

# 国立遺伝学研究所年報

---

第 44 号

---

(平成 5 年)

大学共同利用機関

国立遺伝学研究所

# 目 次

I. 卷 頭 言	1
II. 研究室 一 覧	3
III. 研 究 課 題	5
IV. 研 究 の 概 要	9
A. 分子遺伝研究系	9
A-a. 分子遺伝研究部門	9
A-b. 変異遺伝研究部門	20
A-c. 核酸化学研究部門	25
B. 細胞遺伝研究系	27
B-a. 細胞遺伝研究部門	27
B-b. 微生物遺伝研究部門	37
B-c. 細胞質遺伝研究部門	43
C. 個体遺伝研究系	45
C-a. 発生遺伝研究部門	45
C-b. 形質遺伝研究部門	47
C-c. 生理遺伝研究部門	55
D. 集団遺伝研究系	55
D-a. 集団遺伝研究部門	55
D-b. 進化遺伝研究部門	57
D-c. 理論遺伝研究部門	62
E. 総合遺伝研究系	63
E-a. 人類遺伝研究部門	63
E-b. 育種遺伝研究部門	73
E-c. 応用遺伝研究部門	80
F. 遺伝実験生物保存研究センター	81
F-a. 哺乳動物保存研究室	81
F-b. 無脊椎動物保存研究室	82
F-c. 植物保存研究室	85
F-d. 微生物保存研究室	85
F-e. 遺伝資源研究室	88
F-f. 発生工学研究室	88
G. 遺伝情報研究センター	90
G-a. 構造研究室	90
G-b. 組換え研究室	92
G-c. 合成研究室	95
G-d. 遺伝情報分析研究室	97
G-e. 遺伝子ライブラリー研究室	101
H. 放射線・アイソトープセンター	105
I. 実験 圃 場	106
V. 研 究 活 動	107
A. 研究業績	107
B. 発表講演	124
C. その他の研究活動	146
VI. 共同研究事業	151
VII. 研究材料・研究情報の収集と保存	157
VIII. 行 事	181
IX. 庶 務	183
A. 沿 革	183
B. 組織（機構と職員）	183
C. 土地及び建物	206
D. 予 算	207
E. 奨学寄附金・受託研究費	208
F. 日 誌	209
G. 諸 会	212
H. 栄 誉	214
I. 図書及び出版	215
付: 財団法人遺伝学普及会	215

# 国立遺伝学研究所年報

第44号 平成5年



国立遺伝学研究所

1994

# I. 巻 頭 言

## 生物学推進のための政策と遺伝研の対応

生物学研究者は研究費の多くを政府の補助金に依存している。平成六年度の文部省科学研究費補助金は824億円で、これは、科学の全分野にわたる補助金で、これとは別に加速器科学、宇宙科学、核融合研究、天文学研究等には重点的な配付がある。全体のなかで生物学への補助は一部にすぎない。一方、米国では国立衛生研究所(NIH)の基礎医学生物学研究の予算だけでも1兆2000億円(1ドル=100円として)となる。研究費の単純比較に問題があるとしても、米国の生物学分野の重視は明らかである。この分野には、さらに国立科学財団(NSF)からの政府補助金のほか、民間からの多額な補助金がある。とくに、6000億円の基金をもつハワード ヒューズ医学研究所(HHMI、実質的に財団)は1985年以来、生物学研究への多額の補助を開始し、この分野の進歩に決定的ともいえる大きなインパクトを与えている。ここで重要なことは、これら基金が研究課題の重要性と研究者の能力の評価に基づいて、科学政策的に重点配分されることである。NIHもHHMIも細胞生物学、遺伝学、免疫学、脳神経科学、構造生物学に重点をおくと報じている。

この選択的な支援により、これらの分野は急速に進展しつつある。このようにして、次世代の学問の趨勢がつくられる。ある分野が急速に進展する場合に、我が国の研究体制では、発展に対応できず、世界の進歩に遅れをもたらすことは、しばしば見られたことである。じじつ、これらの急速に進みつつある生物学分野への有効な補助金は米国の額に比べて極めて僅かで、構造生物学分野では、恐らく1-2%程度と思われる。知的活動の夢をはらみ、現実的な利用を期待できる生物科学に対する我が国の対応が、極めて憂慮すべき状態にあることは明瞭であって、単に、生物学の分野内での配分の変更で対応できる問題をはるかに越えている。

この憂慮すべき状態は単に研究費の増加だけでは解決できない。より大きい問題は、十分な資質をもった研究者の数であって、我が国の生物学の推進のためにはポストドクを含む研究者数の増加と、それに応じた施設の早急な充実が極めて重要である。米国にくらべ十分の一程度と思われる研究者数の影響を早急に逃れることはできないとしても、基礎生物学の分野に対する適切な評価に基

づく対応が、大きな効果をもたらすことは疑う余地がない。

当研究所はこのような見地に立って、構造生物学と情報生物学の研究センターの分離新設を計画し、系統生物の研究の一層の活性化をはかるとともに、遺伝学を中心とした細胞や個体の生物学の推進に努めている。

本年度は、遺伝実験生物保存研究センターに発生工学研究室の新設が認められ、これにより、中辻憲夫教授および白吉安昭助手が、同センター哺乳動物保存研究室より発生工学研究室へ配置換えとなった。後任として、細胞遺伝研究室助手の城石俊彦助手が配属されると同時に助教授に昇任した。また、あらたに集団遺伝研究室に高野敏行、変異遺伝研究室に岸 努、微生物保存研究室に金丸研吾の3名の助手が加わり、今後の活躍が期待される。一方、遺伝情報研究センターの鶴川義弘助手は農業生物資源研究所（農林省）の科長として、また実験圃場の中村郁郎助手は岩手生物工学研究センター（財団法人）の主任研究員として転任した。

富 澤 純 一

## II. 研究室一覽

(平成5年12月31日現在)

研究系等	研究部門名	教授	助教授	助手
分子遺伝研究系 研究主幹(併) 石 浜 明	分子遺伝研究部門	石 浜 明		藤山 豊 田岸 田 信正 哲 之裕 也
	変異遺伝研究部門	瀬野 悍二	山尾 文明	金岸 田 澄 子 努
	核酸化学客員研究部門	水本 清久(非)	北上 始(非)	
細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 森 脇 和 郎	細胞遺伝研究部門	森 脇 和 郎	今井 弘民	後藤 英夫
	微生物遺伝研究部門	堀内 賢介	安田 成一	原東 谷 弘篤 志 志
	細胞質遺伝客員研究部門		安田 秀世 米川 博通(非)	
個体遺伝研究系 研究主幹(併) 杉 山 勉	発生遺伝研究部門	杉 山 勉	藤澤 敏孝	清服 水田 昌 裕之
	形質遺伝研究部門	廣瀬 進	村上 昭雄	湊山 田 正 清明
	生理遺伝客員研究部門	半田 宏 小泉 修(非)		
集団遺伝研究系 研究主幹(併) 原 田 朋 子	集団遺伝研究部門	原 田 朋 子 (太田)	田嶋 文生	高野 敏行
	進化遺伝研究部門	池村 淑道	斎藤 成也	森松 山本 悦 健 子 一
	理論遺伝客員研究部門	高畑 尚之	舘田 英典	

第 一 部

研究系等		研究部門名	教授	助教授	助手	
総合遺伝研究系 研究主幹(併) 今村 孝		人類遺伝研究部門	今村 孝	齋藤 来 聰 藤山 秋佐夫	中島 衡	
		育種遺伝研究部門	沖野 啓子 (森島)	佐野 芳雄	平岡 洋一郎 (佐藤) 博之 平野 博之	
		応用遺伝客員研究部門	渡邊 武 米澤 勝衛(非)			
研 究 施 設	遺伝実験生物保存研究センター センター長(併) 沖野 啓子	研 究 室	哺乳動物保存		城石 俊彦	宮下 信泉
			無脊椎動物保存			上田 均
			植物保存		佐野 芳雄(併)	
			微生物保存		西村 昭子	金丸 研吾
			遺伝資源		舘野 義男	
			発生工学	中辻 憲夫		白吉安 昭
	遺伝情報研究センター センター長(併) 瀬野 惇二	研 究 室	構造		嶋本 伸雄	永井 宏樹
			組換え	桂 勲		石原 健
			合成			林 茂生
			遺伝情報分析	五條堀 孝		池尾 一穂
			遺伝子ライブラリー		小原 雄治	安達 佳樹
	放射線・アイソトープセンター センター長(併) 定家 義人				定家 義人	
実験圃場 圃場長(併) 佐野 芳雄						

### III. 研究課題

課 題	担 当 者
<b>分子遺伝研究系</b>	
<b>分子遺伝研究部門</b>	
1. 原核生物の転写制御機構の研究	石浜・藤田
2. 真核生物の転写装置の研究	石浜・山岸
3. ウィルスの転写・複製機構の研究	石浜・豊田
<b>変異遺伝研究部門</b>	
1. ヒト・チミジル酸合成酵素遺伝子の細胞周期に依存した発現制御機構の解析	金田・瀬野
2. チミン飢餓ストレスによる染色体不安定化の機構	山尾・瀬野
3. ユビキチン活性化酵素と細胞周期の制御	山尾・金田・岸・瀬野
<b>核酸化学研究部門</b>	
1. RNA キャップ形成機構の研究	水本・山岸
2. ウイルス RNA 転写機構の研究	水本・石浜
3. 大量遺伝情報に関する研究	北上
<b>細胞遺伝研究系</b>	
<b>細胞遺伝研究部門</b>	
1. マウス亜種の遺伝的分化と地理的分布の研究 (哺乳動物保存研と共同)	森脇・城石・宮下・米川
2. 遺伝的組換えの分子機構の研究	城石・森脇
3. マウス MHC の構造と機能の研究	城石・後藤・森脇
4. 発がんの遺伝機構の研究 (哺乳動物保存研と共同)	宮下・森脇
5. マウスゲノム解析研究 (哺乳動物保存研と共同)	城石・宮下・森脇
6. 染色体進化の細胞遺伝学的研究	今井
7. 実験用マウス系統の育成, 維持, 供給と特性研究 (哺乳動物保存研と共同)	宮下・城石・後藤・森脇
8. 野生マウスの収集, 特性研究と系統育成 (哺乳動物保存研と共同)	森脇・宮下・城石・後藤
<b>微生物遺伝研究部門</b>	
1. 大腸菌及びそのファージの DNA 複製機構に関する研究	堀内・安田・東谷
2. 蛋白質リン酸化による制御機構に関する研究	東谷・安田・堀内
3. 大腸菌の細胞分裂機構に関する研究	原・東谷・堀内
<b>細胞質遺伝研究部門</b>	
1. 細菌の細胞質因子の遺伝子作用	大坪

- |                                              |             |
|----------------------------------------------|-------------|
| 2. マウスミトコンドリア遺伝子変異の研究 (細胞遺伝研究部門及び哺乳動物保存研と共同) | 米川・城石・後藤・森脇 |
| 3. 哺乳類細胞の増殖制御遺伝子の研究                          | 安田          |

### 個体遺伝研究系

#### 発生遺伝研究部門

- |                           |             |
|---------------------------|-------------|
| 1. ヒドラの形態形成機構および細胞分化機構の研究 | 杉山・藤沢・清水・服田 |
|---------------------------|-------------|

#### 形質遺伝研究部門

- |                                 |       |
|---------------------------------|-------|
| 1. DNA の高次構造と真核生物の遺伝子発現調節       | 広瀬・林  |
| 2. 転写因子 FTZ-F1 の研究              | 上田・広瀬 |
| 3. 昆虫の生活史関連形質—成長・老化—についての遺伝学的研究 | 村上    |
| 4. カイコにおける神経系の関与する遺伝子発現機構の研究    | 村上    |
| 5. ショウジョウバエの母性効果による胚致死作用の遺伝学的研究 | 山田    |
| 6. ショウジョウバエの発生・分化機構の研究          | 湊     |
| 7. エリ蚕の成長, 変態の生理遺伝的研究           | 湊     |

#### 生理遺伝研究部門

- |                  |       |
|------------------|-------|
| 1. ヒドラ散在神経系の形成機構 | 小泉・杉山 |
|------------------|-------|

### 集団遺伝研究系

#### 集団遺伝研究部門

- |                        |           |
|------------------------|-----------|
| 1. 集団遺伝学の理論的研究         | 原田(太田)・田嶋 |
| 2. 分子進化の集団遺伝学的研究       | 原田(太田)    |
| 3. 遺伝子系図学              | 田嶋        |
| 4. ショウジョウバエの実験集団遺伝学的研究 | 高野        |
| 5. 分子系統学               | 館野・田嶋     |

#### 進化遺伝研究部門

- |                                  |       |
|----------------------------------|-------|
| 1. 高等脊椎動物染色体DNAのG+C含量巨大モザイク構造の研究 | 池村・松本 |
| 2. 遺伝子コドン選択パターンの研究               | 池村    |
| 3. MHC 領域に存在する新しい遺伝子の探索          | 松本・池村 |
| 4. ABO 血液型遺伝子の進化                 | 斎藤    |
| 5. 人類集団の遺伝的近縁関係                  | 斎藤    |

#### 理論遺伝研究部門

- |                  |    |
|------------------|----|
| 1. 理論集団生物学       | 高畑 |
| 2. 理論免疫学         | 高畑 |
| 3. 分子集団遺伝学の理論的研究 | 館田 |

総合遺伝研究系

人類遺伝研究部門

- |                                       |       |
|---------------------------------------|-------|
| 1. ヒト 18 番目染色体の遺伝子連鎖地図の解析             | 今村・中島 |
| 2. 家族性アルツハイマー病候補遺伝子領域の遺伝的多型の解析        | 今村・中島 |
| 3. 摂食行動の異常と肥満に関する遺伝学的解析               | 今村    |
| 4. ミトコンドリア DNA からみたヒトおよび霊長類の進化と系統     | 賣来    |
| 5. ミトコンドリア病における病因解析                   | 賣来    |
| 6. 癌関連遺伝子, 蛋白質の構造と機能に関する研究            | 藤山    |
| 7. 細胞内情報伝達に關与する GTP 結合蛋白質の構造と機能に関する研究 | 藤山    |
| 8. 染色体ソーティングに基づくゲノム解析                 | 藤山    |
| 9. ヒトゲノムデータベースの構築に関する研究               | 藤山    |

育種遺伝研究部門

- |                          |          |
|--------------------------|----------|
| 1. 野生および栽培イネの進化と適応に関する研究 | 森島・佐野・佐藤 |
| 2. 植物の形質発現に関する研究         | 佐野・平野    |
| 3. 植物の遺伝子発現調節に関する研究      | 平野・佐野    |
| 4. 生物考古学的方法の確立に関する研究     | 佐藤       |

応用遺伝研究部門

- |                           |    |
|---------------------------|----|
| 1. ヒト免疫グロブリン遺伝子の発現調節機構の解析 | 渡辺 |
| 2. 植物集団における遺伝変異の保全        | 米澤 |

遺伝実験生物保存研究センター

哺乳動物保存研究室

- |                                           |             |
|-------------------------------------------|-------------|
| 1. マウス亜種の遺伝的分化と地理的分布の研究 (細胞遺伝研究部門と共同)     | 森脇・城石・宮下・米川 |
| 2. 発がんの遺伝機構の研究 (細胞遺伝研究部門と共同)              | 宮下・森脇       |
| 3. マウスゲノム解析研究 (細胞遺伝研究部門と共同)               | 城石・宮下・森脇    |
| 4. 実験用マウス系統の育成, 維持, 供給と特性研究 (細胞遺伝研究部門と共同) | 宮下・城石・後藤・森脇 |
| 5. 野生マウスの収集, 特性研究と系統育成 (細胞遺伝研究部門と共同)      | 森脇・宮下・城石・後藤 |

無脊椎動物保存研究室

- |                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 1. ショウジョウバエおよびカイコの転写因子(FTZ-F1)の研究 | 上田 |
|-----------------------------------|----|

微生物保存研究室

- |                   |       |
|-------------------|-------|
| 1. 大腸菌の細胞分裂の時間的制御 | 西村    |
| 2. 大腸菌の細胞分裂装置の構築  | 金丸・西村 |

<b>遺伝資源研究室</b>	
1. 分子系統の研究	館野
<b>発生工学研究室</b>	
1. マウス着床後胚における形態形成と細胞分化の研究	中辻・白吉
2. 哺乳類初期胚細胞株を使った発生工学的研究	中辻・白吉
3. マウス胚の細胞分化に関する分子遺伝学的研究	白吉・中辻
<b>遺伝情報研究センター</b>	
<b>構造研究室</b>	
1. 固定化オペロンによる大腸菌とバクテリオファージの RNA ポリメラーゼの転写開始機構の研究	嶋本
2. 固定化オペロンによる DNA 結合タンパク質の 1 分子ダイナミクス	嶋本
3. 大腸菌一本鎖 DNA 結合蛋白質 (SSB) の構造と機能	永井・嶋本
<b>組換え研究室</b>	
1. 線虫 <i>C. elegans</i> の発生・シグナル伝達関連変異株の解析	桂・石原
2. 線虫 <i>C. elegans</i> の頭部神経系の遺伝学的解析	石原・桂
<b>合成研究室</b>	
1. ショウジョウバエの形態形成の研究	林
<b>遺伝情報分析研究室</b>	
1. 病原性ウイルスの分子進化	五條堀・森山
2. モザイク・タンパク質の進化	池尾・五條堀
3. DNA データベースを用いた遺伝情報解析	五條堀・池尾・鶴川
<b>遺伝子ライブラリー研究室</b>	
1. 線虫 <i>C. elegans</i> の遺伝子発現ネットワークの研究	小原・安達
<b>大量遺伝情報研究室 (寄付部門)</b>	
1. 大量遺伝情報に関する研究	北上・山崎
<b>放射線・アイソトープセンター</b>	
1. 枯草菌の孢子形成に関する研究	定家
2. ネマトーダ生殖細胞における DNA 修復の研究	定家
<b>実験園場</b>	
1. イネの節間伸長高進性突然変異体の解析	中村
2. イネ近縁野生種の系統進化に関する研究	中村・佐藤

## IV. 研究の概要

### A. 分子遺伝研究系

#### A-a. 分子遺伝研究部門

分子遺伝研究部門では、教授・石浜 明を中心に、助手・藤田信之、山岸正裕、豊田哲也と、総合研究大学院大学学生（浜松千賀、東 慶直、安田二朗、木村 誠、草野秀一、根岸智史）、特別研究学生（東京大学大学院理学系研究科・川岸万紀子、鳥取大学連合大学院農学研究科・鄒 潮）、研究生（寺社下美樹）、外国人研究員（武漢病毒研究所・丁清泉、エジンバラ大学・Kumar, A., キルギス科学院遺伝子工学研究所・Adyshev, D., インド細胞分子生物学センター・Chatterji, D., ノッティンガム大学・Margaron, S., ウプサラ大学・Mikkola, R.）、受託研究員（創業技術研究所・浅野幸康）、研究補助員（技能補佐員・遠藤静子、金谷葉子、鈴木久子、高橋美津恵、渡辺たつの）及び事務秘書（技官・原 雅子）が協力して、引続き、「原核生物における転写制御機構の研究」、「真核生物の転写装置の研究」、「ウイルスの転写・複製装置の研究」の3本柱の研究を進めてきた。

平成5年度の研究については、文部省科学研究費補助金・重点領域研究「RNA レプリコン」（代表者・野本明男）、「細胞複製制御」(1) “細胞複製制御の遺伝子発現”（代表者・花岡文雄）、重点領域研究「熱ショック応答」(1) “熱ショック応答の分子機構”（代表者・矢原一郎）、一般研究(B)「RNA ポリメラーゼの分子解剖」（代表者・石浜 明）、国立遺伝学研究所特定研究「染色体構築」（代表者・瀬野悍二）、総合研究大学院大学グループ研究「転写装置における蛋白間コミュニケーション」（代表者・石浜 明）、共同研究「細胞内情報伝達機構」（代表者・月田承一郎）の支援を得た。

本研究共同研究として所外から次の6件の共同研究を受け入れ実施した。「定常期大腸菌 RNA ポリメラーゼの主要シグマ因子  $\sigma^{38}$  (*rpoS* 遺伝子産物) の研究」（東大・分生研・田中 寛）、「単純ヘルペスウイルス I 型を用いたウイルスベクターの開発」（徳島大・医・小山 一）、「ウイルス感染に伴う宿主細胞分子の修飾機構」（東工大・生命理工・永田恭介）、「大腸菌の増殖段階移行に伴う RNA ポリメラーゼとリボゾームの動態の研究」（京大・理・和田 明）、「ポリアミンによる大腸菌遺伝子発現調節」（千葉大・薬・五十嵐一衛）、「Q $\beta$  フェージ RNA 複製酵素宿主因子 (HF-1) の宿主細胞内機構の研究」（帝京大・理工・井口義夫）。

#### I. 原核生物の転写制御機構の研究

大腸菌の転写制御機構の研究はふたつの方向に明瞭に分化しはじめた。そのひとつは、RNA ポリメラーゼと転写因子の分子解剖と、その延長上ではじまった RNA ポリ

メラゼー転写因子間コミュニケーションの研究である。転写制御に関与する成分の実体的研究から、いよいよ転写制御の本質を理解する研究段階に突入した。もうひとつは、転写制御の全体論的研究である。細菌の染色体全体の遺伝子を対象とし、その転写順位の決定機構、その変動機構の解明を目指した研究である。この研究には、前提として個別遺伝子の転写制御の知識が不可欠であったが、大腸菌転写制御研究 35 年の歴史の蓄積と大腸菌ゲノム全体像の解析の進展に伴って、ようやくその準備が整ってきたともいえる。当研究室では、いち早く、その動向を認識し、国際的にも先導的な研究をつづけている。

(1) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニットのサブユニット集合に関与する領域の解析 (木村 誠・藤田信之・石浜 明): 大腸菌 RNA ポリメラーゼの各サブユニットが集合し、RNA 合成活性をもつコア酵素が形成されるためには、 $\alpha$  サブユニット 329 アミノ酸残基のうち、N 末端側 235 残基のみで十分であり、C 末端の領域は、転写因子との相互作用に関与することが証明 (Igarashi, K. and Ishihama, A. (1991) Cell, **65**, 1015-1022) されて以来、 $\alpha$  サブユニットの研究は C 末端の構造と機能の解析に集中されており、N 末端の解析は全く進めていかなかった。しかしながら、サブユニット分子間の相互作用で、各サブユニットの分担機能の発現が制御されていると推定される全体像を理解する上では、サブユニット集合に関与する領域、即ち、 $\beta\beta'$  サブユニットとの相互作用に関わる領域や、 $\alpha$  サブユニットの二量体形成に関わる領域を決定することが必須である。この目的のために、 $\alpha$  サブユニットをコードする *rpoA* 遺伝子に 10 または 20 アミノ酸残基の単位で連続的な欠失変異を導入した 20 種類以上の変異 *rpoA* 遺伝子を作製し、これらの遺伝子産物を大腸菌内で大量発現させ、そのコア酵素形成能を *in vitro* で解析した。N 末端からの欠失をもつ変異  $\alpha$  サブユニット群においては、N 末端より欠失がすすむにつれ、活性コア酵素再構成能は徐々に低下し、30 残基の欠失では極めて低い再構成能となり、40 残基以上の欠失変異によって、再構成能が完全に失われた。また、内部に欠失をもつ変異  $\alpha$  サブユニット群においては、どの変異体にも再構成能は認められなかった。さらに C 末端からの欠失を延長し、N 末側 200 または 220 残基のみよりなる変異  $\alpha$  サブユニットを作製したが、それらも再構成能をもたなかった。以上の結果から予想された最小の活性  $\alpha$  断片、即ち N 末端 21 位から 235 位までのアミノ酸残基よりなる変異  $\alpha$  サブユニットは、予想通り高い再構成能を示した。これらのことから、21 位から 235 位までの領域が、サブユニット集合のために必要十分であると結論される。

さらに、これらの変異  $\alpha$  サブユニットの二量体形成能をゲルろ過クロマトグラフィーによって解析したところ、活性コア酵素を再構成しないものは安定な二量体を形成しなかった。これは、欠失変異による立体構造の著しい破壊によると考えられる。N 末端を一部欠いた  $\alpha$  サブユニットを含む RNA ポリメラーゼは、転写因子依存性のプロモーターからの特異的転写活性をもっており、この領域は、転写因子との相互作用には必要ないといえる。

(2) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニットの構造ドメインの解析 (根岸智史・藤田

信之・京極好正\*・石浜 明): RNA ポリメラーゼの $\alpha$ サブユニットは、N末端領域(アミノ酸残基 21-235)でサブユニット集合に、C末端領域(アミノ酸残基 236-329)を介して、第一群の転写因子との相互作用を介した転写活性化にかかわっている(Ishihama, A. (1993) *J. Bacteriol.*, **175**, 2483-2489). そこで、われわれは $\alpha$ サブユニットのこのような機能地図に相関した構造ドメイン地図を作成することを目的として、以下の研究を行った。

$\alpha$ サブユニットのドメイン構成を明らかにするため、初めに、エンドプロテアーゼ(V8プロテアーゼ, トリプシン)による限定分解を行い、短時間の消化に対して比較的抵抗性を示す、いくつかの断片(ドメイン)を得ることができた。各断片のN末端およびC末端アミノ酸配列を同定し、 $\alpha$ サブユニットの一次配列と比較してエンドプロテアーゼによる切断点を決定した。その結果、アミノ酸残基 1-7, 46-67 および 236-241 にエンドプロテアーゼによって消化されやすい領域の存在することが分かった。したがって、 $\alpha$ サブユニットにはドメイン I (アミノ酸残基 8-45), ドメイン II (アミノ酸残基 68-235), ドメイン III (アミノ酸残基 242-329) の3つのドメインから構成されることが示唆された。また、断片 II (アミノ酸残基 68-235) は、トリプシンにより、さらに分子量  $1.1 \times 10^4$  の断片 II-1 (アミノ酸残基 46-142/149), 断片 II-2 (アミノ酸残基 143/150-235) に分解された。この断片 II-2 と N 末端側に位置するドメイン I はトリプシンによる切断・遊離後すみやかに消化されることが分かった。

C末端側のドメイン III に含まれる転写因子コンタクトサイト I は、各種転写因子と蛋白質-蛋白質間相互作用を行う複数のサブサイトを含むことが分かっている(Ishihama, A. (1993) *J. Bacteriol.*, **175**, 2483-2489). そこで、各サブサイトの静的・動的構造解析を行うことを目的として、アミノ酸残基 233-329 のC末端領域を大量発現、精製し $^1\text{H-NMR}$ による解析を行った。その結果、 $\alpha$ ヘリックス、 $\beta$ シートといった規則的な二次構造を有することが明らかになった。今後、 $^{15}\text{N}$  標識又は $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$  二重標識法を用いて、主鎖 $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$  および $^1\text{H}$  シグナルの連鎖帰属により、高次構造解析を進める予定である。

(3) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ $\alpha$ サブユニットのcAMP-CPR 応答単位の同定(鄒潮・藤田信之・石浜 明): 大腸菌転写因子は遺伝子転写活性化の過程で RNA ポリメラーゼ分子上の二ヶ所と相互作用をすることを、われわれは既に明らかにしてきた(Ishihama, A. (1993) *J. Bacteriol.*, **175**, 2483-2489). すなわち、クラス I 転写因子は RNA ポリメラーゼの $\alpha$ サブユニットのC端側にあるサイト I と(Igarashi, K. and Ishihama, A. (1991) *Cell*, **32**, 319-325), クラス II 転写因子は RNA ポリメラーゼの $\sigma$ サブユニットのC端側にあるサイト II と相互作用をする(Igarashi, K. *et al.* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 8958-8962; Kumar, A. *et al.* (1994) *J. Mol. Biol.*, **235**, 405-413). cAMP 受容体蛋白質(CRP)は、RNA ポリメラーゼの $\alpha$ (サイト I) と $\sigma$ (サイト II) のいずれとも相互作用できる特異な転写因子である。CRP が *lac* 遺伝子の転写を活性化する時には、サイト I

\* 大阪大学蛋白研究所

と相互作用する。先にわれわれは、 $\alpha$  サブユニット上の CRP 接触部位を詳細に同定した (Zou, C. *et al.* (1992) *Mol. Microbiol.*, **6**, 2599-2605)。ところが、RNA ポリメラーゼを構成する二分子の  $\alpha$  サブユニット中の一分子だけか、それとも二分子とも CRP と相互作用するかは、明かではなかった。

本研究でわれわれは、野生型の  $\alpha^{wt}$  と、CRP と接触できない C 端欠失  $\alpha^{235}$  を用いて、*in vitro* で再構成したハイブリッド RNA ポリメラーゼ ( $\alpha^{wt}\alpha^{235}\beta\beta'\sigma$ ) を利用して、*in vitro* 転写系で以上の問題を解明する試みをした。結果として、CRP に非依存性プロモーター *lacUV5* の転写については、野生型 ( $\alpha^{wt}\beta\beta'\sigma$ )、ハイブリット型 ( $\alpha^{wt}\alpha^{235}\beta\beta'\sigma$ ) と変異型 ( $\alpha^{235}\beta\beta'\sigma$ ) の RNA ポリメラーゼはすべてほぼ同じ転写活性を示したが、CRP 依存性プロモーター *lacP1* の転写については、ハイブリット型酵素は野生型の約半分の転写活性を示した (Zou, C. *et al.* (1994) *J. Mol. Biol.*, **236**, 1283-1288)。この結果から、再構成ハイブリット酵素の中には変異  $\alpha$  サブユニットの集合位置の異なる二種類が均等にあるとすれば、その一成分のみが活性をもつと結論した。従って、RNA ポリメラーゼは片方の  $\alpha$  サブユニットのみで CRP と相互作用すると推定された。

(4) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニットによる DNA エンハンサーの認識 (石浜明・Gourse, R.\*・Buc, H.\*\*・Oppenheim, A.\*\*\*)：RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニットは、クラス I 転写因子と蛋白-蛋白間の相互作用をし、その接触領域が C 端側約 80 アミノ酸残基内にクラスターを形成していることが明らかになってきた (Ishihama, A. (1993) *J. Bacteriol.*, **175**, 2483-2489)。C 端コンタクトサイト I 領域を欠く欠失変異  $\alpha$  から再構成した変異 RNA ポリメラーゼホロ酵素を用いると、プロモーター DNA の上流域が DNAase 消化から保護できないことが判り、 $\alpha$  がプロモーター上流域 DNA と相互作用をすることが示唆された (Kolb, A. *et al.* (1993) *Nucleic Acids Res.*, **21**, 319-326)。

大腸菌の rRNA や tRNA の遺伝子には、プロモーター上流域に、蛋白因子を必要としない、転写昂進シグナル UP (または原核生物エンハンサー) がある。UP による転写昂進は、DNA 超らせん構造形成でさらに上昇することから、DNA 構造の変化がプロモーター強度に影響するのではないかと考えられていた。 $\alpha$  の C 端欠失変異 RNA ポリメラーゼでは rDNA の UP で活性化されないことを発見した。その結果、UP の認識も  $\alpha$  が行っている可能性が示唆された (Ross, W. *et al.* (1993) *Science*, **262**, 1407-1413)。純化した  $\alpha$  サブユニット単独で UP 結合をみると、DNAase から保護されることが判明した。従って、 $\alpha$  はクラス I 転写因子のみならず、UP シグナルをも認識していると結論した。

(5) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\sigma$  サブユニットの機能-構造相関の解析 (Kumar, A.・寺社下美樹・Hayward, R.S.\*\*\*\*・石浜 明)：細菌 RNA ポリメラーゼの  $\sigma$  サブユニット群には、構造上 4 ケ所の保存領域がある。C 端の領域 4 がプロモーターの -35 配列を認

\* Univ. Wisconsin, Dept. Bacteriol., Madison

\*\* Pasteur Inst., Paris

\*\*\* Hebrew Univ., Dept. Mol. Genet., Jerusalem

\*\*\*\* Univ. Edinburgh, Inst. Cell Mol. Biol., Edinburgh

識し、また-10配列は領域2によって認識されることが、大腸菌変異体 $\sigma$ の解析から示唆されている。われわれは先に、C端側領域4を欠失した $\sigma$ サブユニット( $\sigma$ -del4)でも、強力な-10配列、例えばTGnTATAAT(拡張-10配列)があれば、弱いながらも転写開始ができることを実証した(Kumar, A. *et al.* (1994) *J. Mol. Biol.*, **232**, 406-418)。また、 $\sigma^{70}$ と $\sigma^{32}$ の領域2と4を交換したハイブリッド $\sigma$ は、 $\sigma^{70}$ 及び $\sigma^{32}$ で認識されるプロモーターの-35と-10を交換したキメラ・プロモーターをよく認識することからも、この二つの領域が独立にも作用できることがわかった(Kumar, A. *et al.* (1993) *J. Mol. Biol.*, **232**, 406-418)。今回、領域2を含む欠失 $\sigma$ ( $\sigma$ -del4)と、領域4を含む断片(領域4ペプチド)を混合し、その相互作用を調べた。その結果、両者は独立にも作用するが、共存下で相互の活性が増強されたので、蛋白-蛋白間相互作用が示唆された。

