・医学部)
193 筒井 和義 (広島大学・総合科学部)	194 原口 竜摩 (熊本大学・発生医学研究センター)
195 緒方 勤 (国立成育医療センター研究所)	196 向井 徳男 (旭川医科大学・医学部)
197 佐久間康夫 (日本医科大学・医学部)	198 小林 一也 (慶応義塾大学・理工学部)
199 松本 緑 (慶応義塾大学・理工学部)	200 武山 健一 (東京大学・分子細胞生物学研究所)
201 金井 克晃 (東京大学・農学部)	202 菊水 健史 (東京大学・大学院農学生命科学研究科)
203 森 裕司 (東京大学・大学院農学研究科)	204 藤枝 憲二 (旭川医科大学・医学部)
205 Ahn Ryun-Sup (Chonnam University)	206 清木 誠 (科学技術振興事業団・創造科学推進事業)
207 笹岡 俊邦 (国立精神・神経センター・神経研究所)	208 仁田坂英二 (九州大学・大学院理学研究科)
209 高橋 卓 (北海道大学・大学院理学研究科)	210 前川 利男 ((独)理化学研究所筑波研究所・分子遺伝学研究室)
211 後藤 弘爾 (岡山県立生物科学総合研究所・遺伝子制御解析研究室)	212 Robert F.Whittier (アマシャムバイオサイエンス(株)・研究開発室)
213 菊池 章 (広島大学・大学院医歯薬学総合研究科)	214 山口 真二 (ノースウエスト大学)

■ 岡崎情報図書館



主な機能

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

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

図書館建物



図書館内部

■ 岡崎コンファレンスセンター



岡崎コンファレンスセンター

学術の国際的及び国内的交流を図り、機構の研究、教育の進展に資するとともに、社会との連携、交流に寄与することを目的に平成9年2月に竣工した。

大会議室 250名収容, 中会議室 150名収容, 小会議室 (2室) 各 50名収容。



大会議室

■ 岡崎共同利用研究者宿泊施設

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



三島ロッジ



山手ロッジ

■ 現員

(平成 16 年 4 月 1 日現在)

	所長	教授 (客員)	助教授 (客員)	助手	さきがけ 研究員	博士研究員 (うち外国人)	大学院生	特別協力研究員 (うち外国人)	特別共同利用 研究員	技術職員
合計	1	11 (4)	10 (3)	30	2	81 (18)	43	47 (6)	18	27

■ 予算

(平成 15 年度決算額)

区 分	計 (千円)	人件費 (千円)	物件費 (千円)	施設整備費 (千円)
一般会計	0	0	0	0
国立学校特別会計	1,495,919	661,474	834,445	0
計	1,495,919	661,474	834,445	0

■ 配置図



施設	面積(m ²)	施設	面積(m ²)
⑧ 山手 1 号館 A (動物実験センターの一部, アイソトープ実験センターの一部)	4,674	⑪ 山手 3 号館 (基礎生物学研究所の一部, 生理学研究所の一部, 分子科学研究所の一部, 統合バイオサイエンスセンターの一部)	10,757
⑨ 山手 1 号館 B (形質転換生物研究施設)	2,303	⑫ 山手 4 号館 (分子スケールナノサイエンスセンター)	3,813
⑩ 山手 2 号館 (統合バイオサイエンスセンターの一部, 計算科学研究センターの一部, 生理学研究所の一部)	8,453	⑬ 山手 5 号館 (核磁気共鳴装置による実験施設)	664

岡崎統合事務センター長		鈴木 洪 一
総務部	(兼務) 部長	鈴木 洪 一
総務課	課長	田境 守康
	課長補佐	松永 和雄
	専門員	神谷 利昌
	専門職員	杉浦 鈴代
	総務係長	桑原 博明
	情報処理係長	服部 康史
	図書館係長	古田 克敏
	総務分子研係長	山本 寛幸
	総務基生研係長	小林 高士
	総務生理研係長	遠藤 典子
国際研究協力課	課長	榑野 友栄
	専門員	杉江 修
	専門職員	伊藤 伸二
	専門職員	村木 教悦
	研究協力係長	廣岡 義彦
	共同利用係長	行田 豊
	共同研究係長	神谷 良志夫
財務部	部長	原 口 正 明
財務課	課長	尾越 和博
	課長補佐	白井 啓夫
	総務係長	稲垣 道雄
	財務第一係長	二村 浩臣
	財務第二係長	加藤 厚
	財務第三係長	古橋 悟志
	資産管理係長	佐々部 真誠
	出納係長	浅井
調達課	課長	窪川 友行
	専門員	藤本 和夫
	調達第一係長	浦野 實
	調達第二係長	古川 一広
	調達第三係長	高藤 八朗
施設課	課長	藤本 恵夫
	専門員	茨谷 省一
	施設係長	
	管理係長	地中 剛
	電気係長	井川 正幸
	機械係長	浅野 一夫

平成16年4月1日現在

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構

基礎生物学研究所要覧 平成16年度

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

TEL 0564-55-7000 FAX 0564-53-7400



本紙に古紙配合率100%
再生紙を使用しています。