(6) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ $\sigma$ サブユニット置換機構の解明(草野秀一・藤田信之・石浜 明): 大腸菌 RNA ポリメラーゼの $\sigma$ サブユニットは、プロモーター識別に関与しているサブユニットであり、これまでに6種類の分子種が同定されている。大腸菌の刺激応答時や増殖相に依存する転写制御は、 $\sigma$ サブユニットが異なるホロ酵素分子種の量比が変化することによってなされていると考えられている。この $\sigma$ サブユニット置換による転写制御のメカニズムを明らかにするために、単独でコア酵素に結合すると考えられている対数増殖期の主要 $\sigma$ サブユニットである $\sigma^{70}$ 、休止定常期特異的 $\sigma$ サブユニットである $\sigma^{38}$ 、熱ショック応答に関わる遺伝子の転写に関わる $\sigma^{32}$ 、鞭毛蛋白質遺伝子の転写に関わる $\sigma^{28}$ の4種の $\sigma$ サブユニットを大量に調製し精製コア酵素との親和性について、*in vitro* 転写反応を行い検討した。その結果、 $\sigma^{38}$ のコア酵素に対する親和性は $\sigma^{70}$ に比べて著しく弱いかが明らかになった。現在、各 $\sigma$ サブユニットの置換能の差異及び置換反応に関わる因子についての検討を試みている。

(7) 大腸菌 RNA ポリメラーゼホロ酵素間の競合転写(丁 清泉・草野秀一・石浜 明): RNA ポリメラーゼ $\sigma^{38}$ サブユニットは、大腸菌が増殖を停止した休止定常期での転写に関係する、もうひとつの主要 $\sigma$ サブユニットであるらしい(Tanaka, K. *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 3511-3515)。対数増殖から休止期への移行期の転写の包括制御機構を解明するために、純化 $\sigma$ サブユニットから再構成した2種ホロ酵素( $E\sigma^{70}$ 、 $E\sigma^{38}$ )により転写される特異プロモーターを探索し、それらを用いてホロ酵素間の転写における競合を調べた。

$E\sigma^{38}$ でだけ転写されるプロモーターは比較的少なく、先に *fic* 遺伝子プロモーターを同定したが、今回 *katE* (カタラーゼ) 遺伝子プロモーターがより選択的に  $E\sigma^{38}$  で転写されることを発見した。 $E\sigma^{70}$  と  $E\sigma^{38}$  では、プロモーターに対する親和性が異なるので、プロモーターと RNA ポリメラーゼの量比で、両酵素で転写される割合が変動した。従って、生体内でも、 $\sigma^{70}$  と  $\sigma^{38}$  の量比の変動が、遺伝子内の転写順位の変動にもたらすことが推定された。その上に、反応系のイオン強度や、反応温度でも転写順位が変動したので、細胞内部環境の変動も、転写の包括制御に関係している可能性がある。

## II. 真核生物転写装置の研究

真核生物の転写制御の研究が、遺伝子クローニング、DNA シーケンシング、遺伝子改変技術の確立以来急速に発展し、発分化と関連して、多くの個別遺伝子の転写制御が分子の水準で解析されている。それらの研究のなかから、転写制御がさまざまな転写調節因子の増減や機能調節を通して行われている様相が明らかになってきたが、それら転写因子がどのような仕組みで RNA ポリメラーゼの作用を調節するかは、殆ど分かっていない。この段階に来て、転写の基幹装置 RNA ポリメラーゼの分子の実体が、殆ど分かっていないことが研究進展のネックとなってきた。そのためにわれわれは、RNA ポリメラーゼの実体解明の研究を開始したが、以下は研究の現況である。

真核生物の核内には 3 種類の RNA ポリメラーゼが存在する。中でも RNA ポリメラーゼ II は蛋白質をコードする全ての mRNA の合成に関与し、さまざまな転写因子群と幅広く相互作用していると考えられている。従って、RNA ポリメラーゼ II の構造と機能の解明は遺伝子発現の分子機構の理解には欠かすことができない。当研究室では分裂酵母を材料にして、これ迄に、RNA ポリメラーゼ II の RNA 合成活性に必須なコア構造を形成すると考えられる 3 つの大きなサブユニットの遺伝子の一次構造の決定、遺伝解析を行った。

(1) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ・サブユニット 2 の構造と機能 (川岸万紀子・山岸正裕・山本正幸\*・石浜 明): 原核生物 RNA ポリメラーゼの  $\beta$  サブユニットに対応する分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の第 2 サブユニットの遺伝子を、出芽酵母の相同サブユニット遺伝子 (RPB2) をプローブしてクローニングし、その構造を決定した (Kawagishi, M. *et al.* (1993) *Nucleic Acids Res.*, **21**, 469-473)。サブユニット 2 の蛋白質中にある細菌リボヌクレアーゼ類似領域だけを大腸菌で発現させ、純化したのち、RNA 分解活性を調べたが、原型及び変異型いずれの遺伝子由来の断片にも、顕著な活性は検出できなかった。しかし、RNA 分解活性が、RNA ポリメラーゼの機能サイクルの特殊な条件でのみ作動する可能性がある。そこで変異遺伝子を分裂酵母に戻し、*in vivo* 機能異常を観察することを試みたが、現在迄には、形質異常体は単離できていない。従って、サブユニット 2 のリボヌクレアーゼに似た領域は、進化的にかけ離れた生物種間でよく保存されているにもかかわらず、生体内で RNA 分解機能を発現していないか、または通常の細胞増殖には必須ではないと推定される。

(2) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ・サブユニット 3 の構造と機能 (東 慶直・山岸正裕・石浜 明): 分裂酵母より精製した RNA ポリメラーゼ II は 11 個以上もの蛋白成分を含んでいるが、これまでに原核生物の RNA ポリメラーゼの  $\beta'$ 、 $\beta$  サブユニットと同性的のある約 210 kDa, 150 kDa の 2 つの大きな構成蛋白質 (サブユニット 1 と 2) をコードする遺伝子 (*rpb1*, *rpb2*) を、出芽酵母の相同遺伝子をプローブとして分裂酵母より単離した (Azuma, Y. *et al.* (1991) *Nucleic Acids Res.*, **19**, 461-468; Kawagishi, M. *et al.* (1993)

\* 東京大学理学部

Nucleic Acids Res., 21, 469-473). 大腸菌 RNA ポリメラーゼ最小単位コア酵素では、これ以外に第3の必須サブユニット  $\alpha$  が知られている。これは、コア構造形成に必須であるばかりか、転写調節因子との相互作用にも重要である (Ishihama, A. (1993) J. Bacteriol., 175, 2483-2489). 今回、 $\alpha$  サブユニット相同体と考えられる分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の3番目に大きなサブユニット (サブユニット3) の遺伝子を単離しその機能を解析した。

分裂酵母の精製 RNA ポリメラーゼ II よりサブユニット3の蛋白成分を単離し部分アミノ酸配列を決定した。その知見を基礎として、サブユニット3をコードする遺伝子 (*rbp3*) を単離した (Azuma, Y. *et al.* (1993) Nucleic Acids Res., 21, 3749-3745)。その DNA 塩基配列から、この遺伝子は2つのイントロンを含み、大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニット相同の297アミノ酸からなるポリペプチドをコードすることが分かった。一次構造がすでに知られている各種生物の  $\alpha$  サブユニット相同体 (サブユニット3) を比較したところ、4つの保存領域 (A-D) が存在し、特に領域 D には RNA ポリメラーゼ II の形成に重要だと考えられるロイシンジッパー様モチーフが存在していた。これら保存領域のすべては、大腸菌  $\alpha$  サブユニット N 端側のサブユニット集合ドメインに含まれ、それより C 末端側には多くの転写因子との相互作用部位がある。真核生物のサブユニット3の対応する領域は、大腸菌  $\alpha$  サブユニットより短くなっている。真核生物のサブユニット3におけるこの領域が、どのような機能を担うのかは、今後の研究の興味ある対象である。

サブユニット3の機能を知るために、PCR法を用いて変異を導入した *rbp3* 遺伝子を相同組換えによって分裂酵母のゲノムに挿入し、多数の高温感受性変異体を単離した。そのうちのいくつかについて、*rbp3* 遺伝子を単離し一次配列を解析し変異部位を同定した。許容温度 25°C で増殖中の変異体を非許容温度 37°C に移すことにより、速やかにその増殖を停止するもの、細胞分裂数回後に増殖を停止するものなど、様々な増殖異常を示す変異体が得られていることが分かった。また、非許容温度においてその細胞の長さが通常の約7倍にもなる変異体も存在した。現在は、これら変異体にくまれる RNA ポリメラーゼ II の機能欠損を調べると共に、機能欠損と変異体の形質との関連を解析している。

### III. ウイルスの転写・複製装置の研究

RNA ウイルスの転写・複製に関与する RNA ポリメラーゼは、ウイルス mRNA の合成とゲノムの複製の両方を触媒する多機能酵素として、その構造-機能相関が注目されている。また、宿主因子がその機能制御に関与する場合が多く、生物のウイルス感受性の分子的基盤の解明の立場からも、研究の新しい焦点となってきた。こうした課題を解明する素材として、動物ウイルスからインフルエンザウイルス、植物ウイルスからイネ縞葉枯ウイルス、細菌ウイルスから Q $\beta$  ファージを選択し、研究を実施した。

- (1) インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ・サブユニット分担機能の同定 (小林

麻己人\*・豊田哲也・中田 進\*\*・水本清久\*\*\*・石浜 明): インフルエンザウイルス RNA ゲノムの転写・複製は、PB1, PB2, PA の3つのサブユニットからなる RNA ポリメラーゼにより行われている。これまでの遺伝学的研究や紫外線によるクロスリンク実験から、PB1 には RNA 合成活性、PB2 にはキャップ構造の認識と結合活性、およびキャップ構造依存性のヌクレアーゼ活性があることが示唆されている。そこで、われわれは、個々のサブユニットの機能を直接的に証明する目的で、試験管内・転写複製系とサブユニット遺伝子発現細胞系を用い解析を行った。

(i) PB1 の機能: われわれは先に、ウイルス粒子からセシウム TFA 遠心法を用いて RNA ポリメラーゼを可溶化し精製する方法を開発したが (Honda, A. *et al.* (1990) *J. Biochem.*, **107**, 624-628), それぞれのサブユニットを生化学的に分離する量は調整できなかった。次に、組換えバキュロウイルスにより個々のサブユニットを発現させ、それぞれのサブユニットを精製し、試験管内で再構成し、RNA 転写活性を検出したが (Kobayashi, M. *et al.* (1992) *Virus Res.*, **22**, 235-245), その活性は、個々のサブユニットの機能を調べるほど強力ではなかった。そこで、今回、RNA ポリメラーゼのサブユニットを発現する組換えバキュロウイルスと NIH の Moss 博士より分与された RNA ポリメラーゼのサブユニットを発現する組換えワクチニアウイルスをそれぞれ単独、あるいは色々な組合せで細胞に感染させることにより、細胞内で RNA ポリメラーゼのサブユニット集合体を形成させた。組換えウイルス感染細胞から核抽出液として可溶化した酵素の活性を、新たに作製した、第8分節ゲノム RNA の両端を持つ 84 ヌクレオチドのモデル RNA (v84, c84) 鋳型を用いて調べた。その結果、PB1 だけを含む核抽出液においても、RNA 合成活性が検出でき、PB1 は、単独でも RNA 合成を行うことを明らかにした。

(ii) PB2 の機能: インフルエンザウイルス遺伝子 RNA の発現機構を細胞を用いて解析する目的で、われわれは、インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの各サブユニットとヌクレオカプシド蛋白 (NP) をデキサメサゾンの誘導により発現する細胞クローン 76 と、RNA ポリメラーゼの各サブユニットのうち PB1 と PA とヌクレオカプシド蛋白 (NP) を発現する細胞クローン 64 を樹立した (Nakamura, Y. *et al.* (1991) *J. Biochem.*, **110**, 395-401)。この細胞に第8分節ゲノム RNA の両端の間にクロランフェニコールアセチトランスフェラーゼ (CAT) 遺伝子を入れた人工ゲノム RNA をトランスフェクトしたところ、CAT 活性はクローン 76 でのみ検出された。ところが、いずれの細胞でも、ポリ (A) の付加された CAT-RNA の合成はもとより、この人工ゲノムの複製も行われていた。両細胞からポリ (A) RNA を精製し、その 5' 端の構造解析と、ウサギ網状赤血球を用いた試験管内翻訳を行なった。

その結果、PB2 サブユニットを欠損しているクローン 64 では、人工遺伝子 RNA ゲノムの転写、複製共に行なわれているが、転写されたポリ (A) RNA の 5' 端にはキャップ構

\* 現・自治医科大学生物化学教室

\*\* 東京理科大学 (現・山之内製薬分子医科学研究所)

\*\*\* 核酸化学研究部門 (北里大学薬学部)

造が存在しないために、翻訳が行われていないことが明かとなった。このことにより PB1, PA の2つのサブユニットでインフルエンザウイルス RNA ゲノムの複製は行われること、PB2 サブユニットにより mRNA の5' 端にキャップ CAP 構造が付加されることが証明された (Nakagawa, Y. *et al.*, 投稿中)。

(2) インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ・サブユニットの機能地図の作成: 8-アジド GTP を用いたアフィニティーラベル (浅野幸康・水本清久\*・丸山徳見\*\*・石浜明): インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ PB1, PB2 及び PA の多構成要素からなる複合酵素である (Honda, A. *et al.* (1990) *J. Biochem.*, **107**, 624-628)。各サブユニットの分担機能の同定が進行しているが、サブユニット上の機能部位の同定はほとんどなされていない。機能地図の作成の手始めとして、今回転写の最初に取り込まれる基質、GTP のアナログである 8-アジド GTP を用いたアフィニティーラベル法で RNA ポリメラーゼ上の活性部位の検索を開始した。

8-アジド-GTP がインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの基質となるか、試験管内転写系で確認したところ、GTP の 10 分の 1 程度の転写産物を得た。Km 値は GTP が約 0.007 mM なのに対して 8-アジド GTP は約 0.09 mM であった。[ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]8-アジド GTP を用いてインフルエンザウイルス転写複合体 (RNP) をフォトリソクロスリンクした結果、クマシーブルー染色で検出される PB1 と移動度が同一の蛋白質が特異的に標識された。この反応は紫外線照射量が 1.0 J/cm<sup>2</sup> でプラトーに達し、RNA ポリメラーゼ 1 分子に 8-アジド GTP 1 分子が結合すると仮定するとその効率は約 1% であった。[ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]GTP を用いても同一条件下で標識されない。しかし、8-アジド GTP による標識は、GTP, GDP, GMP, dGTP で特異的に、且つ濃度依存的に阻害された。また、Mg イオンを排除することでも阻害された。これらの実験結果から、インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの基質結合部位が PB1 上に依存することが示唆された。

(3) インフルエンザウイルスヌクレオカプシド蛋白 (NP) の RNA 結合部位の同定 (小林麻己人\*\*\*・豊田哲也・Djanybek Adyshev・東 慶直・石浜 明): インフルエンザウイルス NP 蛋白は、ウイルスコアの核蛋白複合体 (RNP) の主な構成成分であり、ウイルス RNA ゲノムの複製に必要であることが知られている。われわれは、RNP から塩化セシウム法により NP をはずすと、RNA ポリメラーゼによる RNA 伸長反応がうまく行かなくなるを見出し出てきた (Honda, A. *et al.* (1988) *J. Biochem.*, **104**, 1021-1026)。NP の生物活性の発現のためには、NP-RNA の結合が必要であるので、NP の機能地図作成の一環として、RNA 結合部位の同定を行った。SDS-ポリアクリルアミド電気泳動後、ニトロセルロース膜上に転写した NP は、ラベルした RNA と結合することを確認できた。このノースウェスタンブロット法を用い、大腸菌にて発現させた、NP の各種欠損変異蛋白について、RNA 結合部位の同定を行った。

\* 核酸化学研究部門 (北里大学薬学部)

\*\* 徳島文理大学薬学部

\*\*\* 現・自治医科大学大学生物学教室

(4) インフルエンザウイルスゲノム RNA 複製機構の研究 (豊田哲也・石浜 明): インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼは、ウイルス RNA ゲノムの転写だけでなく、複製も担う複合酵素である。転写酵素としての機能は、これまでにウイルス粒子より精製した蛋白核酸複合体 (RNP) や塩化セシウム法等により可溶化した RNA ポリメラーゼ及び3種のサブユニット P 蛋白をそれぞれバキュロウイルスの系で発現・精製し、試験管内で再構成した RNA ポリメラーゼを用いて詳しく解析されてきた。しかしこれらの酵素標品は、ウイルスゲノム RNA の複製 (プライマーに依存せずにゲノム RNA (vRNA) の端から端まで転写することによる相補 RNA (cRNA) 合成と、cRNA を鋳型としての vRNA 合成) は極めて効率が悪いために、複製機構の研究は遅れていた。そこで、われわれは、インフルエンザウイルス感染細胞より抽出した RNP 画分を用いて試験管内ウイルスゲノム RNA 複製系を開発した。

まず、実験系を単純化する目的で第8分節ゲノム RNA の両端をもつ 53ヌクレオチドのモデル RNA (v53, c53) を鋳型に用いることとした (Parvin, J. *et al.* (1989) *J. Virol.*, **63**, 5142-5152)。酵素標品として、インフルエンザウイルス感染 MDCK 及び HeLa 細胞核抽出液から 0.1 M 塩化カリウムを含むグリセリン濃度勾配遠心にて分画した RNP を用いたところ、転写・複製ともに効率良く行われた。ところが、同じ反応を 0.5 M 塩化カリウムを含むグリセリン濃度勾配遠心にて分画した RNP で行ったところ、転写 (ジヌクレオチド ApG プライマー依存性 RNA 合成) は行すが、複製は行わないことがわかった。この高塩濃度処理 RNP 画分は、その遠心上清画分と混合することにより複製活性を回復した。その上に、この上清画分はウイルス非感染細胞の核抽出液により置き換えることができた。つまり、ウイルス感染細胞から調製した RNP は、転写・複製活性をもっているが、0.5 M 塩化カリウム処理により、複製活性を失い、それはウイルス非感染細胞の核抽出液と混合することにより回復するものであった。ところが、ウイルス粒子から精製した RNP は、それとは対比的に、ウイルス非感染細胞の核抽出液と混合してもゲノム複製活性を発現することはなかった。

以上のことから、インフルエンザウイルスの RNA ゲノム複製は、感染細胞におけるウイルス粒子とは生化学的に異なった RNA ポリメラーゼにより行われ、その活性の発現には、宿主細胞の因子が関与していることが明らかとなった (Toyoda, T. *et al.* (1994) *Arch. Virol.*, 印刷中)。現在、その宿主因子の同定をおこなっている。

(5) M1 蛋白質によるインフルエンザウイルスの増殖速度制御 (安田二朗・石浜 明): インフルエンザウイルスの増殖性は、様々なウイルス性及び細胞性因子によって制御されている。A 型インフルエンザウイルス WSN 株は、犬腎由来 MDCK 細胞で非常に良く増殖する代表的なウイルス株である。一方、Aichi 株は WSN 株に比べ増殖が悪い。この増殖性の差は、プラークサイズにより簡単に識別できる。われわれは以前に WSN・Aichi 両ウイルス株間の遺伝子交雑体を作成し、これら増殖性の違いについて詳細に解析した。その結果、プラークサイズとして現れる増殖性の違いは増殖速度に起因しており、それを決定しているのは M 遺伝子であることを明らかにした (Yasuda, J. *et al.* (1993) *Arch.*

*Virol.*, **133**, 283-294).

ところで、M 遺伝子には 2 種類の蛋白質 M1 及び M2 がコードされている。どちらの蛋白質がウイルス増殖速度の決定に関与しているのかを明らかにするために Aichi-M1/WSN-M2 あるいは WSN-M1/Aichi-M2 といったキメラ M 遺伝子をもったウイルスの作出を試みた。キメラ遺伝子をもつ RNP を、DEAE-デキストラン法により細胞にトランスフェクトし、M 遺伝子に温度感受性変異をもつ ts51 ウイルスを用いてそれをレスキューすることに成功した。キメラ M 遺伝子をもったウイルスの解析結果から、M1 蛋白質が Aichi-WSN 株間のウイルス増殖速度の違いを決定する唯一の因子であることが明らかとなった。なお、M1 蛋白質はウイルス初期蛋白質合成よりも以前の段階で増殖を制御している。

(6) インフルエンザウイルス抵抗性蛋白 Mx1 のウイルス抵抗性支配部位の同定 (浅野 幸康・豊田哲也・佐藤 智\*・石浜 明): マウス Mx1 蛋白は、インフルエンザウイルスに抵抗を示す A2G マウスより同定された、ウイルス抵抗性を担う核局在性蛋白質で、そのアミノ酸配列の上で、GTP 結合部位の存在が同定されていた。われわれは、これまでに、その cDNA を大腸菌で発現させ、そこから精製した Mx1 蛋白を用いて、GTPase 活性が確かに存在し、それはアミノ酸配列の上で同定された、GTP 結合部位に担われていることを同定した (Nakayama, M. *et al.* (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 21404-21408; *Virus Res.*, **22**, 227-234)。また一方で、Mx1 が 30 分子以上の自己集合体を形成することを発見し、Mx1 蛋白上に自己集合ドメインを同定した (Nakayama, M. *et al.* (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 15033-15038)。

しかしながら、Mx1 蛋白のもっとも重要な生物活性であるインフルエンザウイルス増殖阻害の機構については、全くわかっていない。そこで今回、これら GTP 分解活性、自己集合体形成とインフルエンザウイルス増殖阻害との関係を調べる目的で、GTPase 活性の低下した変異体 S50I (50 位アミノ酸セリンのイソロイシン置換体) と自己集合部位に唯一存在するシステインをセリンに変えた変異体 C71S を作製し、Mx1 野生株も含めて、MDCK 細胞にトランスフェクトしてそれぞれを恒常的に発現する細胞株を得た。間接蛍光抗体法にて、細胞内局在を調べたところ、野生株の Mx1 蛋白は、A2G マウスにおける本来のものと同じく、発現した細胞核内で瀰漫性と顆粒状の局在をしめしたが、S50I は核内において紐状、C71S は瀰漫性に核が染色される様式を示した。次に、これら発現細胞におけるインフルエンザウイルス感染性を調べた。野生株の Mx1 発現細胞では 0.01% にウイルス増殖が抑制されるのに比べたら、C71S 発現細胞では 0.5% にやや抑制が解除され、S50I 発現細胞では、50% とほとんど抑制されなかった。このことから、Mx1 蛋白によるインフルエンザウイルス増殖抑制には、その GTPase 活性と、それに相関した核内存在様式が重要であることが示唆された。

---

\* 京都大学理学部

### A-b. 変異遺伝研究部門

当研究部門では、哺乳動物の培養細胞と酵母菌を用い、細胞増殖の機構や染色体の基本的な機能構造を細胞周期との関連でとらえ、その中で、ユビキチン系がどのような関わりを担っているかを分子遺伝学的に明かにする研究を進めている。具体的な研究課題とその進捗状況は下記のとおりである。これらの研究には、教授瀬野悍二、助教授山尾文明、助手金田澄子、助手岸努および客員部門助教授安田秀世が携わり、これに大学院学生永井由貴子（総合研究大学院大学、博士課程3年）、逢坂文男（同1年）、Thangirala Sudha 博士（招聘外国人研究者インド Vijaya 病院インドダウン症研究会）、石森浩二（北里大学衛生学部4年）が参加した。また、岩波徹（農水省果樹試験場興津支場）が共同研究のため随時来所し、それぞれの研究成果をあげた。

今年度の当部門の関係する研究所共同研究は以下の2件について行った。

1) 「プロテアソームとユビキチンによる細胞周期制御機構の研究」(田中啓二: 徳島大学酵素科学研究センター)

2) 「DNA 複製期細胞核微構造形成に関与するタンパク質の研究」(矢倉達夫: 関西学院大学、理)

当部門の関係した研究集会は次の2件である。

1) 「細胞増殖制御の分子機構」(花岡文雄: 理化学研究所)

2) 「ユビキチン・システムと細胞周期」(田中啓二: 同上)

本年度の研究は、文部省科学研究費補助金重点領域研究「ストレス応答の分子機構」(1) (代表者、永田、班員、瀬野)、重点領域研究「細胞複製」(2)「ユビキチン活性化酵素の細胞複製における役割」(代表者、金田)、一般研究(B)「細胞周期と染色体機能制御におけるユビキチンの役割」(代表者、山尾)、一般研究(C)「ヒトチミジル酸合成酵素遺伝子の発現調節機構について」(代表者、金田)、がん特別研究(1)「ユビキチンサイクルが支配するがん細胞の増殖と染色体不安定化」(代表者、瀬野、班員、山尾)、がん特別研究(1)「細胞周期の制御機構における癌遺伝子、癌抑制遺伝子、及び関連遺伝子の研究」(代表者、花岡文雄、班員、金田)、総合研究(A)「放射線損傷の発現とそれを修飾する修復機構の研究」(代表者、佐藤弘毅、班員、瀬野)、総合研究(A)「ユビキチン代謝と細胞周期」(代表者、横沢英良、班員、瀬野)、総合研究(A)「細胞増殖のスイッチと生体高次機能の形成制御」(代表者、小池克郎、班員、瀬野)、国立遺伝学研究所特定研究「染色体構築と機能サイクルの基礎的研究」(代表者、瀬野悍二、班員、山尾、金田)、総合研究大学院大学グループ研究「転写装置における蛋白分子間コミュニケーション」(代表者、石浜明、班員、瀬野)、厚生省対がん10ヶ年総合戦略プロジェクト「分子生物学および分子遺伝学を基礎とする新しいがん治療法の研究」(代表者、金子安比古、班員、瀬野)の援助を受けた。

(1) ユビキチン活性化酵素の細胞周期における機能分化(金田、今井、花岡、山尾、瀬野): ユビキチンシステムは、細胞増殖、転写、修復、ストレス応答など多くの生命現象において重要な働きをしている。ユビキチンは真核細胞に普遍的に存在する 8.6 kDa の蛋白

質であり、標的蛋白質に結合し分解指標となることによってその機能を発揮する。ユビキチンが標的蛋白質に結合する過程には、ユビキチン活性化酵素 (E1)、ユビキチン結合酵素 (E2)、ユビキチン蛋白質リガーゼ (E3) が関与している。我々は、マウス FM3A 細胞由来で、この一連の反応の最初を担う E1 の温度感受性変異株を用い、ユビキチンシステムの細胞周期における役割について解析した。

同じ相補性群に属する 11 の E1 変異株は、制限温度において停止する細胞周期上の点 が異なり、ユビキチンシステムが細胞周期の G1, S, G2/M の各点で機能していることが示唆された。ユビキチンシステムの多様な機能は、E1 から次にユビキチンが転移される E2 が多分子種存在するファミリー蛋白質であるためと考えられ、E1 上の変異点の違いにより影響を受ける E2 が異なり、様々な表現型を示すものと思われる。各変異株の変異点を同定したところ、1 株を除いてすべて中央から C 末端側に存在しており、ここが E2 の認識部位ではないかと推定される。

一方、マウス E1cDNA をこれら変異株に導入し構成的に発現させたところ、その形質転換効率は変異株により著しく異なり、制限温度下での停止点と強い相関関係が見られた。特に、形質転換効率が低く G2 に停止する株では、形質転換株で著しく巨大化した DNA 量の増加した細胞がみられ、E1 が細胞周期で厳密にその活性が制御されていると考えられた。

又、E1 (1058 アミノ酸) の N 末端より 255 アミノ酸を欠失した cDNA は、変異株への導入によって S 期での停止を解除することができたが、G2 期での停止は解除することができず、細胞周期において E1 の機能分化が行なわれている可能性が示唆された。

(2) ユビキチン結合酵素の機能分担の解析 (金田・矢倉・山尾・瀬野): ユビキチンシステムの多機能性は、多分子種存在しファミリー蛋白質を形成するユビキチン結合酵素によって担われていると考えられる。我々は既に、制限温度下における細胞周期上の停止点の異なる E1 変異株を用いてユビキチンの転移反応を行ない、S 期での機能が示唆される E2 を同定した。この E2 のクローニングを目指すと同時に、他の E2 の機能を明らかにすることを目的として、マウス E2 の精製を行なった。大量培養した FM3A 細胞野生株より、陰イオン交換カラム、硫酸分画、ユビキチンアフィニティカラムを用いることにより、約 20 種のユビキチン転移活性をもつ E2 を分離した。これらを FPLC を用いて精製し、そのうち 10 種について部分アミノ酸配列を決定した。その結果に基づき、プライマーを作製し、PCR をおこないその産物をクローニングした。これをプローブにして E2 のクローニングを行う予定である。

(3) ユビキチン活性化酵素のリン酸化による機能制御 (山尾・永井・金田・安田・瀬野): ユビキチン (Ubiquitin) は真核細胞に普遍的に存在し、広く蛋白質代謝に関与するが、これは単なる蛋白質分解指標としてだけにとどまらず、極めて多様な細胞機能に関わっている。哺乳動物培養細胞の細胞周期との関わりで、ユビキチン活性化酵素 E1 の遺伝的欠損が G2 期進行阻害を引き起こし、染色体凝縮を抑制している可能性が指摘されてきた。最近のわれわれの知見によれば、やはり活性化酵素 E1 の変異により DNA 合成期

の開始と進行においても著しくその機能が阻害されることがわかった。また細胞分裂期への関わりとして、ユビキチン系の異常により染色体の倍数性が上昇することからその維持にも関係している。これらはいずれも、それぞれの時期での細胞周期進行に関わる調節蛋白質、あるいは染色体機能を制御する核蛋白質がユビキチン化され、その分解ないしは機能修飾を通して細胞の増殖に必須の機能として作用していると思われる。このようにユビキチンがその制御に関わる細胞機能は多岐にわたり、それは E2 分子種の多様性とそれにより選択される最終標的蛋白質の機能特異性によると考えられる。しかし、それら細胞機能の範囲、またその発現調節の根幹である E1 による E2 の分子識別を特異的な細胞機能に絡んで示した例はまだない。E2 分子の識別に関わる機構として、活性化酵素 E1 の特定部位が cdk キナーゼによりリン酸化されていることを示した(投稿中)、マウス E1 酵素の Ser4 残基は細胞内で cdc2 キナーゼによりリン酸化され、この部位の変異は G2 期進行阻害を引き起こす。これは M 期開始のシグナルの分子的解析を cdc2 キナーゼ(MPF)の活性化から一段深化させるものである。他方、Ser835 残基は少なくとも *in vitro* で cdc2 キナーゼによりリン酸化され、この部位の変異は G1/S 期進行阻害を引き起こすことから、細胞内では cdk2 によるリン酸化を受けているのではないかと想像される。これらのことは、細胞周期制御の中樞を担う cdk リン酸化酵素で E1 酵素がリン酸化されることにより細胞周期に特異的な E2 酵素を認識し、これにより周期に依存したユビキチン経路を発現させていることを強く示唆している。これを検証し、DNA 合成の開始と進行、G2 期から M 期の開始に関わるユビキチン経路(認識される E2、およびその標的蛋白質とその機能)を同定、解析することは、核膜崩壊、染色体凝縮、サイクリン分解による M 期脱出など M 期固有の現象とユビキチン系の関わりを分子レベルで解析する糸口になるものと期待される。

(4) ユビキチン結合酵素 E2 の探索(山尾・逢坂・岸・金田・石森・瀬野): ユビキチンは真核生物に特有で蛋白質代謝に係わり、ユビキチン活性化酵素(E1)により活性化され、一群の Family を形成する Conjugating Enzymes (E2) に転移し、直接あるいは Ubiquitin ligase (E3) を介して最終のターゲット蛋白質に結合することによりその機能を発現する。これは単なる蛋白質分解指標としてだけにとどまらず、その制御に関わる細胞機能は極めて多岐にわたり、それは E2 分子種の多様性とそれにより選択される最終標的蛋白質の機能特異性によると考えられる。しかし、それら細胞機能の範囲、またその発現調節の根幹である E1 による E2 の分子識別を特異的な細胞機能に絡んで示した例はまだない。同時に、現在までに種々の生物種から約 30 種類の E2 の cDNA クローンが分離されているが、これらは基本的には酵母 *S.cerevisiae* での 10 種の E2cDNA クローンに由来するホモログである。また、*S. cerevisiae* での 10 種の E2cDNA クローンは一種の PCR 反応に由来するもので、つまるところ真核生物のシステムにどれぐらいの種類とクラスのエ2酵素が存在するものか、その機能的多様性がどれぐらいに広がるものかはまだ系統的に探索されたものはない。そこで、酵母でもより高等生物に近いシステムを有する *S. pombe* を用いて、E1 からユビキチンを受容する E2 のもっとも基本的な活性能力で検定してその

cDNA のクローン化を試みた。原理的には、大腸菌内での発現ベクターで作成した cDNA ライブラリーから、その大腸菌抽出液と精製した E1 酵素、標識したユビキチンを用いた試験管内反応でユビキチン受容能を持つものを検索し、現在までに多くのクローンを得ている。これらの構造解析と変異株を用いた機能の検索を行う予定であり、この遺伝的標識を用いることにより哺乳動物細胞でのユビキチンシステムの細胞機能制御系としての全体像の理解にも迫れるものと考えている。

(5) ユビキチン系による出芽酵母細胞周期制御 (岸・山尾・瀬野): 細胞周期制御におけるユビキチン系の役割を明らかにするためには、細胞周期進行に関わる E2 の標的蛋白質を明らかにすることが必要であるが、現在までのところほとんど明らかにされていない。その理由にユビキチン化された蛋白質が急速に分解されてしまい生化学的に同定することが困難であることが挙げられる。そこで本年度より、生化学的手法のみでなく遺伝学的手法を適用できる出芽酵母を用いて解析を始めた。

出芽酵母でユビキチン結合酵素は現在のところ 10 種類知られている。このうちその温度感受性変異株の細胞周期が、制限温度において停止するものに CDC34 (G1/S 期停止)、UBC9 (G2 期停止) の 2 種ある。CDC34 の温度感受性変異株は制限温度において DNA 複製が開始できないこと、spindle pole body が分離できないことが知られており、G1/S 期の複数の点で作用していることが示唆されている。CDC34 の標的蛋白質を同定することを主につぎの 2 つの方法で試みている。

#### 1. CDC34 の温度感受性変異株のサプレッサーの単離とその遺伝子のクローニング

CDC34 の温度感受性変異株である E3-16 株の EMS 処理により変異を導入し約  $10^9$  コロニーをスクリーニングした結果、サプレッサー株が 4 株取れた。これらのうち 2 株に関して解析した結果、その変異は優性を示した。そこで、サプレッサー株より genomic library を作製し CDC34 の温度感受性変異株に導入することによってその遺伝子をクローニング中である。

#### 2. 核抽出液とユビキチン化 CDC34 との反応による標的蛋白質の同定

CDC34 の大腸菌での高発現系を構築し CDC34 蛋白質をユビキチン・アフィニティー・カラムクロマトグラフィーによって精製した。CDC34 蛋白質が、我々が手元に持つマウス E1 によってユビキチン化されるか検討したところ、効率良くユビキチン化されることがわかった (出芽酵母の E1 の遺伝子を手元に持っていないので)。このようにして得られたユビキチン化された CDC34 蛋白質とプロテアソーム抗体によって予めプロテアソームを除去した出芽酵母核抽出液との反応により CDC34 の標的蛋白質の同定を試みている。

(6) 細胞周期 G2 におけるユビキチンの役割と核小体の動態 (Sudha・金田・永井・山尾・瀬野): ユビキチン活性化酵素 (E1) の温度感受性変異株の 1 つ ts85 は制限温度下 G2 期に停止する。その際、核小体の形態異常を伴うことを発見した。すなわち、G2 期細胞の核小体を azure C で染色すると、核小体の中心部に azure C 陰性の異常な領域ができて核小体が押し広げられて拡大化したように見える馬蹄形あるいはドーナツ状の奇妙な像が観

察された(約70%の細胞に)。ちなみに、G2期に停止するcdc2キナーゼ温度感受性変異株(tsFT210)ではそのような異常はみられなかったので、この現象はユビキチン系の異常によることが示唆された。銀染色を行うと、予期どおりazure C陽性領域に一致して強いシグナルを検出した。しかし、上記のazure C陰性領域も薄くではあるが染色され、単なる空洞ではないことが示唆された。

電子顕微鏡を用いてこの空洞化領域を観察したところ、比較的均一なサイズの粒子(直径約70 nm)が星雲状に存在した。しかし、銀染色シグナルと高電子密度粒子との対応は現在解析中。

上記の電子密度の高い粒子群の由来を知る目的で、蛍光免疫染色をこころみ光学顕微鏡下観察した。現在のところ、HSP70のC末端を認識する単クローン抗体が上記空洞領域にシグナルを与えた。シグナルは核膜領域までのび、あたかも細胞質からなだれ込んだように見えた。この結果は上記粒子群が単なる核小体の崩壊物ではないことを示唆している。Heat shockによってHSP70が細胞質から核に移行し核小体に集まることが知られている。その生物学的意味として、リボゾーム形成過程において熱変性したリボゾーム蛋白質がHSP70によって修復されると推察されている。したがって、本ユビキチン代謝変異株における異常核小体に見た70 nmの粒子群とHSP70との関係を解析することは興味深い。単離した異常核小体画分の蛋白質、特に、抗HSP70抗体によって共沈降する蛋白質の解析を行う。

G2期停止ts85細胞を許容温度に戻してM期まで進ませ、染色体をギムザ染色したところ、数本の染色体が寄り集まった像が15~20%のM期像にみられた。寄り集まった中央領域の各染色体の末端に近い一部のみが不完全凝縮状態に見えた。これは、G2期からM期への進行で消失するはずの核小体を構成していた各染色体のNOR領域が離散しないままに、しかしNOR以外の染色体領域は正常に凝縮したために生じた異常像であろうと想像された。銀染色、およびrDNAをプローブに用いたFISH及びセントロメア由来の反復配列DNAをプローブにしたFISHのシグナルは上記の不完全凝縮領域に一致した。

(7) 温州萎縮ウイルスの構造解析(岩波・山尾・瀬野): 温州萎縮ウイルス(satsuma dwarf virus, SDV)は我が国の主要カンキツであるウンシュウミカンに深刻な被害をもたらす重要ウイルスであるが、そのウイルス学的な性状は不明の点が多いため、これまで未分類ウイルスとされてきた。そこで、ウイルス核酸の塩基配列の相同性および推定される遺伝子構造から分類学的な位置を明らかにするため、塩基配列の解析を行った。

まず、SDV(分離株S-58)純化標品より、フェノール・クロロフォルム処理、エタノール沈殿によってウイルスRNAを精製した後、オリゴdTプライマーを用いて常法により2本鎖のcDNAを合成し、pUC19のSmaIサイトに組み込んで、JM109に形質転換した。得られたクローンの中で最も長い(約3,000 bp)S58CD5を以後の実験で供試した。ノーザンハイブリダイゼーションによる分析では、S58CD5はウイルス核酸の2成分のRNA(RNA 1およびRNA 2、それぞれ約7,000塩基および5,400塩基)中、RNA 1により強く、RNA 2に弱く反応した。

S58CD5より、一方向への各種欠失クローンを作製して、これらの塩基配列を dideoxy 法により解読した結果、以下のことが明らかになった。

S58CD5はウイルス RNA の 3' 末端のポリ A 配列を鋳型としたと考えられる長いチミンの連続した配列が認められた。このチミン配列より 929 塩基のところを BamHI サイトが確認された。そこで、S58CD5を BamHI で消化した後、アガロースゲル電気泳動を行い、上記のチミン配列より 929 塩基の部分を含まない断片をプローブとしてウイルス核酸とのノーザンハイブリダイゼーションを行ったところ、RNA 1 とのみ反応した。したがって、S58CD5は RNA 1 の 3' 末端領域を鋳型とする cDNA であり、かつ RNA 1 と RNA 2 とは 3' 末端付近で相同性が高いことが明らかになった。

得られた塩基配列より、オープンリーディングフレーム (ORF) の検索を行ったところ、1つのフレームでのみ、ORF が認められた。この ORF の推定されるアミノ酸配列についてホモロジー検索を行った結果、cowpea mosaic virus および grapevine fanleaf virus の RNA ポリメラーゼを含むポリプロテインに高いホモロジーが認められた。また、この ORF には GDD モチーフなど RNA ポリメラーゼに特徴的なアミノ酸配列が見出された。以上の結果から、SDV は cowpea mosaic virus および grapevine fanleaf virus に近縁なウイルスであることが明らかになった。これまでには SDV の粒子形態、理化学的性状、細胞内所見のこれらのウイルスとの類似性は指摘されていたが、血清関係など近縁性を裏付ける直接的知見は得られていなかった。本研究はこれを遺伝子のレベルで初めて明らかにした。

## A-c. 核酸化学研究部門

### I. 真核細胞 mRNA キャップ構造の形成機構 (水本)

真核細胞 mRNA の 5' 末端に存在するキャップ構造 ( $m^7\text{GpppNmp}$ ) は、遺伝情報発現の種々のステップで重要なシグナルとして機能している。メチル化されたキャップ構造の形成には少なくとも 4 種類の一連の酵素活性が関与する。我々は、キャップ構造の生合成機構とその役割を明らかにすることを目的に、キャップ構造の基本骨格形成 ( $\text{GTP} + \text{ppN-RNA} \rightarrow \text{GpppN-RNA} + \text{PPi}$ ) に関与する酵素、mRNA グアニル酸転移酵素 (キャッピング酵素) について、その構造と機能をタンパク質ならびに遺伝子のレベルで解析している。本年度は酵母 mRNA キャッピング酵素について解析し、以下の結果を得た。

酵母 mRNA キャッピング酵素は  $\alpha$  (52 kDa) および  $\beta$  (80 kDa) の 2 つのサブユニットからなり、それぞれ、キャップ形成過程における始めの 2 つの連続的な反応を触媒する、mRNA グアニル酸転移酵素活性 ( $\text{GTP} + \text{E} \rightarrow \text{E-GMP} + \text{PPi}$ ,  $\text{E-GMP} + \text{ppN-RNA} \rightarrow \text{GpppN-RNA} + \text{E}$  の 2 段階よりなる) および RNA5-トリホスファターゼ活性 ( $\text{pppN-RNA} \rightarrow \text{ppN-RNA} + \text{Pi}$ ) を担う。我々は、すでに酵母  $\alpha$  サブユニット遺伝子 (*CEG1*) をクローニングし、この遺伝子が酵母染色体 VII 上に存在すること、ならびに酵母の生育に必須であることを明らかにした (Shibagaki, Y. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **267**, 9521-9528, 1992). *CEG1* を T7RNA ポリメラーゼを用いた大腸菌の発現系を用いて大量発現させ、

ほぼ単一の標品にまで精製した $\alpha$ サブユニットタンパク質を得た。精製組換え $\alpha$ サブユニットは、E-GMP 共有結合反応中間体形成のみばかりなく、 $\beta$ サブユニット非存在下にキャップ形成反応を触媒する能力を有した。この組換え $\alpha$ サブユニットで形成した E-[ $^{32}$ P]GMP 中間体を用いて、活性中心を含む  $^{32}$ P-標識トリプシン断片を精製し、そのアミノ酸配列を決定した。その結果、活性中心 (E-GMP において GMP が共有結合している部位) は Lys-70 であることが判明した。

さらに、Lys-70 を含む約 10 アミノ酸にわたる領域内において、DNA リガーゼの活性中心のアミノ酸配列と高い相同性が認められた。このことは、キャッピング反応とリガーゼ反応における機構上の共通性から考えて興味深い。site-directed mutagenesis によるアミノ酸置換で Lys-70 を His あるいは Ile に変化させた結果、E-GMP 形成能が失われた。このことは、Lys-70 が活性中心であるという上述の結果を支持すると共に、GMP とホスホアミド結合をしうる His では代用がきかない事を示す。また、Lys-70 周辺のアミノ酸置換の実験から、Thr-71 および Gly-73 が E-GMP 形成に重要であることが示された。

## II. マイナス鎖 RNA ウイルスの転写・複製機構 (水本)

マイナス極性の RNA ゲノムの転写・複製機構を明らかにすることを目的に、センダイウイルス (HVJ) をモデル系として、主に *in vitro* RNA 合成系を用いて研究している。

(1) HVJ のゲノムは約 15 kb の非分節マイナス鎖 RNA からなる。この RNA ゲノムのもつ遺伝情報は、ウイルス粒子に含まれる RNA 依存 RNA ポリメラーゼによって合成される 6 種類の mRNA を経て発現する。我々は、ウイルス粒子を用いた、効率のよい、かつ正確な転写を行ないうる *in vitro* RNA 合成系を確立した。この系を用いた HVJmRNA の生合成反応には宿主由来のタンパク質因子 (宿主因子) が必須であり、宿主因子活性は少なくとも 2 つの相補的な分画に分離されることを見出した。また、そのうちの一方の活性の本体はチューブリンであり、その C 末端付近に存在する酸性アミノ酸ドメインが重要な役割を演じていることを示した。さらに、チューブリンは転写開始複合体に組み込まれ機能していることを明らかにした。

(2) HVJ ゲノムの 3 末端にはリーダー配列 (l) とよばれるタンパク質をコードしない約 50 ヌクレオチド長の領域が存在する。HVJ 感染細胞では l 領域から転写される約 50 ヌクレオチドの短鎖 RNA ((+) リーダー RNA) が認められ、その合成はゲノム複製制御に関与すると推定されているが、その詳細は明らかでない。複製ウイルス粒子を用いた *in vitro* (+) リーダー RNA 合成系を確立し、反応の性質を検討した。その結果、1) (+) リーダー RNA 合成は宿主因子の存在にほぼ完全に依存すること、2) HeLa 細胞より (+) リーダー RNA 合成に必要な宿主因子活性を部分精製したところ、活性は mRNA 合成に必要な宿主因子とは一部異なる分画に分離されることが明らかとなった。また、3) この分画にはゲノムリーダー配列に特異的に結合するタンパク質因子が含まれることが示された。

## III. 大量遺伝情報処理に関する研究 (北上 始)

昨年まで研究を行っていた大量遺伝情報研究室から本研究室に移籍し、引き続き大量遺

伝情報処理に関する研究を行っている。特に、大量の遺伝子データを用いた大量遺伝情報処理についての研究開発を行なっている。

本年度は、昨年度、研究開発した DNA データを構築・管理するための関係データベーススキーマ DDBJ-schema をさらに発展させ、この上に X-window ベースのデータベース構築支援システム YAMATO (大和) を研究開発した。また、昨年度、研究開発した EST 向き大量データ登録システムをさらに拡張し、データ登録の際の種々の制約を緩和した。また、大量データの電話回線による修正を可能にするために、SYBASE の DB-Library を用いて修正用インタフェース ASUKA (飛鳥) を研究開発した。

また、年 1 回開催される国際 DNA データバンクの実務者会議に積極的に参加し、データバンク運用についての問題点を洗い出した。その結果、各データバンクが備えている生物分類樹の電子化辞書を無矛盾に維持することが大切であることがわかった。ここでは、生物分類樹データベースの無矛盾性維持を支援するためのツール TAXWORK を研究開発した。各データバンク毎に、無矛盾な生物分類樹データベースが完成すれば、それらを統合することにより、生物学研究者の有用な研究ツールとしても利用可能である。例えば、生物分類樹データベースを用いて、(1) 研究者間の研究結果の比較、(2) 従来の研究から将来の研究方向の検討、(3) 分子進化系統樹との比較などを行うことができる。

この統合化された無矛盾な生物分類樹データベースの実現に向けて、最初に、NCBI のスタッフとの共同研究により TAXWORK の検索機能や矛盾判定方法について検討した。検索機能については、生物分類樹データベースが大規模であり一括表示が不可能である点に着目し、再帰ジョインを用いた近傍検索コンセプトを見出した。近傍検索コンセプトは、エラーの状況を詳しく分析するのに有用である。矛盾判定法については、データバンク毎に構造矛盾を抽出する方法や、各データバンク間のミスマッチを抽出する方法を開発した。これらのためには、各データバンクが有する関係フォーマットの生物分類樹データベースが必要である。ここでは、国際協力のもとに、NCBI, LANL, EMBL が有する生物分類樹データベースを定期的に自動獲得するシステムを作成した。現在、TAXWORK は DDBJ の生物分類樹データベースの無矛盾性管理のために稼働中である。今後、YAMATO や AUSKA について、DDBJ での実運用化を推進する予定である。

## B. 細胞遺伝研究系

### B-a. 細胞遺伝研究部門

細胞遺伝研究部門ではアジア産の野生ハツカネズミ (マウス) を主要な対象として、亜種の遺伝的分化と地理的分布を、集団、細胞および分子レベルの分析手法を用いて研究している。また、生物機能に関連する遺伝子を野生集団から導入して新しい実験系を開発し、それらの機能の遺伝機構を解明することも独自の課題である。現在、野生マウス亜種の収集と多型的遺伝子の解析、高頻度の遺伝的組換え、高率の自然突然変異生成、遺伝的に優性な発がん抵抗性等、野生マウスに由来する独自の遺伝的的特性の解析を行なっている。平

成3年度から発足した分子遺伝学的解析を中心とするマウスゲノム解析研究は、厚生省長寿科学総合研究費「ヒト疾患遺伝子探索のためのマウスゲノム解析」(研究代表者・森脇)の援助を受け本年度も継続して進められた。がん特別研究(1)「がん研究のための実験動物の維持と開発」研究(研究代表者・森脇)は本年度も継続してその事業を行った。平成4年度に始まった中国との国際学術研究は本年度第二年目を迎えた。また、アリ類を中心に染色体進化の細胞遺伝学的研究も理論的なアプローチをも併せて息長く続けられている。昨年に引続き総合研究大学大学院細胞遺伝学講座としての教育・研究活動も進められ、川嶋 剛、水野健一、榎屋啓志の三名が在学した。

本年度は、当研究部門に関係の深い研究集会が三つ開催された。平成5年9月17～19日、三島市日本大学国際関係学部において、森脇教授が大会委員長となり日本遺伝学会第65回大会が開催された。450人を越える参加者があり、一般講演185題、シンポジウム33題の発表があった。平成5年11月7～11日、浜松の浜名湖ロイヤルホテルにおいて、森脇教授が組織委員長となり、第7回国際マウスゲノムコンファレンスが開催された。国外から80余人、国内から120数人の参加があり、40題の口演発表、70題のポスターおよびその紹介口演が行われた。平成6年1月22～23日、大阪市大阪フェスティバル・リサイタルホールにおいて、第8回「大学と科学」公開シンポジウムの一つである「遺伝子から生命を探る」セッションが開催された。森脇教授がセッション代表者を務め、総合講演3題、特別講演1題、シンポジウム講演9題の発表があり、350人を越える参加者があった。

森脇教授は昭和34年以来本部門の研究活動の携わってきたが、平成6年3月をもって停年退官する。城石助手は本年6月に遺伝実験生物保存研究センター哺乳動物保存研究室助教授に昇任したが、研究活動は引続き細胞遺伝研究部門で行った。

この部門の共同研究には本年度下記の人々が参加した。

土屋公幸(宮崎医大)、若菜茂晴(実中研)、前田正人(三島病院)、坂井俊之助(金沢大)、原田良信(放医研)、松島芳文(埼玉がんセンター)、平井啓久(熊本大)、和田政保(動繁研)、松田洋一(放医研)

また、次の人々が外部から当部門の研究に参加した。

吉野正康(受託学生:東京大学大学院)、嵯峨井知子、浜田 俊(沼津学園高校)、久保田政雄

本研究部門の海外に於ける研究活動は次の通りである。

森脇教授は8月14日から24日まで英国バーミンガム市で開かれた第17回国際遺伝学会に出席し、二つのプレナリー・シンポジウムの座長を務め、また、B.ウォーレス博士の主催する「ペルマウス」ワークショップで話題提供を行った。11月15日から25日までアメリカ合衆国に出張し、ナッシュビルで開かれたAALAS学会に出席、16日にはバンダービルト大学にヨナミネ博士を訪ね「マウス亜種の遺伝的分化」についてセミナーを行い、次いでポルティモアのジョンス・ホプキンス大学にあるGDBを訪ねマウス遺伝子情報データベース事業を視察した。さらに、ボストンのハーバード大学ジョスリン糖尿病セ

ンターおよび自然史博物館, パーハーバーのジャクソン研究所を訪問した後, 22 日ベセスタの NIH で開かれた「実験動物科学」日米国際協力事業定期協議に参加した。

海外学術研究科学研究費による活動としては, 12 月 2 日から 12 日まで森脇教授, 宮下助手, 佐藤係長, 宮崎医大の土屋助教授, 放射線医学総合研究所の松田主任研究官と共に中国を訪問した。この学術調査には文部省学術情報課の池之上課長補佐および金沢大学がん研究所坂井助教授(上海のみ)が同行した。中国産野生マウスの遺伝的分化に関する共同研究を進めるために, 天津市労働衛生職業病研究所(李海所長, 王鳳山副主任), 蘭州市中国衛生部生物製品研究所(王成懷名誉所長, 吳祥林副所長)および上海市中国科学院実験動物中心(金玖蕾主任)の三研究機関を訪問し, 中国各地で採集した野生マウスの剥製標本を作成し, 併せて肝 DNA その他の試料を調製した。

後藤助手は文部省在外研究員として 10 カ月間, アメリカ合衆国リサーチトライアングルパーク市の国立環境衛生科学研究所生殖発生毒性研究室エディ博士のもとで研究するため 6 月 1 日渡米した。

#### (1) マウス亜種の遺伝的分化と地理的分布の研究

a) 東アジアにおけるハツカネズミ亜種の地理的分布と遺伝学的分化 (森脇・宮下・嵯峨井・米川・土屋\*・鈴木\*\*・池田\*\*\*): 我々は数年来, 酵素蛋白質や血清蛋白質の電気泳動像, 染色体 C バンドパターン, リボゾーム DNA やミトコンドリア DNA の RFLP 等多数の遺伝学的特性に於ける多型的変異を指標に, 東アジア地域に於ける castaneus および musculus 両亜種群の地理的分布と遺伝学的分化に関する探索を行ってきた。その結果, 長江を境にして, castaneus 群は南に, musculus 群は北に分布していることが明らかになってきた。本年度は中国西北地域, 東北地域, 長江両岸地域およびインド, パキスタン地域の野生マウス亜種の採集・調査を行い, ヘモグロビン $\beta$ 鎖, リボゾーム DNA およびミトコンドリア DNA の多型的変異を分析するとともに, 剥製標本を作成した。

今回の調査で得られた亜種の遺伝的分化と地理的分布に関する結果は, これまでの調査結果とはほぼ一致するものであったが, インド, パキスタン地域に castaneus 亜種群が広く分布しており, これまで中国西北地域にある頻度で見られていた castaneus 型の遺伝子はこの分布につながるものが明らかになった。

b) 中国北西部で見つかった新しいマウスヘモグロビン $\beta$ 鎖遺伝子の cDNA の一次構造解析 (川嶋・宮下・後藤・王\*\*\*\*・吳\*\*\*\*\*・金\*\*\*\*\*・Kryukov\*\*\*\*\*・森脇): マウス (*Mus musculus*) のヘモグロビン $\beta$ 鎖遺伝子のハプロタイプはこれまで, Hbbs, Hbbd, Hbbp の 3 種類の存在が知られていたが, それらと異なるハプロタイプを持つマウ

\* 宮崎医大

\*\* 慈恵医大

\*\*\* 農水省家畜衛生試験場

\*\*\*\* 王鳳山: 天津市労働衛生職業病研究所

\*\*\*\*\* 吳祥林: 蘭州生物製品研究所

\*\*\*\*\* 金玖蕾: 上海実験動物中心

\*\*\*\*\* A. Kryukov: Institute of Biology and Pedology, Vladivostok

スが生息することが中国北西部を中心とした調査の結果明らかとなり、この Hbb ハプロタイプを Hbbw1 と名付けた。中国およびロシア極東地方の中国国境付近を中心としたこれまでの調査で、Hbbw1 ハプロタイプを持つマウスは中国北西部を中心として東は沿海州から西は黒海の周辺までユーラシア大陸に広く分布することがあきらかとなった。Hbbw1 ハプロタイプの起源を明らかにすることを目的として、Hbbw1 ハプロタイプを持つ中国産野生マウス由来の近交系 M. SUB-JYG に加えて、Hbbp ハプロタイプを持つ日本産野生マウス由来の近交系マウス M. MOL-MSM と実験用近交系マウスの AU/SsJ の合計 3 系統を対象に、成体で発現する遺伝子 Hbb-b1 および Hbb-b2 の cDNA の一次構造を解析した。ヒドラジン処理によって各系統のマウスの末梢血中に誘導された網状赤血球から mRNA を抽出し、この mRNA に対して RT-PCR を行うことによって cDNA を得た。この cDNA をプラスミドにクローン化した後にシーケンスを行い、各クローンの塩基配列を決定した。その結果、Hbbw1 ハプロタイプの b1, b2 とともにアミノ酸数は Hbbs, Hbbd, Hbbp ハプロタイプのものと同じ 146 であること、Hbbw1 ハプロタイプだけに見られる変異として Hbb-b1 では N 末から 95 番目のアミノ酸が Arg (他のハプロタイプでは Lys) であること、Hbb-b2 では N 末から 52 番目のアミノ酸が Tyr (他のハプロタイプでは Ser) であることなどが明らかとなった。これらの結果はすでに各種の電気泳動法により行った解析結果を矛盾なく説明する。現在、この新しいハプロタイプの起源を推定するため、さらに詳細な解析を行っている。

c) マウス・プロテアソームのサブユニットをコードする Lmp-2 遺伝子のマウス亜種における遺伝的分化 (水野・嵯峨井・城石・森脇): ウイルスなどの外来の異物を取り込んだ細胞が、免疫担当の T 細胞へ細胞質内の抗原を提示するためには蛋白質を分解し断片化する必要がある。この役割を果たすのは、多数のサブユニットから成る蛋白複合体であるプロテアソームである。マウスでは、この構成要素の一つとして Lmp-2 遺伝子があげられている。この遺伝子のポリ A シグナルは、MHC クラス II 領域内の相対的組換え高発部位 (Lmp-2 ホットスポット) よりテロメア側約 2 kb 離れたところに位置している。MHC クラス I, II 遺伝子のペプチド結合部位では、塩基の非同義置換の方が同義置換よりも頻度が高く、正の自然淘汰が働いていることが知られている。Lmp-2 遺伝子においてもアミノ酸レベルの多型が存在することは既に他の研究室により報告されている。そこで、この遺伝子において、クラス I, II 遺伝子と同様に正の自然淘汰が働いているかどうかを検討することにした。このため、いくつかのマウス亜種よりこの遺伝子をクローニングし、塩基配列を決定することにした。脾臓より RNA を抽出し、RT-PCR 法を用いてクローニングし、現在、塩基配列を決定している。

## (2) マウス MHC を中心とした遺伝的組換えの分子機構の研究

a) 相同染色体間での組換え頻度と塩基配列の相同性の比較 (吉野・嵯峨井・城石・森脇): 哺乳動物における減数分裂組換えの研究において、マウス主要組織適合抗原複合体 (MHC) 領域は、最も優れた材料の 1 つである。1.2 Mb (組換えが任意の位置で起こると仮定すれば、0.6% の組換え頻度に相当する大きさ) 離れて MHC の両端に位置する K, D 遺

伝子は、非常に多型に富んだ細胞表面抗原をコードしている。したがって、血清学的手法により迅速に K-D 間組換え体をスクリーニングすることができる。また、K-D 間には多数の遺伝子が単離同定されており、K-D 間組換え体の切断点を詳細に解析することができる。さらに、MHC だけが異なり他のバックグラウンドは同一である B10. H-2 コンジェニック系統が多数確立されており、様々な MHC ハプロタイプの効果を解析することができる。マウス MHC の近位側に位置するクラス II 領域に関しては、組換えの切断点が詳細に解析されており、切断点は任意に分布するのではなく、交配に用いた MHC ハプロタイプに依存した固有のクラスターをなして分布する（ホットスポット）ことが明らかになっている。wm7（または wm7 由来の組換え体である R209）のヘテロ接合の相手に B10. B10. A, B10. BR を用いると、Lmp-2 遺伝子近傍のホットスポットにおいて極めて高い頻度（2%）で組換えを起こす。本研究では、以下の3点を考慮して、4種類の MHC ハプロタイプを相手に wm7 のヘテロ接合を作製し組換え頻度を算出した。①B10 系統との遺伝的距離が大きい系統のうち、MHC に関しては B10 と同じ b ハプロタイプに分類されている 129 系統を用いた、バックグラウンドは B10 でない場合。②B10 と最も遺伝的距離が大きい系統の 1 つである DBA/2 系統由来の MHC を持つ B10. D2 を交配の相手とした場合。③東南アジアに広く分布する castaneus 亜種に特徴的な MHC を持つ B10. M, B10. MOL-TEN1 を交配の相手とした場合。この結果、①129 系統との交配では、B10, B10. A, B10. BR との場合と同様に K-Ab 間で高い組換え頻度を得た。また、組換えの切断点は、B10, B10. A, B10. BR と同様にほとんどが Lmp-2 ホットスポットにマップされた。このことから、バックグラウンドが B10 であることは無関係に、wm7 は Lmp-2 ホットスポットでの組換えを促進すると結論できる。②B10. D2 系統との交配では、B10, B10. A, B10. BR との場合と比較して、K-Ab 間の組換え頻度は低かった。しかし、組換えの切断点は全て、B10, B10. A, B10. BR でみられた Lmp-2 ホットスポットにマップされた。③B10. M, B10. MOL-TEN1 を交配の相手とした場合、K-Ab 間の組換え体は得られなかった。次に、B10, B10. A, B10. BR, 129, B10. D2, B10. M, B10. MOL-TEN1 の Lmp-2 ホットスポットの塩基配列と、これらの系統と wm7 のヘテロ接合がホットスポットで組換えを起こす頻度を比較した。その結果、wm7 の組換え頻度は、交配の相手のホットスポット内に存在する 57bp 反復配列の数、同じく TCTG 反復配列の数と相関がみられた。すなわち、両者とも wm7 とコピー数が一致する B10, B10. A, B10. BR, 129 では約 2% と高く、TCTG 反復配列のみ wm7 とコピー数が一致し 57bp 反復配列の数は一致しない B10. D2 では 0.3% と低くなり、ともに wm7 と一致しない B10. M, B10. MOL-TEN1 では全く組換えが起きなかった。この結果は、組換え頻度は相同染色体間での塩基配列の相同性と相関があることを示唆している。

b) MHC クラス III 領域における組換え部位の分布（吉野・嵯峨井・松本\*・白吉\*\*・城石・森脇）：マウス MHC クラス II 領域では、組換え部位は任意に分布するのではなく、

\* 進化遺伝研究部門

\*\* 遺伝実験生物保存研究センター発生工学研究室

特定のクラスターに集中して存在する。このような組換え部位のゲノム上での偏りは、MHC クラス II という領域に特異的にみられる現象なのか、それとも、他のゲノム領域でも普遍的に観察されるのかという問題は、非常に興味深い。この問題に答えるための第一歩として、MHC クラス III 領域での組換え部位の分布の解析を始めた。マウス乳ガン形成に関与する *Int3* 遺伝子、細胞間マトリクスの 1 つであるテネイシン X 遺伝子、ホルモンの合成に関わる *Cyp21* 遺伝子、血液補体成分の *C4*、*Bf* 遺伝子、精子の形態形成に関与している *Hsp70* 遺伝子、サイトカインとして働く *Tnf* 遺伝子などが存在する MHC クラス III 領域は、抗原提示に関わる細胞表面抗原をコードする遺伝子が多数クラスターをなして存在する MHC クラス I やクラス II 領域とは進化的起源が異なっていると考えられている。これまでに細胞遺伝研究部門で作出した多数の MHC 内組換え体の中から、74 個体のクラス III 内組換え体について、DNA を調製し、前述のクラス III 内に位置する遺伝子を DNA プローブとして組換え部位の分布を解析した。この結果、クラス II 遠位端からテネイシン X までのクラス III 近位端に、組換えの半分以上が集中していることが明らかになった。クラス III 近位端には組換えのホットスポットが存在するのかどうかを明らかにするため、現在、この領域をカバーする YAC クローンのスクリーニングを開始し、組換え部位のさらに詳細な分布を解析する計画である。

c) マウス減数分裂期における相同的組換え高発部位とクロマチン高次構造の解析 (水野・嵯峨井・城石・森脇): マウスの減数分裂期における相同的組換えは、ある特定の系統間の交配によって高頻度で起こることが知られている。しかも、組換えの切断点は、限定されているらしい。当研究室で同定したマウス MHC 内の相同的組換え高発部位 (*Lmp-2* ホットスポット [前 *wm7* ホットスポット]) は、約 2 kb の DNA 断片の範囲内にあることが明かとなっている。この組換えの切断点の部位特異性を決定している分子メカニズムは、いまだ不明である。そこで、このホットスポットの減数分裂期におけるクロマチン高次構造を解析することにした。材料として、マウスの精巣を摘出し酵素処理した後、精巣生殖細胞を分離して用いた。精巣生殖細胞は、減数分裂の過程を経て 1 個の精母細胞から 4 個の精子細胞になり、この間細胞の大きさが著しく変化する。したがって、対向流遠心法を用いることにより精子形成過程の段階に応じた細胞を分画することができる。この方法を用いて、マウス精巣より厚糸期精母細胞を分画し、この細胞分画から核を単離した後、*DNaseI* 高感受性部位 (*D. H. S. S.*) を解析した。その結果、*Lmp-2* ホットスポットの領域内には、*D. H. S. S.* が存在しないことが明かとなった。しかし、*Lmp-2* ホットスポットよりセントロメア側約 3 kb 付近に *D. H. S. S.* が検出できた。この *D. H. S. S.* では、組換えを促進する系統とそうではない系統に、有意な差がなかった。したがって、この *D. H. S. S.* は、組換えを促進する直接的な要素ではないことが示唆された。一方、酵母では、組換えが DNA 二重鎖切断によって開始され、その部位が *DNaseI* 高感受性部位とオーバーラップするという報告がある。しかし、酵母と我々が用いている哺乳類の解析結果とは、大きく違っており、酵母と哺乳類とは減数分裂期における組換え機構が異なることを示唆している。又、酵母では、組換えとその周辺の転写とは相関関係があるという報告がある。

哺乳類においても組換えが転写と相関関係にあるかどうか検討するため、精巣における Lmp-2 ホットスポット周辺の転写活性を調べた。その結果、転写産物は検出されなかった。今後さらなる解析を進めていく予定である。

d) B10. H-2 コンジュニック系統からの胚性幹 (ES) 細胞株の樹立III (嵯峨井・中辻\*・城石・森脇): マウスの MHC 領域には減数分裂期の遺伝的組換えが集中する4つのホットスポットが同定されている。なぜ組換えがこれらの部位に集中するのか、どのような遺伝的構造が組換え部位の決定に関与しているのかについての研究を進めている。組換え体の組換え部位の解析から、LMP2 と Eb のホットスポット周辺には中程度の反復配列 (MT-family), 4塩基の繰り返し構造, レトロウイルスの LTR 配列などの特徴ある構造が共通して存在することがわかっている。そこでこれらの遺伝的構造が組換え部位の決定に直接関与しているか否かをジーンターゲット法によって調べるため、LMP2 のホットスポットで高い組換え率を示す B10. A (R209) 系統から19のES細胞株を樹立した。さらに目的とする遺伝的構造を改変したES細胞由来のマウスを得るため、樹立した細胞株のうちから生殖系列へ移行できるものを捜してきた。ES細胞をICR系統の8細胞期胚へマイクロインジェクションしてキメラマウスを作成し、ICR系統と交配することによってES細胞株の生殖系列への移行の可否を調べた。その結果、これまでにB10. A (R209) 系統由来の3株と(R209xCBA) F1 マウス由来の1株が生殖系列へ移行できることを確認した。現在、これらのES細胞株のホットスポット周辺の遺伝的構造を改変するためのターゲットベクターを構築している。

### (3) RIM (Recombination Induced Mutation) の生成機構

a) Rim 突然変異の特定遺伝子座での誘発 (吉野・嵯峨井・城石・森脇): B10. MOL-SGR 由来の MHC 領域内組換え体では、極めて高い頻度で自然可視突然変異が生じることが観察されている。組換え体の1つであるR228系統からは、*Rim3*が生じている。Rim 突然変異の実体を明らかにするために、このR228を用い特定遺伝子座での変異の生成を試みた。2ヶ月齢のR228雌に5Gyの<sup>137</sup>Csを線源とする $\gamma$ -線を照射し、7特定遺伝子座において可視劣性変異 (*a, b, c<sup>h</sup>, d, p, s, se*) を持つPT系統と交配した。この線量により、通常のマウス雌は6週後には不妊となるが、R228でも同様であり、放射線が及ぼす妊性の低下には著しい差異は観られなかった。976頭のF1マウスを観察した結果、*se* 遺伝子座の変異を1頭得た。*se* 遺伝子座は第9染色体に位置することが知られているので、R228由来の*se* 遺伝子座とPT由来の*se* 遺伝子座を識別するために、第9染色体上にあるDNAマーカーの多型を検索した。この結果、*se* 遺伝子座の近位側のマーカーとして *D9Mit1*, *D9Mit2*, 遠位側のマーカーとして *D9Mit9* が多型を示すことがわかった。現在、これらのマーカーを用いてホモ個体の検定を行っている。さらに、*se* 遺伝子座からは遺伝子 (*Bmp-5*) が単離同定されているので、ゲノムの解析が可能である。*Bmp-5* 遺伝子をプローブとしたサザン法により、また、R228とPTとの間で多型を示し *Bmp-5* 遺伝

\* 遺伝実験生物保存研究センター発生工芸研究室

子近傍にマップされている *D9Mit8* マーカーを PCR 法により, *se* 遺伝子座変異体のゲノムを解析した. この結果, いずれの DNA マーカーも欠失していることが明らかになった. 今後, ホモ個体を用いて詳しい解析を進めていく予定である. また, この変異誘発実験の過程において, 480 頭の R228 系統を生産したが, この中から自然発生の優性毛色変異を 1 頭得た. さらに,  $\gamma$ -線照射誘発の優性毛色変異も 1 頭得ている. これらは, マウスで最も高頻度で観察される可視変異である W と表現型が類似しているため, まず, W であるのかどうかの解析を行う計画である.

b) MHC 領域内組換え体由来の *rim2* 突然変異の遺伝子マッピング (嵯峨井・城石・森脇): *rim2* 突然変異は *wm7* ハプロタイプ由来の MHC 領域内組換え体, B10. A (R201) 系統に生じた劣性の毛色変異である. この変異は親系統に比べ毛色が薄く, 早期にメラニン色素生成の低下を示す. この他の表現型として, 小眼球, 眼球喪失, 高頻度な白内障の発症などがみられる. これらの表現型は, マウス第 6 染色体上にマップされている *mi* (microphthalmia) 遺伝子座に多数得られている突然変異と非常によく似ている. *mi* 変異は, 共通してメラノサイトの欠如または異常を示すが, 他の表現型の種類や現れ方は対立遺伝子ごとに異なる. これらの中には *rim2* 変異と極めて類似した表現型を示す劣性の変異も含まれる. *rim2* 系統を MSM 系統と交配して連鎖解析を行い, マイクロサテライトマーカーを用いて遺伝子マッピングを行ったところ, *rim2* 遺伝子は第 6 染色体でなく第 13 染色体上の遺伝子座にマップされた. さらに詳細なマッピングを行ったところ, この変異遺伝子は第 13 染色体上のマーカー *D13MIT108* に強く連鎖していることが明らかになった. 今後は表現形質は類似しながら異なる染色体上にマップされる *rim2* と *mi* 突然変異の関連性や *rim2* と同じく MHC 領域内組換え体由来する他の RIM 突然変異との変異の共通性などについて解析していく計画である.

c) MHC 領域内組換え体由来マウス毛色変異 (Rim5) の分子機構の解析 (前田\*・嵯峨井・城石・森脇): MHC 領域内組換え体に特異的に発生する可視突然変異 (Recombination-Induced Mutant: Rim) で毛色変異を示す Rim5 は, C57BL/10J-Rim5 と DBA/2J 系統を用いた交配実験による遺伝子マッピングの結果, 第 2 染色体上の A 遺伝子座に連鎖することがわかった. Rim5 の表現型は腹部が黄色毛で背部が黒色毛であるが, これは, A 遺伝子座の突然変異である *a<sup>1</sup>* (black-and-tan) と類似している. 近年ポジショナルクローニングにより *Agouti* 遺伝子が単離された. この第一エクソンの一部を PCR により増幅し, これをプローブにした RFLP の解析から, Rim5 は *a<sup>1</sup>* と共に第一イントロンに約 10Kb の欠失が認められた. また, MHC の組換えに依存した同様の毛色変異にもほぼ同じサイズの欠失が認められることから, 対照の B10 マウスの BamH1 消化遺伝子断片と, これらの変異マウスの約 10Kb の欠失した 10Kb の遺伝子断片をショ糖密度勾配遠心により分離しラムダファージで遺伝子ライブラリーを作製し現在クローニングを行っている. これらの 3 系統にみられた欠失が同様の分子機構によるものか否かを明らかにするため塩

\* 三島社会保険病院

基配列を決定し欠失した領域の毛色決定の調節を解明する予定である。

d) *Rim3* 遺伝子のマッピングおよびポジショナルクローニング (榎屋・若菜・嵯峨井・城石・森脇): *Rim3* は、RIM 由来の突然変異体であり、無毛変異、角膜におけるケラチン過形成を示す。この変異遺伝子は、第 11 番染色体上の *Cola-1* 遺伝子座に連鎖することがわかっていたが、C57BL/10J-*Rim3* 系統と野生マウス由来の MSM 系統を用いた交配実験によりさらに詳細にマッピングした結果、この変異遺伝子が第 11 番染色体上の *D11Mit14* に強く連鎖すること、ケラチン typeI 遺伝子 (*Krt-1*) が、この *D11Mit14* の近傍に位置することがわかった。この情報を元に YAC のスクリーニングを開始した。

#### (4) マウス肢芽パターン形成の遺伝学的解析

a) マウス骨格異常突然変異 Tail-short (Ts) の遺伝解析 (城石・三田・森脇): マウスの骨格形成に関与する遺伝子については、これまで多数の突然変異が報告されている。この中で Tail-short は、第 11 染色体上にマップされ短尾、曲尾等の表現型を示す不完全優性の突然変異である。従来の組織形態学的分析から、この突然変異が中軸骨格系の異常であり、骨格異常の他にも貧血をはじめ造血系の異常など多面的な表現型を示すことが知られている。また、最近になって、マウス第 11 染色体と相同性 (Synteny) を持つヒトの第 17 染色体短腕上に類似した遺伝病である Campomelic dysplasia (CMPD1) がマップされ、ヒト疾患のモデル動物としても注目を集めている。これまでの他の研究室の交配実験の報告によると、Ts マウスは、遺伝的背景によってその表現型が大きく変化し、多くの実験用近交系マウスとの交配では繁殖力の低下などが認められるため遺伝解析が困難であった。今回、日本産野生マウス由来の MSM 系統と交配しその表現型を解析したところ曲尾などの表現型が認められ、さらに F1 個体の繁殖力も高いことが明かとなった。MSM 系統は、マイクロサテライトマーカー DNA を指標とした場合、近交系マウスとの間に高頻度の多型が観察される。従って、MSM 系統との連鎖解析によって Ts の染色体上の詳細な位置を確定することが可能と考えられる。現在、MSM 系統との F1 個体を近交系マウスに戻し交配した N2 個体を基にして Ts 近傍の遺伝子地図の作製を進めている。

b) *Rim4* を用いたマウス肢形態形成の遺伝学的解析 (榎屋・嵯峨井・城石・森脇): 脊椎動物の四肢の骨格は遠近軸、前後軸に沿った一定のパターンを示す。これは、それぞれの軸の位置情報源としての AER, ZPA からの情報を、*Hoxa*, *Hoxd* 遺伝子群 (それぞれ第 6 番、第 2 番染色体上にマップされる) が領域特異的な位置価として変換し、それに従って骨格の形態形成が起こるためだと考えられている。*Rim4* は、MHC 領域内組換え体由来である RIM 系統由来の突然変異体であり、後肢前側の奇形、すなわち母指側過剰指、母指骨数過多、脛骨の奇形を示す。C57BL/10J-*Rim4* 系統と DBA/2 系統を用いた交配実験により、この変異遺伝子をマッピングした結果、*Rim4* 遺伝子が第 6 番染色体上の *D6Mit16* に連鎖し、既知の多指症の突然変異とは一致しないこと、*Hoxa* 遺伝子は *D6Mit33* に連鎖し、*Rim4* 遺伝子そのものではないことがわかった。また、*Rim4* は遺伝的背景により、その遺伝子浸透度に明かな差がある。C57BL/10J-*Rim4* 系統と、実験用近交系マウスとの交配をすると、遺伝子浸透度は、NZB>B10=CBA>DBA>C3H>BALB/c>MSM

となる。この結果は、*Rim4* の表現型が他の遺伝子によって制御されていることを示している。今後さらに、C57BL/10J-*Rim4* 系統と、NZB, DBA/2, MSM 系統を用いた交配実験により、遺伝的背景（特に *Rim4* と同様な表現型を示す多血症の遺伝子座について）が *Rim4* の遺伝子浸透度に与える影響の検討を行う。また、*Rim4* の発生的解析を開始した。

#### (5) マウスゲノム解析プロジェクト

a) マイクロサテライトを用いた高密度マウス第 11 染色体連鎖地図の作成（若菜\*・城石・宮下\*\*・木南\*\*\*・米川\*\*\*\*・森脇）：今日、疾患関連遺伝子などをクローニングしようとする時、その遺伝子産物に関する情報が全くない場合でもその染色体上の位置情報を明らかにし、それをもとに原因遺伝子を単離しようとするポジショナルクローニング法が開発されてきた。この方法は疾患と密接に連鎖する DNA 多型マーカーを開発し、詳細な遺伝子地図と YAC による物理的地図を併用して遺伝子を単離しようというものである。しかし、ヒト疾患の多くは複数の遺伝子が関与するため、この方法を応用することは必ずしも容易ではない。この点、マウスにはヒト疾患モデルとなる多くの突然変異系統が存在し、任意の交配実験が可能である。従って、マウスでは病因遺伝子が複数あっても、計画的な交配実験によって個々の遺伝子を詳細に解析できる。また、染色体上の遺伝子配置にはヒトとマウス間に高い相同性 (Synteny) が存在し、もしマウスで疾患関連遺伝子がクローニングできれば、これを利用してヒト疾患遺伝子の探索が可能になる。特に、マウス第 11 染色体はヒト 17 染色体と広領域にわたって相同な部分を持つ。我々はマウス第 11 染色体上の疾患候補遺伝子解析の一步としてマイクロサテライトマーカーによる高密度なマウス第 11 染色体連鎖地図を作成した。使用したマウスは実験用近交系である DBA/2J 系統と野生マウス由来 MSM 系統間の戻し交配 (N2) 個体 254 頭であった。両系統間で多型を示すマイクロサテライトを PCR 法によってタイピングし、各マイクロサテライトマーカー間の組換え値を計算し、遺伝子座の位置関係を決定し、連鎖地図を作成した。この結果、我々が独自に開発したもの、および Eric Lander, John Todd らが開発したものを加え合計 98 のマイクロサテライトマーカーをマップした。今回作成した地図は動原体 (centromere) に最も近いマーカー *D11MIT1* から染色体末端 (telomere) 側のマーカー *D11MIT69* までの距離は 86.6 cM であり、平均 1.37 cM 間隔にマップすることができた。特に糖尿病感受性遺伝子 (*Idd-4*) がマップされている *Acrb* から *Mpo* までの 6cM の領域には 30 のマイクロサテライトマーカー、10 遺伝子座をマップすることができ、平均 0.6 cM 間隔の高密度な連鎖地図ができた。MSM 系統は従来マッピングに使用されている *Spretus* 系統 (*Mus spretus* 由来の近交系) に比べマイクロサテライトマーカーの多型は同程度であり、しかも実験用マウスとの F1 の雄に繁殖力があることからマッピングに有効な

\* (財) 実験動物中央研究所

\*\* 遺伝実験生物保存センター哺乳動物研究室

\*\*\* 新潟大学医学部第 1 生化学教室

\*\*\*\* (財) 東京都臨床医学総合研究所実験動物研究部門

系統であると考えられた。また、いくつかのマーカーにおいてその位置が報告されているものと逆転していたが、我々は単一の戻し交配の分離個体を使用したので、上記の DNA マーカーの位置が補正され、従来の地図と比べ精密度がより高い連鎖地図が作成できた。

b) マウス第 11 染色体上の平衡感覚および聴覚異常突然変異遺伝子 (Jackson shaker; *js*) のマッピング (若菜\*・城石・岡本\*\*・金田\*\*・多屋\*\*・米川\*\*・森脇): *js* マウスは首振り、旋回、後ずさりなどの行動異常を示すことにより分離された突然変異系統であり、感覚器系の組織学的検索の結果、内耳前庭およびコルチ器官に存在する外有毛細胞の感覚毛の形態に異常がみとめられることが明らかになっている。すなわち、行動異常はこの前庭の感覚毛の異常により引き起こされると考えられており、また電気生理学的検索の結果、音刺激を与えた後の聴覚神経に生じるインパルスの欠如からこのマウスにおける聴覚不全が認められた。従って、このマウスは平衡感覚および聴覚機能に障害を伴うモデル動物と考えられ、*js* 遺伝子の実体を明らかにすることによりこれらの感覚機能の分子生物学的メカニズムを解明することが可能と考えられる。*js* 遺伝子はマウス第 11 染色体テロメア側にマップされているが、我々は *js* 遺伝子のポジショナルクローニングを行う目的で大規模交配による *js* 遺伝子座近傍の詳細なマッピングを行った。まず、*js* 遺伝子を実験用マウス C57BL/6J に導入しコンジュニックマウス C57BL/6J-*js/js* と日本産野生由来近交系マウス MSM との間で亜種間戻し交配分離個体個体 534 頭を作出した。また、*js* 遺伝子座の対立遺伝子である *seal* 遺伝子をもつ C3H/HeN-*seal/seal* についても同様に戻し交配分離個体 300 頭を作出した。これら 2 種類の戻し交配による遺伝解析をマイクロサテライトマーカーを用いて行ったところ、*js* 遺伝子座については *D11MIT12*-(2.4)-*js*, *D11MIT128*-(0.7)-*D11MIT102*-(1.8)-*Es-3*, *seal* 遺伝子座については *D11MIT12*>*seal*, *D11MIT128*-(1.6)-*D11MIT102*>*Es-3* (括弧内は cM, > は遺伝的距離が未測であることを示す) の順になった。このうち、*D11MIT128* は *js* 遺伝子座間と組換え個体が全く得られなかった。この結果、*D11MIT128* は *js* 遺伝子座のごく近傍に存在していることが明らかになり、現在、*js* 遺伝子座付近の物理地図作成のためマウス YAC ライブラリーのスクリーニングを開始している。

### B-b. 微生物遺伝研究部門

微生物遺伝研究部門では、本年度は大腸菌及びそのフェージの DNA 複製機構に関する研究、及び大腸菌の細胞分裂機構に関する研究を主に行った。前者は複製開始反応における DNA-蛋白質間及び蛋白質同志間の特異的相互作用を明かにすることを目標としており、後者は細胞分裂に働いている各種蛋白質の発現及び相互作用を理解することを目標としている。

当部門の本年度のスタッフは、教授堀内賢介、助教授安田成一、助手原 弘志、助手東谷篤志の他、博士研究員東谷なほ子、外国人研究員菅 志文、研究生浅野 敏、技能補佐

\* (財) 実験動物中央研究所

\*\* (財) 東京都臨床医学総合研究所実験動物研究部門

員小野裕美子であった。

本年度の研究は、文部省科学研究費一般研究 A「複製開始域における DNA と蛋白の相互作用」(代表者・堀内)、重点領域研究“細胞複製制御の分子生物学的研究”(1)「ゲノム複製開始の制御」(代表者・吉川 寛)(堀内)、重点領域研究“ストレス応答の分子機構”(2)「ストレス蛋白質の構造と機能」(代表者・永田和宏)(堀内)、及び一般研究 C「細菌細胞の分裂隔壁形成の制御機構」(原)の支援を受けた。

研究所の共同研究制度による研究としては、「プラスミドの伝達複製の研究」(東大・大坪栄一)、「DNA-蛋白質結合領域に関する高次構造の視覚化」(上智大・廣川秀夫)、「大腸菌プラスミド、ファージの DNA 複製開始における宿主蛋白質の機能」(金沢大・山口和男)の諸共同研究を行った。

(1) 大腸菌及びそのファージの DNA 複製機構に関する研究

(a) 繊維状ファージのマイナス鎖 DNA 複製開始の制御機構(東谷(な)・菅・東谷(篤)・堀内): 大腸菌繊維状ファージ f1 のマイナス鎖 DNA の複製は、大腸菌 RNA ポリメラーゼがプライマー RNA を合成することによって開始される。本研究は、マイナス鎖合成の開始に必要なファージ一本鎖 DNA 上のシグナルとこれが大腸菌 RNA ポリメラーゼによって認識される機構について解析するものである。ファージ一本鎖 DNA のマイナス鎖複製開始領域 (origin) には、二つの安定なヘアピン構造 [B] 及び [C] をとり得る塩基配列が存在するが、これまでにプライマー RNA の合成開始点を正しく決定できたこと、及び、footprinting 法によって origin DNA への RNA ポリメラーゼの結合が  $\sigma$  因子に依存していることを明らかにしたこと等により、マイナス鎖 origin 領域と転写プロモーターに構造上及び機能上の類似性があることを示唆してきた。

この点についてより詳しく調べるために、ヘアピン構造 [B] の塩基置換変異を作成した。これらの変異については昨年度に、double-origin plasmid を用いた方法によって活性を調査したが、本年度はさらに、*in vitro* の footprinting 法を用いた origin への RNA ポリメラーゼの結合能、プライマー RNA 合成能および、*in vivo* において、これらの変異ファージが宿主菌に SOS 応答を誘発するか否かを検討した。その結果、ヘアピン [B] の一部の領域に origin 活性に必須の塩基配列が存在することが確かめられた。次に、ヘアピン [C] 領域内には AAAAA の、またその反対側にあたる鎖には TTTTT の配列が認められる。これらの配列が重要であるかを検討するために、各々 AAAAA を CCCCC に、TTTTT を GGGGG に置換した変異を作成した。詳細については解析中であるが、AAAAA の配列を換えた場合には origin 活性に影響があることが明らかになっている。

ヘアピン [B] の必須の塩基配列が存在する領域と、ヘアピン [C] 領域内に存在する AAAAA の配列は、プライマー RNA の合成開始位置を +1 とした時、各々 -35 および -10 の位置に当たり、転写プロモーターとファージのマイナス鎖複製開始領域 (origin) の類似性をさらに支持する結果となった。

(b) マイナス鎖複製開始領域の欠損変異ファージによる SOS 応答の誘発(東谷(な)・東谷(篤)・堀内): 大腸菌における SOS 応答は、RecA 蛋白質と LexA 蛋白質により制御

されている。In vitro においては、RecA が一本鎖 DNA 及び ATP との複合体を形成することによって活性化され、これが SOS 遺伝子群のリプレッサーである LexA を不活化する。我々は、一本鎖 DNA フェージ・f1 のマイナス鎖 origin 欠損変異フェージを作成し、これまでにこのフェージを感染させたときに SOS 応答が引き起こされることを、SOS 遺伝子の発現量の変動ならびに感染菌の形態の観察などから示してきた。しかしながら、これらの方法はフェージ感染後少なくとも一時間以上経過した時点で SOS 応答を測定する方法であるために、変異フェージの感染により導入された一本鎖 DNA のみによって、SOS 応答が誘発されることを示すには不十分であった。

そこで、in vivo においてフェージ感染後、より短い時間で SOS 誘発を調べる為に、抗 LexA 抗体を用いて LexA 蛋白質の切断を検出する方法を検討した。新たな LexA 蛋白質の生成を抑える為にクロラムフェニコール存在下において、フェージを感染させ LexA 蛋白質をウエスタンブロット法によって検出した。変異フェージを感染させると、LexA 蛋白質は約 10 分後から僅かに減少が認められ、40 分後には殆ど消失した。この結果は、SOS 応答を誘発する薬剤であるマイトマイシン C で処理した場合も殆ど同様であった。野生型フェージ感染菌では LexA 蛋白質レベルの減少は軽微であった。フェージ感染後、比較的短時間で LexA 蛋白質の切断が観察されたこと、更に、クロラムフェニコール存在下ではフェージがコードする複製蛋白質 gpII が合成されず、従ってフェージの二本鎖 DNA 複製が全く起こらないことから、変異フェージによる SOS の誘発は、最初に導入されたフェージの一本鎖 DNA のみによって誘発されると結論された。

本研究に使用した LexA 蛋白質は、大阪大学の小川研究室のご厚意により分与され、またその抗体は、医学生物研究所のご厚意により作成されたものである。

(c) 複製開始蛋白が及ぼす origin DNA のダイナミクスと複製開始反応 (東谷 (篤)・広川・堀内): 繊維状フェージのプラス鎖複製は、複製開始蛋白質 gpII が origin DNA を特異的に切断することで開始される。この切断反応は、2 本鎖 DNA の片鎖 (プラス鎖) だけを切断する nicking (単鎖切断) 反応である。またこの反応には、基質 DNA の負の超螺旋度を必要とする。負の超螺旋型 DNA とは、DNA の二重螺旋構造がより緩みやすい形で、その形成は宿主大腸菌の DNA gyrase と ATP に依存する。そこで、gpII の結合によって、nicking 反応に先立って、特異的な DNA の二重螺旋構造が解消 (melting) されるか否かを検討した。

方法としては、過マンガン酸カリウム (KMnO<sub>4</sub>) による一本鎖チミン塩基の修飾法を用いた。KMnO<sub>4</sub> は、DNA の二本鎖状態のチミン塩基には反応しないが、一本鎖状態のチミン塩基に特異的に反応する。実験の結果、gpII の結合は、origin DNA の nicking site を含む 5 塩基対において二重螺旋構造を melt させることが確認された。この melting 反応には、基質の負の超螺旋度を必要としたが、nicking 反応に必要な Mg イオンは不要であった。

また合成オリゴ DNA を用いた解析により、gpII は、一本鎖 DNA の特異的な配列を認識して切断する endonuclease 活性を有することが明らかになった。この活性は、120 分間

の反応で、加えた一本鎖 DNA の約 5% の分子に切断を起こした。これに対し、nicking site を含む数塩基対が一本鎖でそれに続く  $\beta, \gamma, \delta$  のリピート配列が二本鎖状の基質を用いた場合には、gpII は、先の一本鎖 DNA 切断より格段に速く数分以内に 100% nick を導入することが明らかになった。またこのときの切断点は、負の超螺旋型 DNA を基質とした場合と同じ部位であった。すなわち、nicking site を含む数塩基対が一本鎖になっていれば、もはや基質の負の超螺旋度は必要でないことが示された。以上の結果から、gpII による複製開始の nicking 反応では、gpII が結合して nicking site を含む数塩基対を melt することが必須であり、基質 DNA の負の超螺旋構造は、この gpII による melting に重要であることが明らかになった。

また昨年度までの研究により gpII 蛋白質が origin DNA に結合する際、その DNA を湾曲させることをみいだした。そこでこれまでの研究結果をまとめると、繊維状ファージのプラス鎖複製の開始反応である gpII による nicking は、以下の 4 段階を経て行われることが示唆される。(1) gpII は、origin 内の 2 つのリピート配列 ( $\beta, \gamma$ ) を含む領域に 2 分子結合し complex I を形成して DNA を約 90 度湾曲する。次に  $\beta, \gamma$  リピート配列の両外側の  $\delta$  リピート配列と nicking site を含む領域にそれぞれ 1 分子ずつの gpII が結合し、4 分子からなる活性型の complex II を形成する。(2) complex II では DNA は約 160 度から 180 度 (U 字型) 湾曲する。(3) さらに gpII の結合は、nicking site を含む数塩基対の DNA の二重螺旋構造を特異的に melt する。この melting には、基質 DNA の負の超螺旋構造が必要である。(4) 最後に gpII は、Mg イオンに依存して、melt して一本鎖状になった DNA の特定の位置に nick を入れ複製反応が開始する。このように、複製開始蛋白質 gpII が origin DNA に及ぼす高次構造変化及びその複製開始反応との関係について、可成り詳しい知見が得られた。

(d) 複製エンハンサーの塩基配列と機能の相関関係 (浅野・東谷 (篤)・堀内): 大腸菌繊維状ファージ (f1, fd, M13) のプラス鎖複製 origin は複製及び終結に不可欠なコア領域とそれに続く AT に富むエンハンサー領域からなる。エンハンサー領域には大腸菌の IHF 蛋白質が結合すると考えられる配列が 3 ヶ所 (1, 2', 2'') 認められる。エンハンサー領域あるいは IHF 蛋白質の欠損は、ファージの増殖を約 1/30 にまで低下させる。しかしながら現行の *in vitro* 複製系においては、エンハンサー領域の有無の影響は認められない。

そこで本研究では、site-directed mutagenesis 法を用いてエンハンサー領域に突然変異を導入したファージを作成し、エンハンサー領域の塩基配列と機能の相関関係について検討した。その結果、宿主が IHF<sup>+</sup> 株の場合には、1) コア領域とエンハンサー領域の間の phasing がエンハンサー機能にとって重要であること、2) エンハンサー領域内の IHF site 1 と site 2' の間の phasing が 1) と同様に重要であること、3) IHF site 1 を塩基置換により IHF 蛋白質の結合が不可能な塩基配列に変化させると複製効率がエンハンサー欠損変異 origin と同等のレベルまで低下すること、4) 塩基置換により IHF site 2', 2'' を共に、IHF 蛋白質の結合が不可能な塩基配列に変化させると、3) と同様に複製効率が低下すること、5) IHF site 2' のみを 3) と同様に変化させると、複製効率は低下するがエンハンサー欠

損変異 origin のレベルまでは低下しないこと、6) IHF site 2" のみを同様に变化させてもさほど影響がないこと、7) IHF site 2', 2" を共にコンセンサス配列に一致させても、強い影響が見られないことが明らかになった。また 8) 宿主が IHF<sup>-</sup> 株のときにはどの変異 origin の場合においても複製効率同等であった。

以上の結果と、IHF 蛋白質は DNA に結合し DNA を屈曲させることを考えあわせると、現時点では、IHF 蛋白質が IHF site 1 に結合して DNA を屈曲させることにより、コア領域に結合する複製開始蛋白質と IHF site 2', 2" を含むエンハンサー領域に作用するなんらかの因子とを相互作用させて、複製エンハンサーを機能させているのではないかと考えられる。

(e) 大腸菌イニシエーター DnaA 蛋白質の熱安定化機構 (安田): 昨年までに我々は、大腸菌の複製開始蛋白質 DnaA が、熱ショック蛋白質 DnaK と複合体を形成することによって熱に対して非常に安定になることを見だし、このことが、ある種の *dnaK* 変異株が高温では染色体の複製の開始が出来ないという *in vivo* での現象の分子レベルでの根拠である可能性を指摘した。この DnaA の活性の測定には *dnaA* 変異株からの粗酵素抽出液による *oriC* DNA の複製反応を用いたが、DnaA の熱に対する安定化には DnaK だけでなく、この粗抽出液中の成分が関与している可能性が考えられた。そこで本年はこの点を明らかにすることを目的として研究を行った。DnaA の活性を *oriC* DNA との特異的複合体形成能で測定したところ、粗抽出液による複製反応で測定したときのような熱に対する高度な安定性は観察されなかった。このことは DnaA の高い熱安定性のためには DnaK のみでは不十分で、粗抽出液中の成分が必要であることを示す。この成分 (以下再活性化因子と呼ぶ) は既知の熱ショック蛋白質のいずれかであることが考えられるが、入手可能な大腸菌の熱ショック蛋白質、DnaJ, DnaK, GrpE, GroEL/ES のいずれによっても、およびこれらの組合せによっても再活性化因子の代用は出来なかった。粗抽出液中での再活性化因子の活性測定法を確立してこのものの性質を調べたところ、その働きには ATP は不要であるが、Mg イオンが必要であることがわかった。また、この因子は DEAE セルロースに吸着し、0.15 M の塩で溶出される。現在この因子の精製を行っており、その本体と作用メカニズムを明らかにする予定である。

## (2) 大腸菌の細胞分裂に関する研究

(a) ペニシリン結合蛋白質 3 の構造遺伝子 *ftsI* のプロモーター (原・堀内): ペニシリン等  $\beta$ -ラクタム抗生物質の主たる致死標的となっている大腸菌のペニシリン結合蛋白質 3 (penicillin-binding protein 3, PBP3) は、細胞分裂隔壁部分のペプチドグリカン合成する酵素として働く細胞質膜蛋白質であり、染色体地図上約 2 分の位置にある *ftsI* 遺伝子にコードされている。この 2 分近傍の領域には、*ftsI* を含め細胞分裂に働く遺伝子 (*ftsLWQAZ·envA*) やペプチドグリカン合成系の遺伝子 (*murEFDGC·mraY·ddl*) が大きなクラスターをなしている。

この *ftsI* 遺伝子の内部の大部分をクロラムフェニコール耐性遺伝子と差し替えた欠失/挿入変異 ( $\Delta$ *ftsI::cat*) を染色体上に作ったところ、それを単一コピーのミニ F プラスミド

で相補するには, *ftsI* とその上流約 2kb を含む染色体断片をクローン化することが必要であった. *ftsI* の上流 1.9 kb 付近に,  $\sigma^{70}$  をもつ RNA ポリメラーゼの認識する転写プロモーターのコンセンサス配列によく似た塩基配列があるので, その部分 40bp だけをじかに *ftsI* 遺伝子に繋いでみると, 確かに単一コピーで  $\Delta$ *ftsI::cat* 変異を相補した. この 40bp をミニFプラスミド上でプロモーターのない *lacZ* 遺伝子に繋ぐことにより, プロモーター活性を検出することができた. 放射性ペニシリンを用いた PBP アッセイでも, *ftsI* 遺伝子をこのプロモーターの制御下に持つミニFプラスミドを含む菌株でのみ十分量の PBP3 の合成が検出された.

このプロモーターの制御下で, *ftsI* 遺伝子とその上流の *ftsL(mraR)* 遺伝子・35 kDa 蛋白質の遺伝子・456 bp の読み枠はオペロンをなしていることになる. これらとその下流に続く一群の遺伝子はすべて同じ向きに殆ど隙間なく並んでおり, 転写終結配列として認められるのはこのクラスターの最後の *envA* 遺伝子のすぐ下流にあるものだけである. *ftsI* 遺伝子の上流 1.9 kb にあるプロモーターに始まる転写が *envA* まで約 18 kb にわたって進むのかもしれない. 染色体上のこのプロモーターを破壊して, かわりに *lac* プロモーターを挿入した菌株 (*mraP::lacP* 変異株) では, 培地から *lac* 誘導物質 IPTG を除くと溶菌した. この欠損は, *ftsI* の上流 1.9 kb のプロモーターから *ftsI* の下流の 2 つの遺伝子 *murE*・*murF* までを含むミニFプラスミドでも相補されなかった. 少なくとも *murF* まではこのプロモーターに依存して発現しているらしい. *mraP::lacP* 変異を相補するのにどれだけの範囲の染色体断片が必要かを検討している.

(b) *prc* 欠失変異株の高温感受性をサプレスする *sprA* 変異 (原・安部・西村\*・堀内): *prc* は, PBP3 の成熟過程で C 末端 11 残基を切除するプロセシング反応を行なうプロテアーゼの構造遺伝子であり, *prc* 欠失変異株は低浸透圧条件下で高温感受性を示す. この高温感受性をサプレスする変異を多数分離したが, *ftsI* 遺伝子に変異の生じたものはなかった. そのうちのひとつ *sprA* を取り上げて調べたところ, *prc* 変異から離して単独にすると再び低塩濃度培地で高温感受性を示し, *sprA* 遺伝子も浸透圧や温度のストレスに対する防禦に重要な働きをしていると考えられた. *sprA* 変異は染色体地図上約 47 分に位置することがわかったので, 整列コスミド・コレクション (Tabata *et al.* (1989) J. Bacteriol., 171, 1214) から, 高温感受性を相補する野生型 *sprA* 遺伝子をサブクローン化した. この遺伝子の 3' 側の一部はすでに塩基配列が決定されており, その部分を調べてみると, 遺伝子産物の C 末端部分が PBP5 や PBP6 の C 末端部分と高い相同性を示した. 放射性ペニシリンを用いた PBP アッセイで, *sprA* 遺伝子をクローン化したプラスミドを含む菌株は分子量約 27 kDa のマイナーな PBP を過剰生産することがわかった. プラスミド上の *sprA* 遺伝子を削って高温感受性を相補できなくなると 27 kDa の PBP の生産もなくなったので, これが *sprA* 遺伝子産物だと考えられる. *sprA* 遺伝子の働きや *prc* 変異をサプレスする仕組みを調べるため, *sprA* 変異遺伝子の解析を進めている.

\* 東邦大学・理学部

(c) 細胞が鎖状に繋がる変異株 PM61 (原・成田\*・西村\*・堀内): PM61 株は、分裂隔壁の形成と隔壁形成後の細胞の分離に異常があり、さまざまな長さの細胞が幾つも繋がった鎖状になる *envC* 変異株として J. Starka らによって分離された。Starka らにより *envC* 変異が *cysE* 遺伝子 (81.6 分) のごく近くに位置することが示されている (Karibian *et al.* (1985) FEMS Microbiol. Lett., 27, 319) ので、これを利用して PM61 株と野生株 (W 3110 株) との間で P1 形質導入実験を行なったところ、*cysE* と非常に高い同時形質導入頻度を示す変異 (*envC*) だけでは正常よりすこし長くなった細胞が 2~3 個繋がったものが見られるだけで、典型的な PM61 株の形態を示すには、*envC* とともに、*cysE* とはかなり低頻度でのみ同時形質導入される第二の変異も必要であることがわかった。この第二の変異は単独では細胞形態に異常を引き起こさなかった。PM61 株の親株である P678 はすでに第二の変異を持っていた。PM61 株はさらに *prc* 遺伝子内に挿入配列 IS4 を含んでいるが、この変異は、浸透圧や温度のストレスがない限り細胞形態には殆ど影響しない。

さて最近、*envC* 遺伝子をクローン化し、整列ラムダファージ・コレクションとの対応からその染色体地図上の位置を 73.3 分とした報告があった (Klein and Plapp (1992) J. Bacteriol., 174, 3828) が、この位置では明らかに Starka らの *envC* とは別物である。*envC* 変異株がクリスタルバイオレットに感受性となることを利用して、この感受性を相補する染色体断片をクローン化したところ、*cysE* 遺伝子から僅か 5 kb 程離れた部分の DNA 断片が得られた。この断片は、*envC* 変異が単独あるいは第二の変異とともに示す細胞形態の異常も矯正したので、これこそ真の *envC* 遺伝子だと考えられる。

### B-c. 細胞質遺伝研究部門

1) cdk (サイクリン依存性キナーゼ) の活性調節機構 (安田): 今年度は哺乳類細胞の増殖制御機構におけるサイクリン依存性キナーゼの役割に関連し、このキナーゼの活性制御機構に焦点をあてた。

サイクリン依存性キナーゼのうち *cdc2* キナーゼはその活性が磷酸化により制御されている可能性が示唆されてきている。哺乳類細胞の *cdc2* キナーゼの場合 3ヶ所の磷酸化、即ち N 末から 14 番目のトレオニン残基 (14-T)、15 番目のチロシン残基 (15-Y)、161 番目のトレオニン残基 (161-T) の磷酸化、がこの活性制御に寄与していると考えられている。そこでこれらの部位を磷酸化、脱磷酸化する酵素を検討した。

分裂酵母の *wee1* 変異を相補する遺伝子として単離されたヒト *wee1* 遺伝子産物を大腸菌で発現させその活性を検討した。その結果この大腸菌発現ヒト *wee1* 産物はエノラーゼのチロシン残基を磷酸化するキナーゼ活性を有していた。しかもこのヒト *wee1* は *cdc2* キナーゼの 14-T、15-Y を含む合成ペプチドを磷酸化できた。この磷酸化はチロシン残基にのみ起こりトレオニン残基には起こらなかった。さらにこの *wee1* キナーゼは *cdc2* キナーゼ・サイクリン B 複合体を基質にし 14-Y を磷酸化した。このようにヒト *wee1* キ

\* 東邦大学・理学部

ナーゼはチロシンキナーゼであり cdc2 キナーゼの 15-Y を磷酸化する酵素であることが明かとなった。一方、14-T の磷酸化酵素については継続して検討中である。一方この 14-T、15-Y が磷酸化された cdc2 キナーゼ・サイクリン B 複合体はキナーゼ活性が検出されない。酵母の磷酸化 15-Y を脱磷酸化する遺伝子変異 cdc25 を相補する遺伝子として単離されたヒト cdc25 遺伝子はこの 15-Y を脱磷酸化する酵素遺伝子として期待された。このヒト cdc25B 遺伝子産物を大腸菌で発現させその脱磷酸化酵素活性を調べた。その結果この酵素は磷酸化 cdc2 キナーゼ・サイクリン B 複合体を脱磷酸化し酵素活性を回復させた。この時この酵素は磷酸化 14T, 15Y, 161-T のうち 14-T, 15-Y を脱磷酸化し、キナーゼ活性を回復させたが 161-T は脱磷酸化しなかった。即ち、ヒト cdc25B 遺伝子産物は cdc2 キナーゼを脱磷酸化することによって活性化するトレオニン、チロシンホスファターゼであり、しかも基質特異性が高いものであることが明らかとなった。

161-T の磷酸化は上記したことからわかるように酵素活性を不活化することにはなかった。逆にこの磷酸化はこの酵素の活性に必須なことが明かとなり、我々はこの哺乳類の酵素としてマウス CAK (cyclin dependent kinase activating kinase) 遺伝子を単離し、

2) 日本、および近隣地域の野生マウス集団の遺伝的的特性の解明(米川): 日本産野生マウス *Mus musculus molosinus* は中国の中・北部に分布する野生マウス亜種 *M. m. musculus* と東南アジア、中国南部などに分布する亜種 *M. m. castaneus* が日本列島で交雑することによって、集団として成立したものと考えられている。この成立過程には日本列島へのヒトの移動が重要な役割を果たしたことが強く示唆されている。この過程をより詳細に検討するため世界各国から採集した野生マウスの mtDNA の複製開始点 (D-loop) の全領域の塩基置換を指標にし、それぞれの亜種に含まれる亜集団の構造、すなわちそれぞれの亜種での地理的および進化学的微細構造を明らかにした。昨年度までに行った 87 頭に加え、今年度新たに 28 頭の解析を行った。

その結果、昨年度報告した結果の正しいことが確認できた。すなわち、*musculus* 亜種については、日本の亜集団は韓国、中国東北部、ロシアの極東地域のもと同じクラスターに属する。中国のものは、先に述べた東北部の亜集団の他に中西部に存在する亜集団があるという点である。一方、*castaneus* 亜種についても、日本の集団は東南アジアの一部の集団とクラスターを形成すること、また日本の集団は中国華南のものとは明らかに異なることという点である。

更に、今年度明らかになった点は、①これらの亜集団を含むクラスターの外部にロシアコーカサス地方、および東欧の集団が位置すること、および②日本の集団は 2 つの亜集団から成り立ち、その一方と韓国、中国東北部の集団がクラスターを形成することである。また、上記の *musculus* 亜種同様、日本の *castaneus* 型集団も 2 種類に分かれ、一方の集団は東南アジアの一部とクラスターを形成し、もう一方の集団はロシア沿海州のものと同くクラスターを形成することが明らかになった。これらのことから、日本列島に棲息する *musculus* 型、*castaneus* 型集団とも、日本には少なくとも 2 度に分かれて侵入してきた可能性が強いことが示唆された。

現在解析を進めている mtDNA の D-loop 領域は、塩基置換と共に塩基の欠失、挿入がしばしば観察される。今回までの解析で、我々はマウスの mtDNA の D-loop 領域に 74-82 塩基対の長い挿入を持つ個体を 10 個体発見した。このうちの数頭では重複を持つ mtDNA と正常な mtDNA がヘテロプラズミーの状態にあることが判明した。塩基配列の比較から、この挿入は tandem repeat 型の重複によりできたことが分かった。しかもこの重複は *musculus* 亜種と *castaneus* 亜種の両方に存在していた。またこの重複部分の塩基配列を見ると、いずれも 2 ないし 3 塩基対の置換が見られたことから、これらの重複はかなり古く起こっていることが示唆された。しかしながら、系統樹の上ではいずれもが同じクラスターに属しておらず、散発的に存在することが分かった。現在、これらの重複した mtDNA をもつマウスの集団内の頻度を調べるために、全ての個体についての PCR による解析を行いつつある。

## C. 個体遺伝研究系

### C-a. 発生遺伝研究部門

当研究部門は、日本産チクビヒドラ (*Hydra magnipapillata*) を用い、動物発生の基本原理の研究をすすめている。

ヒドラは単純な体制と強い形態形成力を持ち、発生機構の研究のための理想的モデル小動物である。日本全国各地の池沼からチクビヒドラ野生系統を多数採集し、近交々配を行わせ、発生過程上に様々な異常を示す突然変異系統を多数分離し、これらの系統を利用してヒドラの発生機構、特に上皮組織の形態形成と間幹細胞 (interstitial stem cell) の増殖・分化の制御機構の研究を進めている。

本年度の教官メンバーは杉山 勉教授、藤沢敏孝助教授、清水 裕助手、服田昌之助手の 4 名である。清水 裕助手はカリフォルニア大学アーヴァイン校発生生物学センターでの在外研究を終えて平成 5 年 7 月に帰国した。

大学院生としては総合研究大学院大学生命科学研究科藤沢千笑は前年度に続いて間幹細胞集団の研究を行った。村手源英は平成 5 年 7 月より新潟大学医学部へ受託大学院生として派遣され、ヒドラ組織の電子顕微鏡観察を開始した。岸本康之はヒドラ解離細胞再集合体の形成に関与する糖鎖結合蛋白分離プロジェクトを行った。東京水産大学からの受託研究生王 文樵 (中国留学生) は造礁サンゴの刺胞カプセルを構成するミニコラーゲンの遺伝子解析を行った。

他に技術課所属杉本典夫、研究補佐員増島育子、パートタイマー渡辺たつこの、川原昌子が補助業務に従事した。

1) ヒドラ細胞接着機構の解析 (服田, 岸本, 村手, 杉山): 多細胞動物の形態形成は細胞集団の協調的な変形と運動によって成り立つ。このことから、細胞運動と細胞間のコミュニケーションを細胞レベルおよび分子レベルで記載することが、形態形成機構の解明の基礎として重要となる。

細胞レベルの解析としては、細胞の運動性や接着性の潜在的性質を可視化するためのアッセイ系を確立することが挙げられる。ヒドラは非常に強い再生能力を有しているため、一旦単細胞にまで解離しても再集合塊を作って完全な個体にまで再生させることができる。そこで、外胚葉と内胚葉をそれぞれ単細胞か細胞塊に解離して、その組み合わせを変えて細胞群の接着性と運動性を観察した。単細胞にまで解離した細胞どうしでは外胚葉細胞どうしまたは内胚葉細胞どうしは接着したが異なる胚葉の細胞間では接着しなかった。ところが一方が単細胞でも他方が細胞塊だと異なる胚葉の間でも接着がみられた。さらに、異なる胚葉の細胞塊どうしでは外胚葉細胞塊が内胚葉細胞塊を包み込む。以上のようなアッセイ系が確立できたので、それぞれの細胞群の行動を阻害する抗体を得ることによって、関与する分子を同定する試みを開始した。

平行して、脊椎動物で形態形成に重要であることが知られている細胞接着分子について、それらの相同遺伝子のクローニングも進めてきた。PCR法によってこれまでに、カドヘリンに似た遺伝子断片2種類、 $\beta$ -カテニンとインテグリン $\beta$ 鎖の相同遺伝子断片各1つを得ている。いずれもヒドラRNAに対するノーザンプロットで明瞭なバンドを検出したので、cDNA全長のクローニングを行なっている。前年度まで日本学術振興会招聘研究員として当部門に参加していた E. Hobmeyer 博士との共同研究によって、 $\beta$ -カテニンについてはcDNA全長のクローニングと塩基配列の決定が終了した。

また細胞や組織の微細形態を電子顕微鏡で観察するために、新潟大学医学部の岩永ひろみ博士と共同研究を継続している。

ヒドラ幹細胞の維持機構II(藤沢): ヒドラの幹細胞を上皮ヒドラ(幹細胞系譜の細胞を全て欠失し、上皮細胞のみからなるヒドラ)に導入すると、大多数の幹細胞は生存できず死滅する。しかし、神経細胞が存在すると、導入した幹細胞は死なずに増殖する事が出来る。この事から幹細胞の生存には神経由来の因子が必要である事が示唆された。そこで、本研究では(1)幹細胞の生存・増殖を維持する神経因子の本体は何か、(2)幹細胞はどのような機構で死ぬのかを明らかにする事を目的とした。

幹細胞を導入した上皮ヒドラを正常ヒドラのメタノール抽出物で処理すると、幹細胞は死なずに増殖する事を見だし、この活性を示す分子の精製を試みた。メタノール抽出、遠心による分画及びセファデックスG-10カラムでの分画で約2,000倍の精製が可能である。この部分精製標品を用いて、性状解析を行ったところ、ヒドラの神経細胞由来のペプチド(11個のアミノ酸よりなる)Head activator(HA)(Schaller and Bodenmueller, 1981)の性状と酷似していた。そこで合成HA(Schaller博士提供)が幹細胞の生存・増殖を維持するか否かを調べたところ、 $10^{-12}$ Mの濃度で活性が見られた。ヒドラ由来の別の神経ペプチド、RFamideには活性はない。以上の事から、神経由来の幹細胞維持因子はHAそのものか、あるいは類似した神経ペプチドであると結論した。

導入した幹細胞が上皮ヒドラの組織内でどのような死に方をするのかを調べるため、幹細胞を予めBUdRで標識し、時間を追って標識幹細胞の運命を追跡した。導入後、6時間ですでに標識幹細胞が上皮細胞にファゴサイトーシスで取り込まれ、12時間でその数は

増加し、24時間で減少した。定量化は出来ていないが、幹細胞の少なくとも一部（おそらく大部分）は上皮によるファゴサイトーシスによって除かれる事が分かった。このことは即ち、幹細胞維持因子の飢餓による細胞死（アポトーシス）が起きていると考えられる。

(3) ヒドラ体幹部の形はどんな因子によって決まるか？（清水）：本研究の対象はヒドラの体幹の形である。成体ヒドラは、円筒状の体幹とその両端の頭部・足部からなる。体幹の形は出芽によって生じた新しい個体では純粋な円筒形だが成熟するにつれて中央やや下が最も太く両端が細い形へと変化する。この形ができる過程で外胚葉が支配的な役割をすることが外胚葉/内胚葉キメラを用いた研究により明らかにされている。しかし、その具体的なメカニズムは不明である。我々は、ヒドラ体幹の形の形成と上皮細胞の分裂の方向性の間に関連がないかを調べるために以下の実験を行った。

上皮細胞に焦点を合わせるためにキメラ系統（Chim-B1）を25℃で10日間飼育し、温度感受性の間細胞系譜を除去し上皮細胞のみからなるヒドラを作成した。Feulgen法を用いて染色体を可視化し、分裂中期、後期の凝縮した染色体を基に各々の細胞について分裂方向を測定した。また、分裂中の細胞の全体に占める割合を基に分裂頻度を計算した。

細胞分裂頻度は概して体幹中部が柄部と比べて高くなった。部位による顕著な違いは認められなかった。以上の傾向は、外胚葉、内胚葉に共通であった。一方、細胞分裂方向では外胚葉で興味深い傾向が認められた。頭部に近い体幹が一般に細い部分では体軸方向への分裂比率が高いのに対し、下部の太い部分ではその傾向は弱く、代わりに円周方向への分裂比率が高かった。以上の結果を解釈するに、体幹の形の変化が、外胚葉上皮細胞分裂方向の部域差によって生じた可能性が考えられる。しかし、ヒドラ体幹上皮細胞は分裂により成長する一方、芽体、触手の形成によって消費されるために細胞分裂方向だけで議論するのは早計である。そこで上記の可能性をさらに検討するために、細胞の移動、成長状況の測定を行い、その結果をもとにコンピューターシミュレーションを行った。その結果、体幹の形は純粋な円筒形から出発して最終的に成熟したヒドラの体幹の形とよく似た形へと変化した。この結果は、体幹部の形態が外胚葉上皮細胞の分裂方向の部域差が原動力となって生じる可能性を改めて支持する。

### C-b. 形質遺伝研究部門

当研究部門では、ショウジョウバエ、カイコ等を用いて遺伝子発現制御と発生および发育遺伝学の研究を行っている。本年度の研究には、教授広瀬進、助教授村上昭雄、助手湊清、山田正明、遺伝実験生物保存研究センター助手上田均、遺伝情報研究センター助手林茂生、日本學術振興会特別研究員太田力、孫冠誠、総合研究大学院生命科学研究所大羽玲子、李豊倩、村田武英、岡田浩一、布施直之、小林正友、影山裕二、名古屋大学大学院理学研究科八木克将が参加した。技術課職員深瀬与惣治および、研究補佐員として高田佑子、植松こづえ、渡辺たつのが研究を支援した。また、広瀬は「フィブロインのH鎖、L鎖遺伝子の同調的発現機構の解析」（代表者：東北大学農学部水野重樹）、LECラットにおける肝炎・肝癌発症機構の解明」（代表者：秋田大学医学部寺田邦彦）を、村上は「動物種の成

長様式についての遺伝学および生理学的比較研究」(代表者: 国立予防衛生研究所吉田高志), 「昆虫における老化指標の確立と寿命を規定する遺伝子の探索」(代表者: 東京医科歯科大学米村勇), 「画像解析によるカイコのマユの測定とその品種分化に関する研究」(代表: 北海道大学農学部中田徹)を組織し, 共同研究を行った。さらに, インドマイソール大学動物学科 G. Subramannya 博士が数カ月滞在し, 村上と共同研究を行った。

本年度の研究は, 文部省科学研究費重点領域研究“染色体構造”(1)「染色体ドメインの機能構造」(広瀬), 重点領域研究“DNA 結合蛋白質”(1)「蛋白質・DNA 複合体の構造」(広瀬), 重点領域研究“遺伝子制御ネットワーク”(2)「昆虫の変態期にホルモンによって誘導される転写因子のネットワークの解析」(上田), 重点領域研究“遺伝子制御ネットワーク”(2)「ショウジョウバエの器官形成を制御する転写制御因子」(林), 国立遺伝学研究所特定研究「染色体の機能サイクル」(広瀬, 上田), 国立遺伝学研究所特定研究「発生工学」(林), 総合研究大学院グループ研究「転写装置における蛋白質分子間コミュニケーション」(広瀬)の支援を受けた。

広瀬は第2回アジア転写会議(1月, 韓国済州島)と第58回コールドスプリングハーバーシンポジウム(6月, アメリカ合衆国コールドスプリングハーバー)に, 林は第34回ショウジョウバエ研究会(3~4月, アメリカ合衆国サンディエゴ)に参加し, 発表した。

#### (1) DNA の高次構造と真核生物の遺伝子発現調節

(a) 真核生物の DNA 超らせん化因子に関する研究(小林・林・岡田・太田・広瀬): 超らせん化因子は DNA トポイソメラーゼ II と共役して DNA に負の超らせんを導入するタンパクである。初めカイコから精製され, cDNA がクローニングされたが, 現在ではネマトーダ, ショウジョウバエ, マウスからもホモログがクローニングされている。この因子は分子内に5つの EF バンドドメインをもち, 実際に  $\text{Ca}^{2+}$  を結合する。われわれは, カイコから精製した超らせん化因子や, 大腸菌で発現したショウジョウバエの超らせん化因子による超らせん導入活性がホスファチジルセリンによって活性化されることを見出した。ホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンは効果が無かった。ホスファチジルセリン存在下の反応は, 7.5 mM の  $\text{MgCl}_2$  の他に 10  $\mu\text{M}$  以上の  $\text{CaCl}_2$  を必要とし, 100  $\mu\text{M}$  の EGTA で阻害された。これらの結果は, 超らせん導入活性が  $\text{Ca}^{2+}$  によって制御されていることを示唆している。

(b) 真核生物の遺伝子発現調節(大羽・半田・広瀬): 生体内で活発に転写されているクロマチン領域ではヒストンがアセチル化されている。そこで, HeLa 細胞からアセチル化されたヒストンと通常のヒストンを調製し, これらを用いて *in vitro* で再編成したクロマチンを鋳型としてアデノウイルス後期主要プロモーター, ショウジョウバエ *Hsp70* 遺伝子, マウス *c-Fos* 遺伝子の転写について解析した。アセチル化したヒストンを用いた場合でも通常のヒストンを用いたときと同様に, ニクレオソームを形成した DNA では転写が抑えられた。この結果は, ニクレオソームを形成した DNA から転写を開始させるためにはヒストンのアセチル化だけでは不十分であることを示している。

アデノウイルス後期主要プロモーターは超らせん DNA 上で高い転写活性を示す。一方

ショウジョウバエ *Hsp70* 遺伝子では DNA の超らせんにかかわらず、高い転写活性がみられた。アデノウイルス後期主要プロモーターからの転写が超らせん DNA 上で高い活性を示すのは、基本転写因子 TFIID のプロモーターへの結合が鑄型 DNA の超らせんにより促進されるためである。TFIID は TATA ボックス結合因子 (TBP) と TBP に強く結合している一群のタンパク TAF から成る複合体であるが、われわれは TBP の TATA ボックスへの結合が DNA 2 重鎖の巻き戻しを伴うことを見出し、そのため TBP は負の超らせんをもつ DNA に高い親和力をもつことを明らかにした。ただし、この 2 重鎖の巻き戻しはらせんのピッチがゆるむだけで、2 重鎖の開裂は伴わない (Tabuchi, H. *et al.*, 1993, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **192**, 1432-1438)。

(2) 転写因子 FTZ-F1 の研究

(a) FTZ-F1 の研究 (村田・上田・広瀬): ショウジョウバエ *fushi tarazu* 遺伝子の転写活性化因子として見出された FTZ-F1 は *fushi tarazu* 遺伝子が発現していない幼虫や蛹にも脱皮の直前に一過的に存在する。*Hsp70* 遺伝子プロモーターの下流に FTZ-F1 の cDNA を連結し、P エレメントを用いてショウジョウバエ個体に導入した。こうして得られたトランスジェニックフライに熱ショックをかけ、本来 FTZ-F1 を発現していない時期に強制発現させると脱皮できずに死ぬ。この結果は、FTZ-F1 が脱皮に関わる遺伝子の転写調節にあずかっていることを示唆している。

(b) BmFTZ-F1 の研究 (孫・李・上田・広瀬): ショウジョウバエの FTZ-F1 に相当するカイコの因子 BmFTZ-F1 について、幼虫や蛹における発現をノーザンハイブリダイゼーション法で解析した。その結果、BmFTZ-F1 遺伝子は、後部および、中部絹糸腺や脂肪体で、脱皮の直前に一過的に発現されることが判った。本来 BmFTZ-F1 mRNA がほとんど検出されない 5 令 3 日目の幼虫にエクダイソンを注射すると、24 時間後に発現が誘導された。さらに、5 令幼虫から摘出した後部絹糸腺をエクダイソン存在下に培養すると BmFTZ-F1 mRNA の発現は誘導されないが、6 時間培養後、エクダイソンを除いてさらに 6 時間培養すると発現の誘導がみられた。これらの結果は、BmFTZ-F1 遺伝子がエクダイソンに触れた後、ホルモンが消失することによって誘導されることを示している (Sun, G. C. *et al.*, *Dev. Biol.*, in press)。

*fushi tarazu* 遺伝子の *in vitro* の転写は、遺伝子上流に存在する FTZ-F1 認識配列に BmFTZ-F1 が結合することによって活性化されるが、この活性化には BmFTZ-F1 以外に DNA 非結合性のメディエーターが必要である。われわれはカイコ後部絹糸腺からこのメディエーター (MBF1 と MBF2) を精製し、その性質を調べた。MBF1 は MBF2 とヘテロダイマーを形成し、BmFTZ-F1・DNA 複合体を安定化する。さらに MBF1 は TBP (TATA ボックス結合因子) とも直接結合することが判明した。これらの結果に基づき、BmFTZ-F1, MBF1, MBF2, TBP を介して FTZ-F1 認識配列と TATA ボックスの間に安定なブリッジが形成され、転写が活性化されるというモデルを提唱した (Li, F. Q. *et al.*, *Mol. Cell. Biol.*, in press)。

## (3) その他の共同研究

(a) 植物の TATA ボックス結合因子による塩基配列の認識 (山崎・広瀬): シロイヌナズナもしくはヒトの TBP を含む *in vitro* 転写系において, TATA ボックス内に点突然変異をもつ 24 種の変異型 DNA と野生型 DNA の転写活性を比較した. シロイヌナズナとヒトの TBP を用いた場合で, 塩基配列の認識にはほとんど差がなかった. TAGAGATA と GAGAGAGA 配列をもつ DNA は全く転写活性を示さず, 他の変異型 DNA は野生型 DNA の 7%~130% の転写活性を示した (Mukumoto *et al.*, 1993, *Plant Mol. Biol.*, 2, 995-1003).

(b) フィブロインの H 鎖, L 鎖遺伝子の同調的発現機構の解析 (水野・広瀬): カイコ後部絹糸腺由来の *in vitro* 転写系では, フィブロイン H 鎖遺伝子は転写されるが, L 鎖遺伝子は転写できないため, 本研究の進展に障害となっていた. しかし, 後部絹糸腺抽出液に HeLa 細胞核抽出液を加えることにより, L 鎖遺伝子も効率良く転写できるようになり, 実験の準備が整った.

(4) 生長に関する遺伝学的研究—カイコの生長期間と生長速度 (村上): 本昆虫種の精卵核の合体から死にいたる—生涯は地理的集団 (品種), 系統によってかなりの巾があり, 45 日間前後から 2 ヶ月弱である. 一般に精卵核の合体から胚, 幼虫期を経て蛹期 (成虫の羽化) までがいわゆる生長期で, 成虫の羽化からその死までを成熟期あるいは老化期と分類される. われわれは生長事象について発育遺伝学的観点から分析を進めているが, これまでにえられている研究結果に基づいて, 本年度新たに実施した実験からえられた 2・3 の知見について報告する.

当生物事象は地理的品種, 系統, 性などによってその遅速, 期間の長・短の差異が明瞭に認められ, 遺伝的に制御されていることを明かにしてきた. 実験はこれまでに選抜した生長期間並びにその速度について, その顕著な形質を有する系統を対象に標準温度 (25°C) の条件で実施した. 一般に 4 回脱皮 ( $m^4$ ) 型の熱帯種の生長期のその期間, 生育速度は温帯種に比べて短か (早) く, 10 日間前後の差異がある. しかし,  $m^4$  性の温帯種の中にも, 熱帯種と同様に生長期間が平均値から 3~4 日短かい系統 (金色, 浙江, 大造など) が検出されている. なお, 雌の生長期, 生長の遅速にかかわらず, いづれの地理的系統においても, 雄のそれに比して 1~2 日間長く, その性差は第二次性徴の一つと考察している.

平均的生育期間の温帯種 (J106 系統など) の雌個体に, 生育期間の短かい熱帯種 (カンボジュ系統) の雄個体を交雑した場合, その逆交雑とは異なって, その次世代の雄個体の羽化は温帯種の雌親のそれと同じか多少早くなった程度であったが, 雌成虫は雄よりも 2~3 日程早く現われた. また,  $m^4$  温帯系統の生長期間の短かい系統においても全く同様の傾向のある事実を確認でき, これら一連の実験結果から, 地理的集団 (品種) とは関係なく, カイコには早い生長速度で生長期間を短縮する劣性の遺伝子が X (Z) (性) 染色体上に存在することが明らかになった. したがって, 当然のことながら, 大多数の温帯種の X 染色体には生長速度を低下させ, 生長期間を延長する優性遺伝子の占有することが推論された. ここで興味あることに, 生長期間短縮型の雄を温帯種系統の雌に交雑し, その結果え

られた  $F_1$  幼虫の生長期間は性にかかわらず、短縮型の形質を示し、生長速度を早める因子が優性的に機能することが観察された。この事実は生長速度を制御する X 染色体上の遺伝子はファミリーを形成し、発育段階毎に特異的な因子が発育プログラム順に発現する可能性を示唆する。生長速度を律する遺伝子が発育段階によって優劣の作用機作を異にするこの複雑な実験結果のもう一つの説明として、性染色体構成が雌ヘテロの ZW 型の本昆虫種において、雄性 (ZZ) の一つの Z 染色体が不活化することによって劣性の遺伝子が発現する可能性も否定できない。

幼虫期は 4 回 ( $m^4$ ) 脱皮型において 5 つの発育段階 (齢) に細分類される。第 1~3 の若齢幼虫期間は短いので各々の齢期間の系統間差異は現在のところ明確に認めることは困難であるが、第 4~5 齢成熟幼虫期には顕著な系統間差異を認めることができる。

つぎに、3 回脱皮 ( $M^{4G}$ ) 型の温帯種の中にも  $m^4$  型温帯種で検出されたような生長の早い系統 (三眠白、山東 3 眠など) が検出され、分析の結果、X 染色体上に生長を促進する遺伝子群の存在することが明らかになった。ただし、これらの  $M^3$  型の生長促進因子は幼虫の生長期に顕著に認められ、変態 (蛹) 期において、多少生長が促進されるという特徴が見られた。なお、生長速度の早い  $m^4$ ,  $M^3$  両系統間のある交雑組合せにおいて、 $m^4$  型幼虫期間が 18 日間に短縮したケースが観察された。ここに記述した生長速度・期間を制御する遺伝形質は内分泌機構と関連する脱皮回数 (眠性) 形質とは異なって環境条件の変化による影響を受けない特徴がある。

要するに、カイコ生長期の生長速度 (期間) を制御する遺伝子の一群は X 染色体に座乗し、胚、幼虫 (各齢期あるいは若齢 1~3 齢期、成熟 4~5 齢期など)、蛹毎に特異的なファミリー内の遺伝子が発生プログラムに応じて、形質発現するもので、それらの総合された結果がそれぞれの系統の生長期全般の特徴となると考察される。

カイコの寿命 (幼虫の生長・成虫の生存期間) 形質から既知の系統の純系度 (村上): 生物学研究において純系、突然変異体の利用は研究の著しい進展を約束し、その逆に問題の解決に困難が伴うことは周知の事実である。また、系統の純度の判定に既知の指標に新しい指標 (形質) を加えることにより当然のことながらその確度は高まる。われわれが問題とする系統 (あるいは遺伝子) を探索中に遭遇した幼虫の生長速度 (期間) ならびに成虫の生存期間についての事例を報告する。

カイコ熱帯種の幼虫の生長期間 (速度) は温帯種に比して一般に数日間短い傾向のあることは前項で記した。ところが、わが国で維持されている熱帯 (インド) 種の *Pure Mysore* 系統はその特徴として年間に数世代を交替する多化性を示す。しかし、標準飼育温度 25°C において幼虫期間は平均的温帯種より数日程長い 27 日間にも達し、しかも変態 (蛹) 期は 2 週間以上もかかり、生長期間から判断して温帯種の実用系統に相当する。その上、可視形質 (マユの形状など)、計量形質 (絹タンパク質の物理的性質、生産性など)、また幼虫は強健性が見られないことなど温帯種の実用系統と同一の性質がみられた。一般に異なった地理的品种間の  $F_1$  交雑ラインには雑種強勢効果が顕著に現われるのであるが、温帯種の J106 系統と交雑  $F_1$  個体にはかかる効果が認められなかった。これらの諸

事実は *Pure Mysore* 系統が純系の熱帯種というよりも、むしろ、温帯種実用系統と熱帯多化性系統との交雑、選抜育種において、温帯種の経済形質を主体として、熱帯多化性因子が合成されかつ維持されてきたと推論される。ところで、カイコにおける生長速度（期間）と年間の世代交替数（化性）とを律する遺伝子はともに X 染色体に座乗し、*Pure Mysore* 系統は交雑・選抜育種の過程で、染色体 DNA の組換えによって熱帯種の特徴である多化性因子と平均的温帯種の幼虫の生長速度（期間）の特徴との両者を維持する X 染色体が本系統に維持されてきたと考察される。

成虫の生存期間の短命な系統（遺伝子）の検索を実施していたところ、当研究所に維持されている（大造）という中国種にかかる常染色体性劣性の遺伝子 *sdi* の存在を突き止めることができた。ところが、問題の維持系統中の同名の系統は長命であることの可能性がでてきた。そこでこの問題を解く目的で、問題となった両系統の死亡曲線の微分的分析を行ったところ、問題の系統には羽化後の死亡日時に 2 つの峰が見られ、その一つはわれわれが維持してきた系統と同一の羽化後 2~3 日目に認められたが、他の 6~7 日目に見られ、別の系統（J106 系統にみられる死亡日時のピークとほぼ一致する）由来することがわかった。この後者の死亡期日の峰は過去において、問題となる“大造”系統はある系統との交雑の結果形成された可能性が指摘された。問題となる“大造”の典型的な可視的形質は優性であるので、かかる形質を指標とした結果である。なお、カイコ成虫は 5℃ 前後で保護すると生存期間がかなり延長するが、当研究所で維持している“大造”系統はかかる処理効果は認められず羽化 2~3 日目に死亡する。ところが問題の系統は低温処理効果が認められ、純系ではない事実が確認された。

カイコにみられる異常生殖パーセノジェネシスの発生機構の遺伝学的解析（村上）：カイコは自然発生パーセノジェネシス（処女生殖）が比較的高頻度に観察され、この異常生殖事象の機構解明に適した生物種と考えられる。この異常生殖の自然発生には系統による強弱がすでに知られていて、遺伝的に制御されている可能性が指摘されてきた。この生物事象の自然発生頻度によって、その次世代の  $F_1$  雌個体において高頻度で発生する事例がたびたび観察され、この事象には少なくとも 2 つ以上の遺伝的因子が関与することが示唆されてきた。

そこで 30 数種の純系間の  $F_1$ （あるいは  $F_2$ ）交雑の組合せを作製し、そこでえられた雌個体の産下するパーセノジェネシス個体の発生頻度を比較分析し、各々の系統における本異常生殖発生の潜在能を計測し、合せてそれに関与する遺伝子（染色体）構成を明かにすることを本研究の目的とした。

実験は標準温度 25℃ の条件下で行った。処女生殖によって発生を開始する個体には完全な個体発生段階のものから卵割初期の核分裂末期で致死するものまで幅広く存在するが、本研究においては卵内で幼虫の形態形成が完了したものを主体に、時には孵化し成虫に達した個体を処女生殖個体とした。処女生殖個体は周知のように三倍体雌性であるので、次世代で正常受精は生起せず、維持することは大変困難である。

これまでに分析した交雑  $F_1$  組合せの 95% 前後は両親の異常生殖の発生頻度に比して、

多少その頻度(2~3%弱)が上昇する程度であった。すでに報告した熱帯種(カンボジュ)と温帯種(J106)との正逆交雑の結果えられた雌個体のパーセノジェネシスの自然発生頻度はまれに20数%に達するものの平均すると数%程度で、ごく一般的発生率を多少上回る程度で、下記する新たな $F_1$ 組合せから観察された10数%以上の高頻度のケースと比較すると、必ずしも高頻度群の範中に入らないことが分った。J115( $V^2:m^4$ )、浙江( $V^2:m^4$ )、山東3眠( $V^1:M^3$ )、アスコリ( $V^1:m^4$ )などの系統間の $F_1$ 組合せにおいて、自然発生パーセノジェネシスがかなり高頻度(20%前後)で、しかも個体間差異は小さいケースが検出された。ところが、三眠白( $V^1:M^3$ )、金色( $V^2:m^4$ )、qrt-3眠( $V^1:M^3$ )、欧7号3眠( $V^1:M^3$ )の正逆 $F_1$ 交雑ではパーセノジェネシスの発生頻度は皆無に近かった。ところが、上記した中国北方種の三眠白系統や実用種としてはほど遠い日本種の金色の雌性に平均的あるいは高頻度で自然発生パーセノジェネシスの検出される数々の温帯種系統の雄とを交雑してえられた $F_1$ 個体のその発生頻度はほとんど皆無に近くまで低下することが認められ、母性の遺伝子構成が強く影響することが推察され、問題となる三眠白、金色系統のY染色体にはパーセノジェネシスの自然発生を抑圧する機能の存在の可能性が推論された。なお、類似した傾向が典型的な実用系統の原種(青熟、C108、赤熟など)にも観察された。逆に異常生殖の頻度の高い(アスコリ、J115など)系統の雌に平均的頻度の系統(J106、カンボジュ、大造など)の雄を交雑した場合、その $F_1$ 個体では多少低下するもの母親と大差のない高頻度のケースが認められ、これら母親の系統のY染色体には自然発生パーセノジェネシスの頻度を特異的に増強する因子が座乗していると推論される。カイコ雌の染色体構成はZW+27AA、雄(ZZ+27AA)であり正逆 $F_1$ 交雑における常染色体の組合せは同一となるが、性染色体構成は異なり、たとへ、常染色体間のパーセノジェネシスの自然発生能に関する優劣の遺伝子が存在しても、その差異は小さいと考えられる。したがって、この生物事象には両染色体が深く関与する可能性が考えられる。

上述した数々の観察結果および考察からカイコのW性染色体には、雌性決定因子の外に、ここに問題とした異常生殖の発生機構のみならず、雌性生殖細胞形成に関与する遺伝因子の座乗、可能性が考察される。

かかる論述から、自然発生パーセノジェネシスの替在能の強い(+)系統(アスコリ、J115などの性染色体構成は $Y^+/X^+(X^+/X)$ と推定され、弱い(-)系統(三眠白、金色など)のそれは $Y^-/X^-(X^-/X^-)$ と推定される。そして中間のタイプの系統では $Y/X(X/X)$ 、 $Y/X^+(X/X^+)$ 、あるいは $Y/X(X/X^+)$ 、 $Y/X^-(X/X^-)$ あるいは $Y/X(X/X^-)$ と推定された。但し、パーセノジェネシスの強弱に関与するXあるいはY染色体上の座位は必ずしも同一でないのである。

(5) ショウジョウバエにおける胚致死作用の遺伝学的研究(山田): 昆虫の初期発生において、卵の細胞質が、胚の形態形成及び細胞分化に重要な役割をもっていることが知られている。受精核の遺伝子の発現における卵細胞質の作用を調べるために、ショウジョウバエのX染色体上にEMS(エチルメタンスルホン酸)により誘発された母性効果による胚致死突然変異体の中で、微細注射による正常卵細胞質の移植により致死胚が救済される

一系統 fs (1) MY-18 の解析を進めてきたが、その遺伝子の発現の時期、及びその産物とその局在性の検出が困難であった。そこで、遺伝子とその産物の検出がより容易になると考えられるエンハンサートラップ法による P 因子挿入突然変異体の誘発を昨年に引き続き行った。第 2 染色体または第 3 染色体に P 因子が挿入された系統から、致死突然変異体 47 系統、雌不妊突然変異体 8 系統、成虫の中胸背板に過剰剛毛を生ずる変異体 10 系統を得た。X 染色体に P 因子が挿入された系統からは、致死突然変異体 39 系統、雌不妊突然変異体 9 系統、雄不妊変異 3 系統、成虫複眼異常 1 系統、成虫中胸背板に異常剛毛を生ずる変異体 3 系統が得られた。

これらの系統の中、雌不妊変異系統について産卵率、卵の形態を調べた結果、産卵率も高く形態的には正常な卵を産む系統が見出されたが (2 系統)、他の多くの系統は産卵率が低く、卵殻の脆弱な卵を産卵した。また、P 因子内に組込まれている  $\beta$ -ガラクトシダーゼの活性を指標として成虫卵巣における遺伝子の発現を組織化学的に調べた結果、上記 2 系統では卵巣での活性が認められなかったが、他のいくつかの系統では卵形成初期の形成細胞巣で弱い活性が認められた。哺育細胞、卵細胞内では検出されなかった。これらの結果は、分離された変異体の遺伝子の多くのものは卵の卵殻形成にかかわっていることを示唆するものと考えられた。

(6) 昆虫での「完全変態」機構の意味とその成立について (II)(湊):「有翅」と共に、動物界の中での昆虫網繁栄のもう一つの理由である、「完全変態」の機構の意味するものと、それらの進化過程での成立機構について、昨年に引き続いて調査と考察を進めた。

「完全変態」過程の特徴の一つは、その過程の中に「蛹期」を持つということの理由が、多分そのことに由来するように、「幼虫期の形態が、成虫期のそれと非常に異なっている」ことであり、また、その反映として、「両時期で、摂食する餌や生活場所が、互いに異なっている」ということである。その結果、「完全変態」類昆虫は、翅の有無を別にして幼虫の形態が成虫のそれとほとんど同じか似ていて、摂食する餌や生活場所も互いにあまり異ならない「無変態」や「不完全変態」類昆虫に比べれば、「幼虫と成虫の間で餌を競合しない」という生存上の利点を持つ。のみならず、「完全変態」類昆虫の幼虫は、一見単純だが、工夫に富んだ多様な形態を示す一例えば、イモムシ型幼虫、ウジやハチ幼虫のような無脚型幼虫、筒型幼虫等々、また、同じ型内でも多様に化する。このことも「無変態」「不完全変態」の昆虫では見られない多様な種類の餌や、生活場所の利用を可能にさせ、このグループの昆虫の種類数を極めて増やし、結果として、網全体の繁栄を生み出している理由であるように見える。

Berlese (1913) は、「完全変態」類の、このどちらかという単純で、未発達に見える幼虫型の出現を、胚発生の相対的に若い種々な段階での孵化—「幼形成熟」—の結果であると説明している。この説は、見かけ上、例えば、腹脚を持つイモムシ型幼虫等を、発生上のより早い段階—多脚期—における孵化としてうまく説明出来るように見えるが、この説に基づくと、「完全変態」類幼虫の孵化時間は、そうでない類に比べて、相対的に早まっても良い筈だが、文献上で調べた結果、胚発生時間だけが特に短いという傾向は見られなかつ

た。また、幼虫が発生上の早い段階で孵化した場合、一般的な外形のみならず、その他の諸器官（眼・口器等の外部組織や、腸・気管・筋肉等の内部組織）の発達も、無いか未発達の筈であり、そういう不利な条件は生存にとって致命的な筈である。「幼型成熟」では、それらの種々の欠陥を逆に適応的に有利に変えて克服して行かなければならない筈であるが、調査の結果、複眼の欠如を除いては、上記の諸組織等が未発達であるという事実、また、そういう不利な事実を生活型にうまく生かして行っているという現象も見られなかった。それ故、「完全変態」類昆虫に見られる、一見未成熟に見える幼虫型の存在も「幼型成熟」の結果というよりも、ある部分の発達だけを抑える、積極的な適応型の現象ではないかと思われ、それらの仕組みについて更に解析を進めるつもりである。

### C-c. 生理遺伝研究部門

(2) アデノウイルスの転写調節に関与する細胞由来の転写因子（半田）：*in vitro* 転写系を中心にして、アデノウイルスの転写調節に関与する細胞性因子を分子・遺伝子レベルで解析した。また、アデノウイルス EIA 遺伝子産物とそれら細胞性転写因子との相互作用を解析した。

(a) TFIIA は分子量 37 kD, 19 kD, 13 kD の三つのサブユニットから成っており、TBP に結合し、基本的転写に関与すると一般的には考えられている。我々は TFIIA サブユニットの中で最も大きいサブユニットを精製し、その部分的アミノ酸配列を決定し、それを基にオリゴヌクレオチドを合成し、ヒト cDNA ライブラリーから TFIIA の cDNA をクローニングした (Ma *et al.*, 1993, *Genes & Dev.*, 7, 2246-2257)。さらに、TFIIA は基本転写因子ではなく、転写阻害因子を取り除き、アクチベーターによる転写活性化にコアクチベーターとして働くことを明らかにした。

(b) アデノウイルス EIA タンパク質による転写活性化に関与する転写因子 E4TF1 および E4TF3/ATF の研究を行った。E4TF1 は少なくとも二つのサブユニットから成っており、それら cDNA クローンを単離した (Watanabe *et al.*, 1993, *Mol. Cell. Biol.*, 13, 1385-1391)。また、それらの機能ドメインを決定し、それらが四量体として転写活性化能を発揮することを示した (Sawada *et al.*, 1993, *EMBO J.*, in press)。また、DNA アフィニティー粒子を用いて、E4TF3 に加えてそれに特異的に結合するキナーゼ活性を分離することができた。そのキナーゼ活性を生化学的に解析している。

## D. 集団遺伝研究系

### D-a. 集団遺伝研究部門

集団遺伝研究部門では生物集団の遺伝的構造を支配する法則の探求、すなわち集団遺伝学の研究を行なっている。とくに分子レベルにおける種内変異と進化の仕組みを確率過程として扱う理論の発展は現在の本研究部門にとって中心的課題である。

人事面では、高野敏行が九州大学理学部生物学教室から 3 月 16 日付けで助手として移

転したが、デューク大学で引続き研究を行なうことになった。アメリカ、コーネル大学博士課程の Steen 智子が昨年へ続き 7 月 31 日まで研究を行なった。

太田(原田) 朋子は、DNA 塩基配列の比較研究により今まで構築してきた理論モデルの検証を行なった。重複した遺伝子族で、アミノ酸置換が高まると予想されるので、これを成長ホルモンの重複遺伝子のデータで調べ結果を Genetics に発表した。またほぼ中立理論の検証も行ない PNAS に発表した。

田嶋文生は、進化的距離の不偏推定値を得る統計法および分子進化速度の一定性を検定する統計法を開発し、それぞれ Molecular Biology and Evolution および Genetics に発表した。また、6 月 1 日～7 月 31 日、ペンシルバニア州立大学において M. Nei 教授と共同で、分子系統樹を作成するための進化的距離に関する研究を行なった。さらに、京都大学農学部宮下直彦および久留米大学附属設置中等学校の徳永徹と共同研究を行ない、自家不和合性遺伝子座の対立遺伝子数を推定する統計法を開発した。田嶋のこれまでの業績が認められ、日本遺伝学会奨励賞が授与された。

(1) 成長ホルモン-プロラクチン遺伝子族における塩基置換のパターン(太田): 哺乳類ゲノムの成長ホルモン-プロラクチン遺伝子族は、遺伝子重複による進化の興味深い実例である。重複した遺伝子の塩基配列を比較し、アミノ酸に変化をもたらす非同義置換とアミノ酸に変化をもたらさない同義置換のパターンを調べ、次のような結果を得た。同義置換については世代効果が顕著で、ネズミの系統はヒトの系統より置換速度が高い。しかし非同義置換ではこの傾向が明らかではない。成長ホルモンの遺伝子はヒトゲノムでは重複し、重複遺伝子間では機能の分化も生じているが、この重複遺伝子間の比較では同義置換に比べ、非同義置換が速まっている。ウシではプロラクチンの遺伝子が重複しているが、この場合も非同義置換が速まっている (Genetics, 134, 1271-1276 に発表)。

(2) ショウジョウバエ Adh 遺伝子では、アミノ酸置換が集団の小さい時期に高まる(太田): ショウジョウバエの Adh 遺伝子のアミノ酸置換が自然淘汰によるのか遺伝的浮動によるのかは長年論争になっている。もし、遺伝的浮動が重要なら、アミノ酸置換と集団の大きさは負の相関が予測されるが、自然淘汰によるのであればそのような相関は予想されない。ハワイのショウジョウバエは大陸のものに比べ集団が小さいので、前者と後者で遺伝子進化のパターンに違いがあるかどうかを調べた。Adh 遺伝子の塩基配列を比較し同義置換と非同義置換の数を求めたところ、ハワイのショウジョウバエは大陸のものに比べ、同義置換に対する非同義置換の割合が高いことがわかった。すなわちこの結果はアミノ酸の置換に遺伝的浮動が重要であることを示唆する。(PNAS, 90, 4548-4551 に発表)。

(3) 分子進化の世代効果(太田): 以前 DNA 雑種法により測定したゲノム DNA の進化は世代依存性があると報告された。これに対し、アミノ酸置換では、世代依存性が明らかでない。一方置換の多くがほぼ中立であるとすると、世代効果と集団サイズの効果が打ち消しあって、世代効果が部分的に消失すると予測される。この予測に基づき、アミノ酸置換の多くはほぼ中立であるのに対し、ゲノム DNA の多くは情報をもたず完全中立な変化

が多いという仮説を提唱した。この仮説を検証するため哺乳類3日で17の単一コピー遺伝子の塩基配列を比較し、同義置換および非同義置換の数を調べた。その結果ネズミの類ではヒトの類に比べ、同義置換に対する非同義置換の割合が低いことがわかった。ネズミの方がヒトより集団サイズが大きいと考えられるので、この結果は先の仮説を支持し、アミノ酸置換には自然淘汰と遺伝的浮動がともに影響することを示唆する。(PNAS, 90, 10676-10680 に発表)。

(4) 塩基配列間の進化的距離の不偏推定 (田嶋): 塩基配列間の進化的距離 (塩基置換数) は、分子進化の研究においてもっとも重要な統計量のひとつである。進化的距離を推定する方法には、いろいろな方法が知られているが、塩基配列が短いと (a) 過大評価する、(b) 計算できない場合がある、という問題がある。本研究では、このような問題を克服した方法を開発した。数値計算およびコンピュータ・シミュレーションによってこの方法の精度を調べたところ、この方法はつねに計算可能で、ほぼ不偏推定値を与えることがわかった。したがって、この方法は、とくに比較する配列が短いとき、有用である。詳細は、Mol. Biol. Evol., 10, 677-688 に発表した。

(5) 分子進化速度の一定性を検定する簡単な方法 (田嶋): 分子進化速度が一定かどうかは、(a) 分子進化が中立的に起こるのか自然選択が働いているのか、(b) 突然変異率が世代あたり一定か年あたり一定か、という点で、非常に重要な問題のひとつである。本研究では、塩基配列やアミノ酸配列の比較から、分子進化速度の一定性を検定する統計法を開発した。この方法は、(a) 置換パターンがわからない場合にも、(b) 置換速度が部位ごとに異なっているときにも、(c) アウトグループがわからない場合にも、適用できるという利点がある。また、尤度検定法や相対速度法と比較して、非常に簡単である。コンピュータ・シミュレーションによって新しい方法の統計的検定能力を調べたところ、(尤度検定法や相対速度法が上記の場合には適用できず、この新しい方法はこれらの場合にも適用できるという事実にもかかわらず) ほかの方法とほとんど違いのないことがわかった。したがって、この方法は有用である。詳細は、Genetics, 135, 599-607 に発表した。

#### D-b. 進化遺伝研究部門

進化遺伝研究部門では、異なる視点から研究される傾向にあった進化の諸分野を、総合的視点で研究することをめざしている。実験的研究と理論的研究を並行させ、遺伝子塩基配列レベルの進化と染色体レベルの進化を関係づけ、分子進化と表現型の進化とを総合的に理解することを目標にしている。これらの研究には、教授・池村淑道、助教授・斎藤成也、助手・松本健一と森山悦子が携わり、これに大学院生 (総合研究大学院大学・生命科学研究所2年) 菅谷公彦と (同1年) 深川竜郎が加わっている。また石橋美美恵、石原奈々代、宮内洋子、川本たつ子が研究の補助業務を行った。助教授斎藤は、文部省科学研究費補助金 (海外学術調査: 代表者五條堀孝) を受けて、6月9日から6月20日まで米国でデータバンクの調査を行なった。助手松本は昨年引き続き、細胞外マトリックスタンパク質・テネイン様分子の機能解明のため、平成5年2月8日から平成5年9月14日まで

でスイス国フリードリヒ・ミーシェ研究所に留学した。助手森山は、昨年に引き続き、平成5年の1年間を米国(1月まではワシントン大学, 2月からハーバード大学)へ留学し、ショウジョウバエゲノムについて研究を進めた。

本年度の研究は、重点領域研究(1)「ゲノム情報」(代表者池村)、一般研究(C)「温血脊椎動物染色体バンド構造と巨大GC含量モザイク構造との関係の解明」(代表者池村)、創成的基礎研究費「ヒトゲノム解析」(代表者松原謙一)、総合研究(A)「自己・非自己識別分子MHCの起源と進化」(代表者高畑尚之)、特別研究員奨励費「MHC領域に見いだされた多機能型細胞外マトリックスタンパク質遺伝子の機能と発現」(代表者深川)、一般研究(C)「遺伝子系図学理論を用いた集団の遺伝的分化の研究」(代表者斎藤)等の援助を受けた。

共同研究としては、猪子英俊・東海大学医学部教授を代表に、「染色体バンド構造と遺伝子塩基配列との関係の解析」に関して、三田和英・放射線医学総合研究所生物研究部主任研究官を代表に「高等動物クロマチン構造と染色体GC含量分布との関係の解析」に関して、奥村克純・三重大学生物資源部助教授を代表に、「高等動物のS期DNA複製スイッチ部位」に関して実験的ならびに理論的研究を行った。

(1) ヒトMHC領域のG+C含量巨大モザイク構造の研究;モザイク境界の近傍に見いだした偽常染色体部位境界配列(pseudoautosomal boundary)と相同性の高い配列についての解析(深川・菅谷・松本・池村):高等脊椎動物のゲノムDNAはGC含量のMb(メガベース)レベルでの巨大なモザイク構造よりなるが、その構造が光学顕微鏡で観察される染色体バンド構造と関係することを明らかにしてきた。染色体バンドならびにGC含量巨大モザイク構造の機能上の意味と、それらが形成された進化機構を知る目的で、バンドの境界をなすと考えられるGC含量巨大モザイクの境界構造の解析を行なっている。従来からの研究によりGC含量が大きく変化する部位の例をヒト主要組織適合性抗原遺伝子(MHC)領域のクラスIIとクラスIIIの境界領域に推定してきた。境界部位の構造的特徴を調べる目的で、クラスIII遺伝子群(高いGC含量)からクラスII(低いGC含量)にかけての約450kbの領域に着目して、東海大医学部の猪子グループとの共同研究として遺伝子歩行を続け、それらを完全に覆うコスミドとλファージの連続クローンを得た。GC含量の解析を行ったところ、巨大モザイクの境界をシャープなGC含量の変移点として同定できた。塩基配列の解析により、その部位に大規模AluとLINEクラスター並びに偽常染色体部位境界配列(pseudoautosomal boundary)と相同性の高い配列を見出した。偽常染色体部位(PAR)はXY染色体の減数分裂期キアズマ形成に中心的役割を果しており、このPARと性特異的配列との境界がpseudoautosomal boundary(PAB)として知られている。相同組換えやX不活化の境界点と想定されているが、このPAB配列と80%以上の相同性を持つ配列がMHCのGC含量変移点近傍に存在していた。我々はこの約650塩基の配列をpseudoautosomal boundary-like sequence(PABL)と名付けたが、このPABLがヒト染色体上並びにウシ染色体上に多数存在することも見だしている。染色体バンドの境界部位の一般的性質であるのかを検証しようと試みている。PABL配列から転写が起きている可能性も出てきた。

(2) MHC 領域に存在する新しい遺伝子の探索 (菅谷・深川・松本・池村): ヒト MHC 領域の GC 含量モザイク境界はクラス 2 と 3 の境界部位に位置するが, この境界近傍に Notch 3, HOX12, RAGE 遺伝子を見出し, GDB へ登録した. Notch 3 はヒトに見い出された三番目の Notch 様遺伝子であり Notch 1 と 2 から塩基配列がかなり隔たっており, マウス *Int-3* に相当する遺伝子と結論した. HOX12 は homeo box を持つ遺伝子であり, PBX2 として cDNA 塩基配列が知られている遺伝子と思われる. しかしながら, 従来予想されていた遺伝子位置とは全く異なっており, 混乱を避けるため, GDB の指示もあり, HOX12 と命名した. RAGE は, 糖尿病や加齢にともなって蓄積するグリケーションを受けたタンパク質 (AGE; Advanced Glycosylation End Products) のレセプター遺伝子である. MHC 領域には糖尿病と関係する遺伝子が推定されている. その推定遺伝子自体ではないと思われるが, RAGE が糖尿病の進行と関係する可能性がある. この研究は東海大学医学部の猪子グループとの共同研究である.

(3) 遺伝子コドン選択パターンの研究 (和田・池村): 本年度も GenBank の全体を解析し, 総計 92,000 遺伝子のコドン使用を算出し, データベース化した. さらに各生物種ごとに集計を行い, 20 以上の遺伝子のコドン使用が算出できた約 300 生物種については, 各生物種の特徴パターンとして, これもデータベース化した. 従来から構築を続けてきたこれらコドンデータベースは, 微生物や無脊椎動物のタンパク質コーディング領域推定法の基礎データとして利用されているだけでなく, 有用遺伝子の化学合成の際のコドン選択, ならびに遺伝子クローニング用のプローブや PCR プライマー作成の際の指針となっており, 急速に蓄積してきている大量塩基配列を実用に役立てるための有用二次データベースとして実績をはたしている. 上記のコドンデータベースを構築する中間過程で, コーディング領域のみからなる塩基配列データセットを作成するが, これを利用することで, 能率的で精度の良いヒト遺伝子コーディング領域の検索が行なえることも明らかとなった.

(4) 細胞外マトリックスタンパク質・テネインファミリーについての研究 (松本・石原・池村): ヒトの第 6 染色体に存在する主要組織適合性抗原遺伝子群 (MHC) のクラス III 領域とクラス II 領域の境界近傍の構造解析を行っている際に, 細胞外マトリックス・テネイン (TN-C) と構造上の類似性の高い遺伝子 (TN-X) を見いだした. TN-C は初期発生及び器官形成時に特異的に発現をする細胞外マトリックスタンパク質として知られている. MHC 領域に存在するテネイン様遺伝子 (TN-X) は TN-C と同様に, N 末端のユニークな配列に続き, EGF 配列, フィブロネクチン III 型モチーフ, そして C 末端のフィブリノーゲン様ドメインから成る巨大なモザイク構造をもつ多機能型遺伝子である. 最初にヒト TN-X 遺伝子の解析を行ったが, 本年度は実験的解析の行いやすいマウスを用いた研究を開始した. マウス TN-X 遺伝子はマウス MHC-クラス III 領域に存在する最もセントロメア側 21-ヒドロキシラーゼ遺伝子 (マウスの場合偽遺伝子で *Cyp21ps*) と転写方向が逆で 3' 末端で重なり合うというユニークな構造を持つ (Matsumoto *et al.*, *Cytogenet. Cell Genet.*, in press). TN-X 蛋白質の特性および発現様式を知る目的で, スイス・フリードリッヒ・ミーシャ (FMI) 研究所に松本が留学し研究をおこなった. マウス心

臓 cDNA ライブラリーより、TN-X の cDNA を得、これを大腸菌発現ベクターにサブクローニングし、融合蛋白質を動物に免疫し、特異的 TN-X 抗体を得た。この抗体を用いてマウス培養細胞 (Ren-Ca) より、約 500 kDa の巨大な蛋白質を精製することができた。この TN-X 蛋白質は遺伝子構造から推測されるように、多量体 (たぶん 3 量体) を構成する。またフィブロネクチンやラミニンやプロテオグリカンなどの他の細胞外マトリックスとの相互作用を調べたところヘパリンと強く結合することが明かとなった。また TN-X の細胞接着活性や接着阻害活性をいろいろな細胞に対し細胞生物学的に調べたところ、明瞭な結論は得られなかったが、TN-X は TN-C と同様に細胞接着よりむしろ接着阻害に働いているようである。また TN-X の存在様式を間接蛍光抗体法で調べたところ、胎児期より心筋、骨格筋、血管壁、消化器系の組織の間葉に存在しており、TN-C とは異なった発現様式をもつ細胞外マトリックスタンパク質であることが明かとなった。特に消化器系の組織や皮膚では、TN-X は主に上皮細胞と間葉細胞の相互作用を及ぼす領域に発現するのに対し、TN-C は主に間葉細胞に発現しており、明かにこの 2 つの細胞外マトリックス蛋白質は、相補的な発現様式を示すことが明かとなった。この研究は Dr. Chiquet-Ehrismann (FMI), 相賀, 坂倉博士 (理化学研究所) との共同研究で行われた。(Matsumoto *et al.*, *J. Cell Biol.*, 125, 483-493, 1994) TN-X の発見と時を同じくしてスイス、ドイツのグループにより神経系特異的に発現するもう 1 種類のテネイシン様分子が見つけれられ、レストリクチンあるいは J1-160/180 と名付けられた。この分子も TN-C・TN-X 同様に 4 つのモザイク構造から成り立ち、最近 TN-R と改名された。従来から研究されている TN-C、そして新たに見いだされた TN-X 及び TN-R により成るテネイシンファミリーとして研究することが、各々の機能を考える上で重要となってきた (Chiquet-Ehrismann *et al.*, *Perspect. Dev. Neuro Biol.*, 2, 3-7, 1994)。一方理化学研究所のグループは遺伝子の機能破壊 (ジーン・ターゲティング) により TN-C 欠損マウスを構築し、どの様な異常が欠損マウスに生じるかを調べたところ、予想に反し全く正常であることが明かとなった。テネイシンがファミリーをなす遺伝子群であることが明かとなってきた段階において、生体内でいかに TN-C, TN-X, TN-R が合理的に調整し合ながら秩序を保っているのかは、非常に興味深い。TN-C 欠損マウスにおける TN-X の存在様式を、理化学研究所の日下部、吉木博士との共同研究により調べたところ、TN-C 欠損マウスにおいて TN-X は発現様式もまた発現量も正常マウスと変わらないことが明かとなった。さらに詳細に調べる必要はあるが TN-C 欠損マウスが正常に生育するのは、類似産物である他のファミリーメンバーの単なる相補性によるものではなさそうである。

テネイシン・ファミリー遺伝子の生体内での機能を調べる目的で、相同遺伝子組換えを利用したジーン・ターゲティングにより、TN-X 欠損マウスを構築することを発生工学研究室の中辻教授、白吉助手との共同研究で開始した。マウス胚性未分化 (ES) 細胞 (TT2 細胞使用) 由来のゲノミック・ライブラリーより TN-X の第一、第二エキソンを覆う領域のクローニングを行い、TN-X 遺伝子の ATG 翻訳開始コドンを含むエキソン部に遺伝子工学的手法により G418 耐性遺伝子に交換し、TN-X 遺伝子のプロモーター領域および翻訳

開始領域を壊し、さらに効率よく組換え体を選別するためにジフテリア毒素遺伝子を TN-X 遺伝子の 3'側に連結して、ターゲティングベクターを構築することができた(ポジティブ・ネガティブ・セレクション法)。現在 ES 細胞にターゲティングベクターの導入を行っているところで、相同組換え体マウスを得ようと試みている。

(5) ABO 血液型遺伝子の進化(斎藤成也・山本文一郎\*)：昨年に引き続き、ヒトの ABO 血液型遺伝子の進化を調べた。新しく決定されたヒト A・B・O 対立遺伝子の様々なサブタイプの塩基配列と、ヒトを含む霊長類の遺伝子の塩基配列を比較し、最大節約法を用いて系統樹を作成した。その結果、ヒトの ABO 血液型遺伝子のすべての対立遺伝子はかならずしも単系統とはなっておらず、特にヒトの B 対立遺伝子はゴリラの B 対立遺伝子と系統を同じくする可能性があった。また 1 塩基欠失がない新しいタイプの O 対立遺伝子が見いだされた。これらのことから、ABO 血液型遺伝子座には、超優性等のなんらかの自然淘汰がかかっていることが示唆された。これらの研究結果を、第 38 回日本人類遺伝学会大会および第 66 回日本生化学大会にて発表した。

(6) 人類集団の遺伝的近縁関係

a) HTLV-I ウイルスの人類集団内変異(R. Yanagihara\*\*・斎藤成也)：HTLV-I (T 細胞白血病ウイルスタイプ I) の gag, pol, env 遺伝子の部分塩基配列を、メラネシア(パプアニューギニアとソロモン諸島)で発見されたウイルス陽性 10 個体において決定した。これらの配列データを、すでに発表されている日本、アフリカ、カリブ海等のヒトから得られた塩基配列との比較を行ない、近隣結合法と最大節約法を用いて遺伝子系統樹を作成した。その結果、メラネシアの配列は明瞭なクラスターをなし、その他のいわゆるコスモポリタン型とは大きく異なっていた。この研究結果の詳細は *Virology*, 196, 506-513 (Nerurkar *et al.*, 1993) に発表した。

b) 中国海南島人類集団の遺伝的多型(尾本恵市\*\*\*・斎藤成也・三澤章吾\*\*\*\*・杜伝書\*\*\*\*\*・杜若甫\*\*\*\*\*): 科学研究費文部省海外学術調査(代表: 尾本恵市)により、1985 年および 1987 年に中国海南島を訪れ、日本と中国の共同調査により、リー族 2 集団、苗族 2 集団、回族 1 集団、漢族 1 集団より採血した。これら 6 集団について、血液型 9 種類、血清タンパク型 7 種類、赤血球酵素型 7 種類、計 23 遺伝子座の遺伝的多型を調べ、対立遺伝子頻度を推定した。その結果、リー族 2 集団は対立遺伝子頻度が似通っていたが、苗族 2 集団はお互いにかかなり対立遺伝子頻度が異なっていた。全体としてこれら 6 集団は中国南部の集団の特徴を持っていた。研究結果の詳細は *Anthropological Science*, 101, 1-24 (Omoto *et al.*, 1993) に発表した。

\* Biomembrane Institute, Seattle, U.S.A.

\*\* National Institute of Neurological Disorders and Stroke, NIH, U.S.A.

\*\*\* 国際日本文化研究センター

\*\*\*\* 筑波大学社会医学系

\*\*\*\*\* 中国中山医科大学

\*\*\*\*\* 中国科学院遺伝研究所

### D-c. 理論遺伝研究部門

(1) 生命体科学 (高畑): 多様な要素間の巧みな相互作用から構成される生命体の諸現象は、歴史的な拘束の上に成り立つものであり、機能や構造という視点にだけ立つ研究では解明しきれない側面がある。例えば脊椎動物の免疫系では、T細胞受容体、外来抗原由来のペプチド断片及びそれを提示するMHCという3分子の相互作用が、免疫系発動の初期段階で本質的に重要な役割を果たす。この相互作用は、脊椎動物の進化の段階で初めて獲得されたものであり、その成り立ちを解明することなしには免疫系の基本的原理を明らかにすることは難しいであろう。また現生人類の起源に関してはこれまで様々な仮説が提唱されているが、その多くは全く定性的なものであり科学的仮説とは呼びにくい。しかし、遺伝学的見地からこれらの仮説を検討すると、どの仮説であれ満たさなければならない条件があることがわかる。この条件は、歴史的拘束の結果であり現生人類が歩んできた道のりを反映するものであることは論をまたない。同様に、ヒトの行動、形態、脳の発達、生理学的特長等々、どの側面をとっても歴史的拘束がある。理論遺伝研究部門では生命体の様々なレベルにみられるこのような歴史的拘束の解明を行なう。

この研究の一部は国際共同研究の一環であり、マックス・プランク生物学研究所(チュービンゲン)のヤン・クラインと颯田葉子及びペンシルバニア州立大学の根井正利の各博士と進めている。ヤン・クライン博士とそのグループとの共同研究の詳細は、1993年の *Ann. Rev. Immunol.*, **11**, 269-295, *Progress in Immunology VII*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 7480-7484, *Scientific American*, **269**, 78-83, *J. Med. Primatol.*, **22**, 57-64 に発表した。また根井博士との共同研究は *J. Mol. Evol.*, **37**, 240-244 (1993) に発表した。高畑は、この他にペンシルバニア州立大学の A. G. Clark と分子進化機構に関する本を共編し、出版した。本年度における高畑単名の論文には、人類進化に関するもの (*Mol. Biol. Evol.*, **10**, 2-22, *Jpn. J. Genet.*, **68**, 539-547), 木村資生博士の 57 編の論文に対するコメント (*Jpn. J. Genet.*, **68**, 353-395), T細胞レパートリーに関するもの (49-65, in *Human Population Genetics: A Centennial tribute to J. B. S. Haldane*, Plenum Press) がある。

高畑は、ケンブリッジで行なわれた第3回MHC進化ワークショップ、マックス・プランク生物学研究所セミナー、トロントでの「集団遺伝学の最近の発展」に関するシンポジウム、第15回国際植物学会シンポジウムなどで講演した。

(2) 島モデル集団での連鎖不平衡係数の減少に関する研究 (館田): 淘汰に関する中立性を仮定し、地理的構造を持った島モデル集団で連鎖不平衡が時間と共にどのように変化するかを解析して、連鎖不平衡係数の解析的解を得ることが出来た。この解から、組換え率、移住率、集団の大きさの逆数が同じオーダーであるとき、分集団が有限であることによって、連鎖不平衡係数の初期及び終局的減少率は、それぞれ増加及び減少することがわかった。また、連鎖不平衡係数の分集団間での分化は早く減少することもわかった。これらの結果をもとにして、自然集団で観察される連鎖不平衡の維持機構について考察した。

(3) 部分自殖を行う飛石モデル集団の遺伝的変異(館田・吉丸\*): 部分的自殖を行う集団で、飛石モデルの構造を持つものについて、二つの遺伝子の間の同祖確率を計算した。解は完全他殖の場合の解を使って表すことが出来る。突然変異率、集団サイズ、移住率が小さい場合には異なる個体での同祖確率については近似解が得られるが、これは移住率を  $s$  とした時、完全他殖での解の集団サイズ  $N$  を  $N(1-s/2)$  で置き換えた形で表される。この近似の適用範囲や、拡張に関する検討も行った。

## E. 総合遺伝研究系

### E-a. 人類遺伝研究部門

この部門では、ヒトの正常ならびに異常形質にかかわる遺伝現象を、分子・細胞・個体・集団の各レベルで研究し、それらを総合的に理解することを目指している。とくに、ヘモグロビン、酵素などのタンパク質分子の構造と合成の変異をアミノ酸配列および DNA 塩基配列の変化として明らかにし、分子病の観点から先天性異常症の遺伝要因と病態発現の機序を研究している。また、白血病やがん細胞を手がかりとして、DNA レベルの遺伝子変異や染色体改変に基づくがん遺伝子活性化の機序、細胞増殖・分化と腫瘍発生の分子遺伝機構などについて研究を進めている。さらに、人類進化の立場から日本人種の遺伝的特徴はなにかを、ミトコンドリア DNA の塩基配列多型の上から研究している。近藤るみ(日本学術振興会特別研究員)および早坂謙二(総合研究大学院大学研究生)が、宝来助教授の指導のもとに、研究を行った。

当研究所が実施している共同研究事業の一環として、2月に「造血幹細胞増殖分化の機構の学際的研究」と題する研究集会(提案者: 九大 仁保喜之教授)を開催した。これには、血液細胞の増殖・分化とがん化の機構の解析研究に取り組んでいる外部の研究者 25 名および所内から今村教授、中島助手らが参加し、それぞれ研究成果の発表を行い、細胞分化と増殖の分子調節と変異、血液幹細胞の特性と遺伝子発現に関する問題点について自由に討論を行った。公募による共同研究では、九大医学部の岡村講師らが、「難治性疾患の遺伝子異常の解析」のため来所し、今村教授、中島助手と共同研究を行った。また、九州大学・医学部の古森公浩講師らの「大腸がん抑制遺伝子の分子遺伝学的研究」、中村康寛博士らの「過剰染色体症候群に関する細胞遺伝学的研究」等の合わせて 6 研究を受入れ、それぞれのメンバーが来所して、当研究部門スタッフとの共同研究を行なった。

本年度の研究は、重点領域研究「ミトコンドリア病における DNA 診断法の開発と病態の解明」(宝来)、同「神経難病における神経細胞死のメカニズム防御に関する研究」(宝来)、一般研究(B)「ミトコンドリア DNA からみた現生人類の起源」(宝来)、総合研究大学院大学グループ研究「生命体科学」(宝来)、特定研究事業費「ヒトゲノム遺伝情報の解析」(今村)、特別研究員奨励費「ミトコンドリア DNA を指標としたヒト上科の分子進化

\* 森林総研

学的研究」(近藤), などの文部省科学研究費補助金, 長寿科学総合研究事業「痴呆性疾患の遺伝学的研究」(今村), 特定疾患調査研究「難病の宿主要因に関する研究」(今村), 神経疾患研究依託費「ミトコンドリア脳筋症における DNA 変異の解析」(宝来) などの厚生省科学研究費の援助を仰いだ。

(1) ヒト 18 番染色体・連鎖遺伝子地図の作成に関する基礎的研究(中島, 境, 稲葉, 長谷川, 今村): ヒト遺伝子の解析を効率的に進める上で, 高分解能・遺伝子地図の有用性はすでに明らかである。我々は, 過剰染色体症候群としては 21 番染色体 (Down 症) に続いて多く見られる, 18 番染色体 (テトラソミーおよびトリソミー) の異常, とくに知能発育に関わる遺伝子の解析を目的として, (1) ヒト染色体としては, 18 番染色体のみをもつヒト・マウス雑種細胞を作成した。蛍光原位雑種形成法 (FISH) により, この細胞株には 1-2 個の 18 番染色体が含まれており, その他の染色体 (またはその断片) を含まないことを確認した。また, 細胞株 (126-2,-3,-4,-7,-11,-16) 等は, 長腕の大部分が欠失した染色体 (18q-) のみを保有している。(2) これらの細胞から, ヒト 18 番染色体 (または 18p) に固有の遺伝子ライブラリーを作成し, コスミド・グリッドのスクリーニング操作を繰返すことによって, 2000 個のクローンを選択した。(3) 18 番染色体に由来するコスミドクローン (60) を選び, FISH 法により染色体領域上 (18p, 18q11, q12, q21, q22, q23) にそれぞれ位置付けた。(4) 遺伝的連鎖解析の基盤となる多型マーカーとして, 18 染色体に由来する 2 塩基 (CA/TG)  $n$  繰返し配列をもつコスミドクローン (200) を選択し, (CA/TG)  $n$  陽性のサブクローンを選び, 5'および 3'脇側塩基配列を解析した。ヒト 18 番染色体は, ゲノム DNA の 3% を占めるので, 全長約 100 センチモルガン (cM) に相当すると考えられる。(CA)  $n$  繰返し配列は分布に偏りが無いため, 18 番染色体短腕から取り出した 200 個のマーカー遺伝子は, 約 0.5 cM の間隔で染色体地図上に連鎖すると考えられる。今後, 我々は, 18p のみをもつ雑種細胞株から, ヒトに特異的な DNA を取り出し, 脳組織で発現する遺伝子 (cDNA) ライブラリーを解析することによって, 過剰染色体 (テトラソミー 18p) 症候群に関する病因遺伝子群を明らかにすることを目指している。

(2) 家族性アルツハイマー病候補遺伝子領域の遺伝的多型の解析 (今村・中島): この研究は, 家族性アルツハイマー病候補遺伝子領域に存在する DNA 多型を遺伝マーカーとして家系における連鎖の解析によって, 遺伝子を探索し, 病態発現の遺伝的要因と機構を明らかにすることを目指している。ヒト・ゲノムには, およそ 30~50 キロ塩基対に一つの割合で遺伝的多型を示す単純な繰返し配列がある。とくに, 2 塩基配列 (CA/TG)  $n$  繰返し配列領域は高度に多型を示すものが多いことが知られている。そこで, 21 番染色体を単独に持つマウス・ヒト雑種細胞の高分子 DNA から精製した Alu-(CA)  $n$  配列をクローン化し, 各クローンの塩基配列を解析した。一方, 蛍光原位雑種形成法 (FISH) により 21 番染色体上にマップされたコスミドクローン (5 種類) から, (CA)  $n$  繰返し配列を含むものを取り出し, 繰返し配列領域の塩基配列を解析した。さらに, 個体のゲノム高分子 DNA を鋳型として各領域の塩基配列を PCR 法により増幅合成し, 21 染色体の多型遺伝子連鎖地図を作成することを目指している。繰返し配列の高度の遺伝的多型は, 連鎖解析を中心

とするアルツハイマー病遺伝子の探索と解析のためにきわめて有用と考えられた。

(3) 摂食行動の異常と肥満に関する遺伝学的解析(今村): Prader-Willi 症候群(PWS)は、筋組織の低緊張、軽度ないしは中等度の知能低下、低身長、小さな手、性徴発育障害などの身体発達障害とともに、摂食行動の異常と過食に基づく肥満、糖尿病の早期発症などを特徴とする小児の先天性異常症であり、70~80%の患者に染色体異常として15番染色体長腕(15q11-13領域)の欠損が認められる。この研究は、15q11-13(PWS)領域に存在する遺伝子を解析し、ひろく脳神経伝達系による摂食行動の制御機構と肥満の遺伝的要因の理解に資することとした。PWS患者の異常染色体は、患者の父親に由来し、母親に由来する染色体には、異常は見られない。一方、片親性倍数体に基づく例からも、父親に由来するこの領域の遺伝子機能の喪失が症状発現の原因であり、母親に由来する遺伝子は、生理的に「ゲノム刷り込み」によって不活性化されていると考えられる。我々は、プレメッセンジャーRNAのスプライシングに関わる小型核RNA結合タンパク質(smRNP)の一つであり、主に脳細胞で発現するSnarpN遺伝子が、PWS領域に存在し、患者細胞で発現せず、したがって、患者の母親に由来する同遺伝子は「ゲノム刷り込み」を受けていることなどを、遺伝子発現実験の結果、明らかにした。

(4) 先史人類のアメリカ大陸への進出(宝来・近藤・服部・林・園田\*・田島\*\*)

モンゴロイドの子孫は今や環太平洋地帯の広い地域に分布し、さまざまな環境に適応している。モンゴロイドにおける先史時代の拡散を研究する際、重要な問題の一つとして最初のアメリカ人、つまり“新世界への移住”という問題がある。アメリカ先住民の祖先は東北アジアからベーリング海峡を越えてアメリカのさまざまな地域に移住し、最終的に南アメリカの南端まで達したということは疑う余地はない。しかし彼らがいづ、どのような遺伝的背景や文化をもってやってきたのかははまだ十分に解明されていない。16の地域集団(チリ、コロンビア、ブラジル、マヤ、アパッチ)出身の72人のアメリカ先住民について、ミトコンドリアDNAのDループ領域の塩基配列を決定し解析を行なった。塩基配列はポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法を用いて直接決定した。72人のアメリカ先住民の482塩基対の配列を比較したところ、43の異なるタイプの塩基配列が観察された。アメリカ先住民内の塩基多様性は1.29%と推定され、これはアフリカ人、ヨーロッパ人、アジア人を含めた全ヒト集団での1.44%という値よりいくらか小さかった。また系統樹による解析からは、アメリカ先住民の系統のほとんどが4つの大きな独立したクラスターに分類できることがわかった。各クラスターの人々は他のヒト集団ではほとんどみられない特別な多型部位を少なくとも2カ所共有しており、これはアメリカ先住民が系統的にユニークな位置付けされることを示している。アフリカ人、ヨーロッパ人、アジア人、アメリカ先住民の計193人の系統樹を作成すると、4つのアメリカ先住民のクラスターは独立して全体の中に分散していることが分かった。これらのクラスターの大部分はアメリカ先住民で構成されているが、少数のアジア人も混じっていた。このことより異なる4つの祖先集

\* 鹿児島大学医学部

\*\* 愛知ガンセンター

団がそれぞれ独立して新世界に移住したのだらうと推定した。さらに同一クラスターでアジア人とアメリカ先住民の系統が最初に交わる時間から、ベーリング海峡を渡った最初の移住が1万4千年から2万1千年前頃に起こったものと推定した。またアメリカ先住民間で観察された塩基置換の特徴より、アメリカ先住民の祖先集団はきびしいボトルネックを受けたのでもなく、新世界に移住する際に、集団サイズを急に広げたのではなかったことが示唆された。

詳細は、Mol. Biol. Evol., 10, 23-47, 1993 に発表した。

(5) ヒト上科のミトコンドリア DNA の解析—同義置換速度について—(近藤・宝来・颯田・高畑): ヒト上科4種(ゴリラ, ヒト, ピグミーチンパンジー, コモンチンパンジー)のミトコンドリア DNA の相同な約 5 kb の塩基配列について詳細な解析を行なった。この領域に含まれる5つのタンパク質遺伝子(ND2, COI, COII, ATPase 8, ATPase 6)は、いずれも3文字目がCまたはAのコドンを多く用いていた。また、全体の塩基置換は転移型の置換に大きく偏っていた。特に、転移型の同義置換は多重置換を起こしやすく、その傾向はすでにヒトとチンパンジーの間(約500万年前の分岐)で見られることがわかった。そこで、ミトコンドリア DNA におけるこのような塩基組成と転移型置換への偏りを考慮する塩基置換のモデルを用いて、塩基置換のシミュレーションを行い、塩基置換の量と見かけ上の塩基の違いの量との関係を調べた。その結果、塩基組成が非常に偏っている場合には、塩基組成のわずかな違いによっても多重置換を起こす程度が変わることがわかった。比較したタンパク質遺伝子それぞれで同義置換速度が違っているように見えたが、それは遺伝子ごとに塩基組成が違うことによるものと考えられる。以上の塩基置換の特徴をもとに、ミトコンドリア DNA に適した同義サイトの数の推定方法と多重置換の補正方法を検討した。5つのタンパク質遺伝子それぞれの塩基置換パターンに従って、各遺伝子の同義サイト数を推定し、多重置換の補正を行なった。そして、あらたに各々の同義置換速度と非同義置換速度を推定した。同義置換速度は遺伝子によらずほぼ一定の値を示し、ゴリラの分岐を770万年前と仮定すると、座位当たり年当たり約 $2.37 \pm 0.11 \times 10^{-8}$ と推定された。一方、非同義置換速度は中立説から予測されるように各々の遺伝子の機能的な制約の違いを反映して異なっており、COI 遺伝子の座位当たり年当たり約 $0.8 \times 10^{-9}$ から ATPase 8 の約 $4.5 \times 10^{-9}$ の間の値が推定された。11の転移 RNA 遺伝子も、各々塩基組成や塩基置換の起こり方にはばらつきがあるが、その平均速度は座位当たり年当たり約 $3.9 \times 10^{-9}$ と推定された。また、調べた領域の転移型の置換速度は転換型の約17倍であった。詳細は J. Mol. Evol., 36, 517-531, 1993 に発表した。

(6) 台湾先住民族集団におけるヒト T 細胞白血病レトロウィルスの血清学的研究(石田\*・潘\*\*・宝来・斎藤・孫\*\*\*): 台湾の先住民族集団内でのヒト T 細胞白血病レトロウィルス (HTLV) の頻度を調査した。漢民族と9つの先住民族(アミ族, タイヤル族, ブ

\* 東京大学理学部

\*\* 台湾大学医学院

\*\*\* 省立台東医院

ヌン族、サイセット族、パイワン族、プユマ族、ルカイ族、ツオウ族、ヤミ族)の健常者797人を、ウィルス抗体の有無について、粒子凝集反応、間接蛍光法、ウェスタンブロット法で検査した。この検査で2人の陽性者が検出された。1人はサイセット族の男性、もう1人は漢民族の女性だった。ウェスタンブロット法の結果より、1型HTLVであることが判明した。

詳細は、Int. J. Epilemiology, 22, 927-930, 1993 に発表した。

(7) ミトコンドリア病の病因解析

a) ミトコンドリア脳筋症 MELAS における 3243 変異および 3271 変異の比較研究 (作田\*・後藤\*・宝来・埜中\*)

ミトコンドリア脳筋症 MELAS 型患者 50 例を分析した結果、ミトコンドリア DNA・tRNA・ロイシン (UUR) 遺伝子上の 3243 部位の変異が 38 例、3271 部位の変異が 6 例に観察された。3271 変異の患者が発症時期が少し遅い以外は、3243 変異と 3271 変異の間に臨床的、生化学的および病理学的所見に差は観察されなかった。3243 変異においては変異部位がミトコンドリアの転写終結因子の結合部位に含まれ、その結果、病気を引き起こすと考えられてきたが、3271 変異は、その因子の結合部位外に位置している。従って、tRNA 自身の機能的欠損が MELAS 患者における酵素異常の原因であることが示唆された。しかし、欠損した tRNA・ロイシン (UUR) 遺伝子が、MELAS 患者の主徴である卒中様症状を引き起こす機構に関しては、今後明らかにする必要がある。

詳細は、J. Neurol. Sci., 115, 158-160, 1993 に発表した。

b) Leigh 脳症患者のミトコンドリア DNA 塩基座位 8993 における T から G への変異 (吉永\*\*, 荻野\*\*, 大田原\*\*, 作田\*, 埜中\*, 宝来): Leigh 脳症患者を神経生理学、生化学、分子生物学の観点から研究した。症状は生後 7 カ月時の急性脳筋症の症状をもって始まった。症状は一進一退を繰り返した後、低血圧と、呼吸不全、燕下障害といった脳幹失調の徴候へと進んだ。これらの症状の後、単発性の部分痙攣および緊張痙攣を伴うてんかん発作を起こした。血清乳酸、血清ピルビン酸レベルとも上昇し、大腿四頭筋においてチトクローム C 酸化酵素活性の失活が検出された。PCR 法によって患者およびその母の血液より採取したミトコンドリア DNA の塩基座位 8993 に T から G への突然変異を検出した。正常および異常型ミトコンドリア DNA の比は、PCR 産物のデンストメーターによる解析によって、患者の血液細胞内で 56.6%、母親の血液細胞内で 8.4% と測定された。この患者の症状は母系遺伝性 Leigh 脳症と考えられた。患者の兄も同一の症状を示し 1 才 9 カ月で死亡した。

詳細は、J. Child. Neurol., 8, 129-133, 1993 に発表した。

c) ミトコンドリア DNAND4 遺伝子における 11084 変異の検討 (宝来・後藤\*・作田\*・埜中\*): Lertrit ら (1992) により、ミトコンドリア DNA にコードされる複合体 I のサブユニットの 1 つである ND4 の 11084 塩基部位の A から G への塩基置換が、MELAS

\* 国立精神・神経センター神経研究所

\*\* 岡山大学医学部小児科

に関連するとの報告がされた。この変異は、スレオニンからアラニンへのアミノ酸置換を生じること、正常白人集団には存在しないこと、およびヘテロプラスミーな DNA 変異であることから、著者らは MELAS の発症に特異的なミトコンドリアタンパク質をコードする遺伝子変異であると推定した。しかしこの変異は、MELAS の白人一患者にのみしか見い出されず、正常対照も白人集団に限られていることから、その疾患特異性に問題があること、およびスレオニン・アラニン間のアミノ酸置換は、正常人集団でも高頻度で生じる置換であることから（宝来ら、未発表）、再検討の必要が感じられた。我々は本邦における症例に関して、50 例の MELAS 患者を検討したところ、3243 変異が 34 例、3271 変異が 4 例、11084 変異が 3 例に観察された。このうち 2 例においては、3243 変異と 11084 変異を併せ持っていた。11084 変異に関して、この変異が MELAS に特異的かどうかを検討するため MELAS 以外のミトコンドリア脳筋症 40 例（MERRF: 7 例、CPEO: 19 例、分類不明のミトコンドリア脳筋症: 14 例）および正常対照 105 例に関する検討を行なった。日本人のミトコンドリア脳筋症患者計 90 例については、3 例の MELAS 患者、4 例の CPEO 患者および分類不明のミトコンドリア脳筋症患者 2 例にこの変異が観察されたが、いずれもホモプラスミーの変異であった。さらに正常対照 105 例を検討した結果、15 例（14%）にホモプラスミーな変異として見い出された。この結果、11084 変異は白人においては極めて頻度が低く、日本人では高頻度に存在する正常の多型である可能性が高く、MELAS に特異的な変異でない結論した。

詳細は、Am. J. Hum. Genet., 53, 964-965, 1993 に発表した。

#### (8) 癌関連遺伝子、蛋白質の構造と機能に関する研究

##### 研究グループについて

この研究グループでは、生化学、蛋白質化学などの蛋白質レベルでの解析手法と、DNA レベル、染色体レベルでの分子遺伝学的解析手法を組み合わせ、発癌遺伝子産物および発癌遺伝子の機能解明を目指した研究を行っている。

藤山秋佐夫助教授（RAS 蛋白質の活性発現に必要な post-translational な processing/modification メカニズムに関する研究、染色体レベルでの発癌遺伝子機能に関する研究）は、前年度からの研究を継続、発展させた。総合研究大学院大学大学院生鬼頭稲穂は、低分子量 GTP 結合蛋白質の翻訳御修飾機構に関する研究を行った。また、本年度 4 月より許昭俊（大阪大学医学研究科）が特別研究学生としてグループに参加した。受託研究員、石田 功は前年度からの研究を継続した。研究補助員として、境由美子が 4 月から 8 月まで、前島ひとみが 9 月以降勤務している。

本年度の研究には、文部省科学研究費創成的基礎研究費「ヒト・ゲノム解析研究」（代表者・大阪大学細胞工学センター・松原謙一）、文部省科学研究費補助金重点領域「ゲノム解析にともなう大量知識情報処理の研究」（代表者・京都大学化学研究所・金久 實）、文部省科研費一般研究、文部省科学研究費補助金重点領域「GTP 結合蛋白質」（代表者・理化学研究所・宇井理生）、総合研究大学院大学共同研究から研究費の補助を受けた。所外研究グループとの研究交流として、大阪大学細胞工学センター、山梨医科大学、放射線影響研

究所などとの共同研究を行った。

本年度共同研究として「ゲノムスキヤニング二次元電気泳動法による染色体ソーターで分画された染色体のスポットマッピング」(大阪大学 松原謙一), 「マルチ DNA プローブ法によるゲノム DNA ライブラリーの整列」(東京大学陶山 明) を実施した。

a) ras 蛋白質の翻訳後修飾による活性化メカニズムの解明(藤山, 鬼頭): ras は, Harvey/Kirsten 肉腫ウイルスのトランスフォーミング遺伝子として同定された発癌遺伝子である。その後, ヒトをはじめとする様々な生物ゲノムに本来存在する遺伝子であることが確認された。最近の研究から, ras 及び ras 類似遺伝子は, 細胞増殖や発生分化に関する細胞内シグナル伝達に必須な遺伝子であろうと推定されている。

動物細胞 ras 遺伝子は単一のペプチド, p21ras をコードする。p21ras が GTP 結合/GTPase 活性を持つことは比較的早い時期に見いだされた。最近になって ras 蛋白質の機能制御メカニズムについての理解はかなり進み, シグナル伝達経路の上下に存在する蛋白質が相次いで明らかにされてきている。今後は, それらの蛋白質群との相互作用に必要な ras 側の構造やそれに伴う構造変化, それらを制御する因子(群)の解析などがターゲットになる。

ras 蛋白質は形質膜に局在化されて初めて機能を発現すると考えられている。しかし, 一般的な膜蛋白質と異なり, ras 蛋白質の前駆体は可溶性で, 一連の翻訳後プロセッシングを受けて初めて膜に対する親和性を獲得する。この翻訳後修飾の一部にポリイソプレノイドの一種, ファルネシル基による C 末端 Cys の修飾が含まれていることが明らかにされ, ras 蛋白質の膜移行と機能発現に必須な修飾構造と考えられるようになってきた。この研究課題では, ファルネシル化をはじめ, ras 蛋白質の受ける翻訳後修飾の持つ生理的意義, 制御機構についての検討を行っている。

酵母 (*S. cerevisiae*) には RAS1, RAS2 の 2 種類の遺伝子があり, 各々分子量 35 kd の RAS1, RAS2 蛋白質をコードしている。ras の突然変異体では細胞内の cAMP 濃度が低いことと, ras 蛋白質が *in vitro* で cAMP 合成反応を促進することが証明されたことから, 酵母における ras 蛋白質は cAMP 合成の促進性調節因子として機能していると考えられている。一方, 蛋白質構造の面からみると ras 蛋白質は cAMP 合成酵素のような膜蛋白質と相互作用するにもかかわらず, DNA 塩基配列から推定した一次構造には膜貫通構造が無く, アミノ酸組成も親水的であるという矛盾があり, 膜親和性を高める仕組みのあることが予想された。この可能性を検討した結果, 酵母 RAS 蛋白質には主にパルミチン酸が弱いエステル結合を介して付加されており, 形質膜に局在化されている事が明らかになった。酵母 RAS 蛋白質及びヒト p21ras 蛋白質は可溶性前駆体から直接膜結合型に変換されるのではなく, 可溶性中間体を經由すること, ras 蛋白質の活性発現/膜へのアンカリングに関わる修飾構造としては, 脂肪酸エステル化だけでなく C 末端側からの 3 アミノ酸残基の除去, C 末端のメチルエステル化, Cys 残基のイソプレニル化が重要であることも明らかにされた。以上の研究により活性型 ras2 蛋白質の一次構造, 及びそれをもたらす翻訳後修飾機構の全貌が明らかにすることができたわけであるが, これは ras 蛋白質

の膜上での高次構造、相互作用因子、シグナル伝達系への関わりなどを考察する上での基本的情報であり、ras による癌化のメカニズムを理解する上で有力な手がかりとなることが期待できる。これに引き続き、本年度の研究では、分裂酵母の ras 蛋白質に関する基礎的解析を行った。この蛋白質の大腸菌での発現は従来不可能であるとされていたが、我々は、この原因が非極性表面に対する親和性であることを見だし、精製を行うとともに各種の生化学的解析を行うことに成功した。(論文準備中)

(b) ras 蛋白質及び ras 類似蛋白質の翻訳後修飾に関与する酵素群の解析 (鬼頭・藤山): 我々は ras 蛋白質の翻訳後プロセッシングについての分子遺伝学的解析も進めており、1986 年に前駆体型蛋白質から中間体への変換に必要な遺伝子、DPR1 をクローン化し、その一次構造を決定した。ras 遺伝子及び ras 類似遺伝子が多くの生物種にわたって保存されていることから、DPR1 及びそれと類似した機能を持つ遺伝子もそれに付随して保存されていると予想され、遺伝学的解析に基づいて、*S. cerevisiae* から CAL1, BET2, RAM 2 の 3 種類の遺伝子が単離されている。我々は、高等動物における ras スーパーファミリー、低分子量 GTP 結合蛋白質の細胞内輸送メカニズム、活性制御メカニズムを検討する目的のために、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) をモデル生物としてもちいることにし、前述の遺伝子の共通保存領域に基づくプライマーを設計して PCR 増幅を行った結果、いくつかの DPR1 関連遺伝子を単離した。現在、それらの機能、構造解析が進められている。

(c) ras 蛋白質翻訳後修飾系の *in vitro* 再構成 (鬼頭・藤山): ras 蛋白質の翻訳後修飾メカニズムを酵素レベルで解析することを目的とし、ポリイソプレニル化を初段階の反応とする分裂酵母の翻訳後修飾系の *in vitro* 再構成を開始した。まず、反応基質としてビオチニル化ペプチドを用いる安定かつ高感度な反応検出系の開発を行い、それを用いて第 1 段階の反応に関与する酵素 (群) の精製を開始した。ポリイソプレニル化に関与する酵素のうち、ファルネシル化とゲラニルゲラニル化に関する酵素群を分離し、さらにファルネシル化酵素についての精製を進めた。精製段階の進んだこの蛋白質は極めて不安定であり、細胞内では何らかの安定化機構が存在するか、もしくは接合胞子形成過程に特異的な発現制御が行われている可能性がある。また、部分精製標品について綿密な速度論的解析を行った結果、従来知られているファルネシル化酵素とは異なる基質特異性を示すことと、基質結合サイト数が異なることを示唆する結果を得た。(論文準備中)

#### (9) 細胞内情報伝達に関与する GTP 結合蛋白質の構造と機能に関する研究

a) 低分子量 GTP 結合蛋白質の翻訳後修飾機構に関する研究 (鬼頭・藤山): 代表的な GTP 結合蛋白質 (G 蛋白質) は、3 分子のサブユニット (a, b, g) で構成されており、膜を介するシグナル伝達において中心的な機能を果たしている。近年になり、これ以外に、単一ペプチドからなる低分子量 GTP 結合蛋白質が数多く存在することが知られるようになった。ras スーパーファミリーはその代表的なものであり、*ras*, *rap*, *rho*, *rab*, *sas*, *sec*, *ypt* など、既に 40 種類をこえる分子種の存在が確認されている。これらの GTP 結合蛋白質は、細胞内で行われる各種のシグナル伝達 (形質膜シグナル伝達や分泌、細胞内輸送に

関するシグナル伝達など)に関与し、細胞の増殖・機能制御に重要な役割を果たしていると思われているが、一部の蛋白質を除き、その機能は明かにされていない。本研究は、これらの低分子量 G 蛋白質の細胞内機能を解明するための第 1 段階とし、細胞内で合成された低分子量 GTP 結合蛋白質の各分子種が、機能を発現すべき形質膜、ER、ゴルジ装置、分泌装置などの適切な細胞内コンパートメントへ正しく輸送・局在化され前後の伝達経路との相互作用を確立するメカニズムを明かにすることを目的として計画されている。本研究により、低分子量 GTP 結合蛋白質が各々の細胞内器官に局在化されるための分子シグナルと、それを認識するメカニズムが明かになることが期待される。以上の目的を果たすための実験系として、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) のシステムを用いることにした。現在、細胞内でファルネシル化およびゲラニルゲラニル化を受けると思われている GTP 結合蛋白質の蛋白質の C 末端部分に相当するペプチドを合成し、それらのペプチドに対するイソプレニル化反応の反応性を比較検討を行っている。(論文準備中)

b) GTP 結合蛋白質介在型受容体遺伝子 *pdh1* に関する研究 (伊波・藤山): 出芽酵母 DPR1 遺伝子とホモロジーを持つ遺伝子を分裂酵母から検索した。その結果、当初予想していた、イソプレニル化に関与する遺伝子ではなく、DPR1 と弱いホモロジーを持ちながら、GTP 結合蛋白質介在型膜受容体に特徴的な 7 個の trans-membrane domain を持つ新しい遺伝子、*pdh1* を単離することができた。現在、遺伝子破壊実験、抑制遺伝子の単離、遺伝子産物の細胞内局在の同定実験などが進行中である。

#### (10) 染色体ソーティングに基づくゲノム解析

ヒト・ゲノムプログラムの進展により、人類遺伝学の内容も大きな変革を遂げつつある。遺伝学研究所は基礎研究を行うことも目的とする研究機関であり、多くの医学系研究機関や医療機関で行われる研究とは別の、独自のアプローチを模索し、実行することが必要である。また、ゲノムプログラムそのものも内容、ターゲットが急速に変貌しつつあり、将来を見越した研究計画を立てる必要がある。ヒト・ゲノムプログラムの当初計画のうち、マーカーを集積する作業はほぼ終了しつつあり、RFLP, VNTR, microsatellite マーカー等はカタログ化され一般頒布も行われ始めた。マッピングについても、FISH 法の発展により、より高精度化のものを作ることが可能にはなっているが、マーカーを点として染色体上に配置する作業の持つ意味はほぼなくなっており、今後は大規模塩基配列をめざし整列クローンを進める方がより重要な意味を持つものと思われる。FISH 法そのものについては、染色体の高次構造の解析など、より生物学的な解析を行うための重要な手段になると思われる。

(a) デュアルレーザーセルソーターによるヒト正常染色体分離技術の確立 (藤山・前島): 当研究所には、共通機器として EPICS753 型セルソーターが設置されている。機器本体ならびに分離技術の改良により、波長 338 nm と 457 nm のアルゴンレーザーを用いるデュアルレーザービーム方式により、#9~12 以外の染色体をほぼ分離することが可能になった。また、#9~#12 染色体については、新たな蛍光色素の検索、ハイブリッド細胞の使用することでかなりの程度にまで分離可能であることを明らかにできた。

(b) 単離染色体を用いる2次元マッピング法の開発(吉川・藤山): 染色体ソーターの改良により, かなりの程度に純粋なヒト染色体を得ることが可能になった. 染色体レベルでのゲノムマッピングの一つとして, 2次元マッピング法を用い, 染色体ごとの2次元スポットマップの作成を行い, ソーティングで分離可能なすべての染色体について, 特異的なパターンの作成が終了した. 現在, 各スポットの特異性についての検討を行っている. (Biochem. Biophys. Res. Commun., 196, 1566-1567, 1993)

(c) 染色体特異的ライブラリの作成(藤山, 前島): 現在用いられている染色体特異的ライブラリをDNAの由来に基づいて大別すると, ハイブリッド細胞をDNAのソースとしたものと, ソーティングにより単離した染色体を材料にしたものの2種類がある. ハイブリッド細胞由来のライブラリでは, ヒトとそれ以外のDNAを持つクローンを分離する段階でRバンド側にバイアスがかかり, 全体をカバーするライブラリーは得られないことが一般的に認識されている. 世界的にみて, 今後のゲノムマッピングの努力は, これまで行われてきたようなマーカーの相対的位置を不連続的にならべる作業から, 各クローンを線として繋げる整列化クローンの作成に向けられており, 本質的に不連続なクローン集団しか得られないハイブリッド細胞由来のライブラリを作成し維持する価値はほとんどない. 以上のような将来的問題に対処するには, バイアスのかからない染色体特異的ライブラリーを今から用意しておく必要がある. 幸い, (a)での技術開発によるソーティングスピードの高速化により, DNA材料として染色体を量的に確保する見通しがついた事から, 我々は, ヒト染色体に特異的なライブラリの作成を順次進めることを計画した. 現在, ライブラリー作成のためのプロトコルを策定しつつ, ヒト染色体の大量ソーティング作業を進行させており, 一部の染色体については, ライブラリー作成に十分な量の染色体の調製を完了した.

(d) 単離ヒト染色体の細胞導入に関する研究(石田・藤山): 発がん遺伝子, がん抑制遺伝子の検出とマッピングを目的とし, セルソーターで単離した染色体を培養細胞に導入する技術開発を開始した. ホスト細胞への導入方法として, 細胞融合法, マイクロインジェクション法等についての比較検討をおこなっている.

(e) ヒト第2染色体長腕領域の微細マッピング(許・藤山): ヒトの第2染色体2p2領域には, 肝臓癌組織から単離された発がん遺伝子1ca/1coが存在する. この領域の大規模マッピングと発現領域の同定を目的とし, ライブラリの作成と微細地図ヲ作成する作業を開始した.

(11) ヒトゲノムデータベースの構築に関する研究(藤山・鬼頭・許): ヒト遺伝子の構造に関する情報は, 塩基配列データベースとしてはGenBank/EMBL/DDBJの国際塩基配列データベースに, 蛋白質一次構造としてはPIR/SWISSPROTに, またマッピングデータはJohns Hopkins大学で運用されているGDB/OMIM(Genome Data Base)に収録されている. 我々は, その中でもヒトの遺伝子領域に着目したデータベースの構築を計画し, Macintosh上で作動するものとして, GDB/OMIMのうち, ヒト遺伝子に関するもののみを収録した関係データベースMacGeneを構築した. 現在, 収録範囲をDNAと蛋

白質の一次構造にまで広げる予定で作業を進めており、DDBJのftpサイトで公開予定である。

### E-b. 育種遺伝研究部門

当部門は、有用生物の遺伝と育種に関する基礎的研究を行うことを目標として活動している。現在は、教授森島（沖野）啓子、助教授佐野芳雄、助手佐藤（平岡）洋一郎、平野博之が中心となり、主として野生イネおよび栽培イネを材料として、分子・個体・集団・群落のいろいろなレベルからの研究に取り組んでいる。現在進行中の課題は従来からの研究テーマである進化・適応の問題に加えて、発育遺伝学や遺伝子の発現調節に関するものもあり、いずれも生物の遺伝的改変の基礎として重要な諸問題である。職員以外では、陳文炳（岐阜大学連合大学院・受託学生）が当部門で行ったイネの栽培化に関する研究により岐阜大学連合大学院より農学博士の学位を受けた。本橋君子（総研大）および山口雪子（総研大・研究生）はイネ *wx* 遺伝子座に関する研究を開始した。また従来通り、技術課の妹尾治子、永口貢、宮林登志江および多数のパートタイマーの人達の協力を得た。

本年度、経常研究費以外に補助を受けた主な研究費は、文部省科研費の国際学術研究「アマゾンの植物資源に関する生態遺伝学的調査」（代表・森島）、同じく「熱帯アジアにおけるイネ遺伝資源の生態遺伝学的調査 第4次」（代表・佐藤）、一般研究B「植物遺伝子資源の自生地における保存に関する基礎研究」（代表・森島）、同じく「イネ野生遺伝子の再評価」（代表・佐野）、重点領域研究「植物ホルモンによる細胞形態構築の制御機構」（代表今関英雄・班員平野）、総研大共同研究「細胞複合体構築の分子機構」（代表西村幹夫・班員平野）、総研大グループ研究「生命体の科学」（代表高畑尚之・班員森島）、農水省イネゲノム研究プロジェクト「リボゾームRNA遺伝子群の解析」（佐野）などであり、この他いくつかの総合研究の分担者として補助を受けた。

遺伝研共同研究としては、次の5件の共同研究を受け入れ、所外の研究者との活発な交流を行った。「高等植物におけるアルコール脱水素酵素の分子進化学的研究（東大・矢原徹一）」、「イネの発生過程の遺伝学的解析（東大・長戸康郎）」、「高等植物の *waxy* 座遺伝子と転移因子の分子遺伝学的解析（横浜市大・野田和彦）」、「イネの分化と地理的分布に関する生態遺伝学的研究（東北大遺生研・佐藤雅志）」、「高等植物の発生・分化を調節する突然変異遺伝子の研究（東大・米田好文）」。また植物関係の4件の研究集会、「Evolutionary Dynamics in Cultivated and Wild Plants（東女子大・福田一郎）」、「地球環境危機と遺伝育種学（静岡大・中井弘和）」、「日本における主要作物の起源と伝播（九州大・小西猛朗）」、「地球環境の変動と植物生態遺伝学（北大・島本義也）」を当部門がお世話した。特に第1の研究会は、8月に横浜で開催された国際植物学会議の出席者から数人の参加を得て、国際的集会とすることができた。

外国との共同研究も従来から引き続いて行われ、5月から6月にかけて、森島がサンパウロ大学との共同研究アマゾン流域の調査に、10月には佐野が中国野生イネの遺伝学的研究のため北京・南昌・広州に、12月には佐藤がラオス・タイにイネ遺伝資源調査のた

め出張した。これら国際学術研究の現地での共同研究者であるサンパウロ大 P. Martins 教授を 8 月に、またタイ農業省の Boriboon 氏を 11 月に招聘し、今後の研究打ち合わせを行った。その他、8 月に佐野が英国で開かれた国際遺伝学会に、また 11 月に森島・佐藤が台湾で開かれたアジア太平洋州育種学会に出席し、それぞれ研究発表を行った。

以下に本年度進展のあったいくつかの課題について触れる。

(1) イネ白葉枯病抵抗性の集団生物学的研究(森島・宮林): イネ白葉枯病は *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* によって引き起こされるイネの重要な病気で、病原細菌の側にも多様なレース分化があり、イネの側にもこれらのレースに特異的に反応する多数の抵抗性遺伝子が知られている。私達は宿主・病原菌システムの集団生物学的研究を行っており、これまでに野生イネや在来イネの集団内に見られる抵抗性多型の様相や、生育地の環境条件が抵抗性遺伝子の頻度におよぼす影響などを明らかにした。本年は以下の点について新しい知見を得た。

#### (a) 野生イネ集団の持つ抵抗性の遺伝子分析

抵抗性に関して高い多型性を示したタイ国の一野生イネ集団から、供試病原細菌 4 レースのすべてに抵抗性、すべてに感受性、およびその中の 2 レースに抵抗性を示した 3 系統を選び、その相互間交配から得た F<sub>2</sub> 集団における抵抗性反応の分離を調査した。その結果、この集団中には少なくとも 2 ヶ以上の異なる優性の抵抗性遺伝子が含まれていることがわかった。すでに同定されている抵抗性遺伝子のうち全 4 レースに抵抗性を示す *xa-5* および *Xa-7* との対立性を調べるため検定系統との交雑 F<sub>2</sub> を調査したがそのいずれとも異なることも明らかになった。以上のことから、一つの自然集団は内部に多数の異なる抵抗性遺伝子を保有していることが予想された。

#### (b) 抵抗性コストはあるか?

一般に抵抗性の集団内多型は、抵抗性コスト(抵抗性が不要でない場合には感受性個体の方が適応度が高い)により維持されると考えるか、宿主の複数の抵抗性遺伝子とそれに特異的に反応する病原菌の遺伝子との頻度依存選択により維持されると考えるかの 2 つの説明が可能である。イネ白葉枯病抵抗性に関して抵抗性コストがあるかどうかを調べるために、多型的な野生イネの一集団および、その中から選んだ抵抗性系統と感受性系統の交雑 F<sub>2</sub> 集団を栽培した。分けつ期に各個体を 2 つに株分けし、同じ遺伝的構成の供試集団を各 2 セットつくり、一方は白葉枯病抵抗性を他方は収量形質を調査した。自然集団の個体間では、採種年次や用いた病原菌レースによって抵抗性と種子生産性との間に負の相関(抵抗性コスト)、正の相関、無相関が現れ、抵抗性コストを実証することはできなかった。時に現れる有意な相関は、この野生イネのもつ高い自殖率のため抵抗性遺伝子と種子生産性に関与する遺伝子が gametic disequilibrium の状態にあるためと考えるのが妥当と思われる。F<sub>2</sub> では全く相関が認められず、多面発現や連鎖もないと思われる。したがってこの多型の維持には第 2 の可能性、すなわち抵抗性遺伝子と病原性遺伝子の頻度依存選択が考えられるので、今後この点について調べる予定である。

(2) アマゾンにおける植物遺伝資源の生態遺伝学的調査(森島・島本\*・大原\*・Martins\*\*・Ando\*\*・Oliveira\*\*): アマゾン河中流沿岸の植物遺伝資源の生態遺伝学的調査を、イネ属野生種を中心に行った。1992年にはアマゾン大支流の一つネグロ河を、1993年には本流のソリモンエス河を遡行し、合計103地点での調査を行い *Oryza glumaepatula* (2倍体種) 68集団、*O. grandiglumis* (4倍体種) 61集団から種子を採集することができた。*O. glumaepatula* は二つの河に広く分布していたが、*O. grandiglumis* はpHが高く栄養塩類に富むソリモンエス河には分布するがpHが低く貧栄養のネグロ河には少なく、両種の水質に対する適応性の幅に差があることがわかった。減水期に比べると約10mも増水するアマゾンの急激な水深の増加に適応するのに、*O. grandiglumis* は高い節間伸長能力をもって茎を伸長するのに対し、*O. glumaepatula* はある程度伸長した後、茎が折れて水上に浮かび生育を続ける。両種は時には共存しているが、*O. glumaepatula* は主として種子で、*O. grandiglumis* は栄養茎によって繁殖をしていることが種々の状況証拠から明らかになった。移住の方法は鳥によって食べられて運ばれる他、草食魚により運ばれるのもアマゾンの特徴である。また *O. glumaepatula* は生育後期には浮草的になる場合が多く河の水に流されて下流へ長距離の移動をすると推定された。複雑な水系に分布する野生イネにどのような集団構造が生じているかを分子的マーカーを用いて調査する予定である。*O. glumaepatula* はアジアの栽培イネ(*O. sativa*) やその祖先野生種(*O. rufipogon*) とゲノムを共有する近縁種であるが、アマゾンという深水中で赤道直下という特異な環境に適応した結果、私共が今までイネに関して持っていた常識とは合致しないさまざまな興味ある特性を持っていることがわかり、その遺伝的機作の解析を計画中である。

(3) アルコール脱水素酵素遺伝子の上流域の塩基配列によるイネ属の系統解析(大井\*\*\*・矢原\*\*\*・村上\*\*\*・森島): 本研究は遺伝研共同研究(代表・矢原)のグループによる研究の結果である。イネ属AAゲノムを持つ5種14系統について、核ゲノムにコードされる *Adh* 遺伝子の発現調節領域を含む上流域約300塩基をPCR法により増幅し、塩基配列の多型を調べた。その結果、各系統1個体から1種類の塩基配列が得られた。これらを整列して比較したところ22の変異が見出された。この情報を用いて遺伝子の系統樹を推定したところ、アジアの種とアフリカ・南米の種が別のクラスターを作ること、アフリカ栽培イネの中にはアジアの栽培イネと浸透交雑を起こしたと思われる系統があることなどが指摘された。この系統樹によると、上流域の変異は末端枝で起きているものが大部分であった。このパタンの統計的検定の結果は、上流域の塩基配列多型は中立ではなく弱い純化選択を受けていることを示唆した。

(4) イネの交雑不親和性遺伝子(*Lcr1*) (佐野): 栽培イネの野生祖先種である多年生野生イネ系統(W593)は、第6染色体上に進化遺伝的に意味があると考えられる雑種不稔( $S_6$ )・感光性( $Se_1$ )・感光性増幅( $En-Se_1$ )を支配する遺伝子に加えて、交雑親和性を著しく

---

\* 北大

\*\* サンパウロ大

\*\*\* 東大

低下させる  $Lcr_1$  遺伝子が座上していた (Internat. Crop Sci. I, CropSci. Soc. Am. Madison, WI., 437-443, 1993). イネ第6染色体上に存在する遺伝子配列は  $Wxa-En-Se_1-(Lcr_1-C)-Se_1-S_6$  であって、交雑不親和性遺伝子 ( $Lcr_1$ ) については次のことが判っている。

i) 一方向的な交雑不親和性を引き起こし、 $Lcr_1$  を持つ雌性親が台中 65 号 (T65,  $Lcr_1+Lcr_1^+$ ) からの花粉と交配した時のみ交雑成功率が低下するが、その逆交雑は正常である。  
 ii) 交雑成功率の低下は受精後の異常に起因する。iii) ヘテロ型 ( $Lcr_1/Lcr_1^+$ ) の  $Lcr_1^+$  を持つ花粉は正常に後代に伝達される。iv) W593 由来の  $S_6$  を含む染色体断片によって  $Lcr_1$  の効果を消去することができる。これらのことから、交雑成功率の低下は雌性側の  $Lcr_1$  と花粉由来の遺伝子との相互作用によって引き起こされると予想される。今回新たに、 $Lcr_1$  を抑制する因子について次のことが判った。

1) 雌性親が  $Lcr_1$  をもつ交配で、一般に Japonica・Javanica は交雑成功率が低く、Indica・野生イネでは交雑成功率が高かった。

2) W593 および Patpaku (Indica) からそれぞれ第6染色体の  $Wx^a$  から  $Se_1$  までの領域を T65 に導入すると、雌性親が  $Lcr_1$  をもつ場合にも交雑成功率は低下しなかった。また、Patpaku からの導入系統は T65 との相反交雑で交雑成功率を低下させないので導入断片には  $Lcr_1$  は座上しないと考えられた。したがって、その導入断片には  $Lcr_1$  を抑制する因子が座上することになる。

3) 導入断片を細分化して、 $Lcr_1$  に対する抑制効果を調査した。Patpaku からの導入系統では、 $Wx^a$  から  $Se_1$  をふくむ大断片の抑制効果が最も著しいが、 $Wx^a \cdot C^+$  または  $Se_1$  のみをもつ小断片も程度は低いが抑制効果が認められるので複数の抑制因子が第6染色体に座上すると考えられた。一方、W593 では  $S_6$  の近傍に強い抑制遺伝子が存在すると考えられた。

最近になって、イネ品種間に交雑不和合性が存在し育種上の障害となることが判り、この交雑不和合性が耐病性遺伝子を導入した際の供与親である野生イネに由来することが指摘された。野生イネに由来する有用遺伝子は今後も広範に品種育成に利用されるので、交雑不和合性の遺伝解析は応用的にも緊急な課題となってきた。今後、 $Lcr_1$  が認識する花粉側遺伝子の作用を明かにするとともに分子マーカーを利用して遺伝子作用の詳細を調査する予定である。

(5) イネ雑種不稔遺伝子  $S_5^1$  と  $S_5^2$  は存在するか? (佐野): イネの雑種不稔現象を明かにすることは、交雑育種上重要であるだけでなく、種成立に関する必須過程を明かにする点で注目され続けてきた。イネには種間・種内に異なる程度の雑種不稔が起きるので、集団分化によって引き起こされる生殖的隔離の進化過程を明かにする上に都合がよい。長年にわたる調査から、イネ雑種不稔は多様な遺伝子に支配されているものの、配偶子レベルで遺伝子が発現し不稔因子が効率的に淘汰されるものが多いことが判ってきた。利己的な行動をとる因子については、ショウジョウバエ・マウス・アカパンカビで集団内多型の観点から研究が進んでいるものの、イネでは類似した因子やそれらの作用を変更する因子が生殖的隔離として多数存在するものと予想され、これら因子の生物学的意義や進化遺伝学

的意義を明かにするための格好の機会を与えている。広親和性遺伝子  $S_5^*$  はインド型と日本型の雑種  $F_1$  に起こる不稔を緩和する遺伝子として見いだされ、その育種的利用について期待されている。ところが、雑種不稔遺伝子  $S_5^*$  と  $S_5$  は  $S_5^*$  の不稔緩和作用を説明するために仮定されたにもかかわらず、両対立遺伝子が不稔を起こすかどうかは遺伝学的に未だに証明されていない。この雑種不稔遺伝子は雌配偶子が選択的に淘汰される雌配偶子キラーと考えられる。この種の雑種不稔遺伝子がイネに広く分布するかどうかを検討するため、 $S_5^*$  と  $S_5$  をもつと仮定されたイネ 2 品種 (IR36 と T65) に両対立遺伝子が実際に存在するかどうかを明かにする目的で実験を行った。

$S_5^*$  と  $S_5$  の間で生じる雑種不稔に関する遺伝子作用仮説は、[ヘテロ型 ( $S_5^*/S_5$ ) でのみ  $S_5^*$  をもつ雌性配偶子が致死となるが両ホモ型は正常となる] というものである。また、 $S_5$  は C の近傍に位置している。この仮定から、次のことが期待される。1)  $F_1$  ( $S_5^*/S_5$ ) に T65wx を花粉親として戻し交雑すると、 $S_5^*/S_5^*$  (不稔) のみが分離する。2)  $F_1$  ( $S_5^*/S_5$ ) を花粉親として T65wx に戻し交雑すると、 $S_5^*/S_5^*$  (不稔) と  $S_5^*/S_5$  (稔) が 1:1 に分離する。3)  $F_2$  で稔性の高い分離個体の遺伝子型は  $S_5^*/S_5^*$  であると期待されるので、T65wx に戻し交雑を進めると  $S_5^*/S_5^*$  (不稔) のみが分離する。4) 不稔個体 ( $S_5^*/S_5^*$ ) では  $S_5$  と連鎖する wx 座に分離の歪みが見られる。以上のように、雑種不稔遺伝子  $S_5^*$  と  $S_5$  は容易に分析可能であるにもかかわらず、得られた結果はその存在を支持しない。詳細は Theor. Appl. Genet., 86, 148-152 に発表した。

(6) 表現型可塑性と生育相変換制御 (佐野・永口): 環境の変化を植物が感知して形態形成に関わる遺伝子発現パターンを可変的に変更する能力すなわち表現型可塑性は、変動する環境下で植物が適応する上に重要である。イネに見られる浮き稲性はその代表的事例の一つであって、洪水が来たとき節間の急激な伸長を促して水没を回避するが、こうした変化は洪水がこなければ起こらない。水没したとき急激な節間伸長を引き起こす  $dw_3$  遺伝子が見いだされ、非浮き稲にこの遺伝子を導入すると 2 m 以上の水深下でも生育できるようになる (J. Hered., 84, 201-205, 1993; Jpn. J. Breed., 43, 135-139, 1993)。この  $dw_3$  遺伝子は浮き稲性発現の鍵となる遺伝子と考えられるが、他の適応形質同様に量的な形質を支配する中の主要因子の一つに過ぎないと思われる。イネが規定する発育遺伝的カスケードの中で、この遺伝子がどのようにして環境変動に应答して形態変化を遂げるかを明かにすることは、発育遺伝的カスケードの可塑性の適応的意義を理解する上で興味が持たれる。

植物の最も顕著な生育相変換は生殖生長への移行である。植物は環境依存的に花芽誘導を決定することによって高度な可塑性を獲得する。 $dw_3$  遺伝子によって発現する適応的形態変化も、花芽誘導を遅らせ茎葉を形成することによってストレスを回避する戦略であると考えられる。異なった生育時期に植物を水没させて、生長点の花芽形成を調査したところ、発芽後 9 週以前に水没させると花芽が形成されるべき位置に順次伸長節間が形成され生存し続けるが、発芽後 10 週目で水没させた場合には水中で花芽が形成され枯死した。発芽後 10 週目は幼穂分化初期にあたり、この時期に植物が水没すると穂の形成だけでなく上部 2 つの節間の伸長も著しく阻害された。したがって、発芽後 10 週目には既に花芽

形成が決定されており、ストレスに応答して伸長節間を頂端に付加することが出来ないものと考えられる。発芽後9週目から経時的に水没させ形態異常の程度を比較すると、まず最初に上部節間の伸長阻害が起こり、節間数の減少に続いて穂形成の異常が引き起こされた。このことは器官決定の順序を反映するものと考えられる。このように、発芽後9週目から10週目にかけての可塑性は漸次減少するので、花芽決定への経過を今後詳細に調査出来る可能性が指摘できる。ストレスに応答した頂端分裂組織における器官決定は非浮き稲系統にも弱いながら認められるので、*dw<sub>3</sub>* 遺伝子の役割はストレスを回避して環境依存的に花芽誘導を可逆的に決定できる潜在的能力を発揮させることにあると考えられる。

イネの花芽誘導と誘導解除は日長によっても支配される。日長による花芽誘導の遺伝支配については多くの研究が有るにもかかわらず、花芽形成過程については経時的な形態変化以外良く判っていない。幼穂分化期における一つの構成単位・ファイトマー（茎・葉・節）の形成に必要な期間は約1週間であるので、頂端分裂組織の幼穂分化決定迄の時間は幼穂への形態分化に先立つ1週間であると考えられ、浮き稲の結果と一致する。花芽誘導の解除については情報は少ないが、最近になって感光性の強さや日長によって異なった反応をすることが判ってきた。すなわち、穂・花器の形成途中においてすら外界からのシグナルにより生育相の転換がみられ、子孫を残すための高度な可塑性が生殖器官の分化過程に見られる。現在、高度な可塑性をもたらせる頂端分裂組織の可塑性の遺伝要因を解析する目的で、異なった感光性遺伝子を組み合わせた系統を育成し、花芽誘導と誘導解除の過程について詳細な調査を進めている。今後、浮き稲での反応とを比較することによって花芽形成過程と可変的相変換を新しい視点から解析できるものと期待している。

(7) イネの rDNA 変異 (佐野・平野): リボソーム RNA 遺伝子群には超可変領域があり、非転写領域の長さについて高い不均一性を示すが、これら多重遺伝子族の動態や生物学的意義については良く判っていない。非転写領域内の比較を行ってイネ分類上の問題を再検討してきたところ、今までに次の事が判ってきた。

1) アメリカ産野生系統には、非転写領域のサイズと微細構造の違いからアメリカ産系統に特異的な3つの変異に加えて、アジアの栽培・野生複合体に共通な変異が混在した。これら2つのグループの1つは性的親和性の調査から明かに *O. rufipogon* であると考えられ、*O. glumaepatula* は性的親和性と rDNA の変異から明瞭に識別された。この事実は、アメリカ産野生系統とアジア産野生系統が同じ genepool をもつとする考えを否定する。

2) オセアニア産野生系統には、非転写領域のサイズと微細構造の違いから *O. meridionalis* 特異的な変異に加えて、アジアの栽培・野生複合体に共通な変異が混在することが判った。rDNA 変異に基づいて *O. meridionalis* 系統を整理し性的親和性を調査したところ、これら2つのグループの1つは *O. rufipogon* であると考えられ、*O. meridionalis* も性的親和性と rDNA の変異から明瞭に識別された。アメリカ産野生イネの場合と同様に、性的隔離が明瞭な分類単位の識別には rDNA 非転写領域の多型は極めて有効であった。

3) rDNA 非転写領域の多型はアジア栽培イネの分化についても新しい知見を提供すると考えられた。すなわち、*Japonica* 型に特異的に見られる 4.5 kb *Bam*HI 断片をもつ変異

体は、中国以外の熱帯産系統にはほとんど存在しないが、中国・東郷産野生イネには高頻度に存在することが判明した。このように、熱帯産野生イネとの比較だけに基ずく従来の類縁関係は、中国産系統など情報の少なかった系統を加えて再考する必要が生じた。rDNA 非転写領域内の SalI サイトを比較したところ、東郷産野生イネ由来の 4.5 kbBamHI 断片は、Japonica 型由来の 4.5 kbBamHI 断片とは異なる起源を持つことが示唆された。他方、4.85 kbBamHI 断片については、中国産野生イネおよび栽培型イネで同じ微細構造を示した。Japonica 型との雑種における性的親和性の調査から、中国産野生系統と熱帯産野生系統に差異はなかった。すなわち、中国産野生系統が熱帯産野生系統より Japonica 型と高い性的親和性をもつとは認められなかった。

4) イネには rDNA 座位数の変異があるが (Genome, 33, 209-218, 1990), 多くの雑種後代の分析から、座位数とその種類に多様性が認められた。インド型白殻とグラベリマ (W025) は各々アジアの栽培-野生複合体およびグラベリマだけに検出される rDNA クラスターをもつ。これら種特異的なクラスターを互いに他の種へ導入したところ、稔性もよく外来の rDNA クラスターは単純なメンデル遺伝を示して正常に後代に伝達された。このことは、両者のクラスターが同じ染色体に 1 つ座上していることを意味し、かつ外来の rDNA クラスターが他種の遺伝的背景下で機能的に発現していることをも示す。したがって、rDNA 非転写領域の多型が機能的差異を伴って系統分化に貢献する可能性は低いものと結論された。

以上のように、多重遺伝子族の rDNA 非転写領域の多型はイネ系統の分類上の混乱を解決するのに極めて有効であったので、問題が残っている他のイネ分類単位を再検討する場合にも容易に適用でき、有用な情報を与えるものと思われる。今後、多重遺伝子族以外の可変領域の変異の集積を待って、ゲノム分化を総合的に検討することが必要であろう。

(8) *wx* 遺伝子座の量的発現制御 (平野・菊地\*・佐野): イネの *wx* 遺伝子座には、その遺伝子産物 (Wx タンパク質) の発現量から見て少なくとも二つの野生型対立遺伝子が分化している。一方は栽培イネの代表 *Oryza sativa Japonica* の持つ  $Wx^b$  であり、他方は *Indica* や *O. glaberrima*、野生イネなどの持つ  $Wx^a$  で、後者の Wx タンパク質は前者の約 8 倍程度の発現量である。Japonica の遺伝的背景に *Indica* あるいは *O. glaberrima* の  $Wx^a$  を遺伝的に導入した準同質遺伝子系統を用いて、登熟種子中の Wx mRNA を調べたところ、Wx タンパク質と同様、 $Wx^a$  では  $Wx^b$  の 10 倍程度の発現が認められた。Japonica と *Indica* の mRNA 間には塩基配列の違いはほとんどないので、この発現量の違いは転写レベルで制御されていると考えられる。また、*wx* 座は胚乳と花粉において組織特異的に発現するが、花粉においても  $Wx^a$  と  $Wx^b$  の発現量の違いは同様に認められた。したがって、 $Wx^a$  と  $Wx^b$  の違いに関わるプロモーター領域は組織特異性を規定するシス領域とは独立と考えられる。

胚乳の核は 3n であり、異なる対立遺伝子を持つイネの相反交雑により一方の対立遺伝

\* 道立中央農業試験場

子の数を0~3個に変えることができる。これを利用して、遺伝子量効果 (gene dosage effect) および  $Wx^a$  と  $Wx^b$  の相互作用について解析した。野生型と変異型の相反交雑では、タンパク質および mRNA の双方のレベルで遺伝子量効果は明瞭に認められ、野生型の対立遺伝子の数に比例して発現量が増加した。野生型同志の  $Wx^a$  と  $Wx^b$  との相反交雑では、 $Wx^a$  の数に依存した発現量であった。このことは、両対立遺伝子が核内に共存しても互いに相互作用することなく、それぞれの発現量が独立に調節されていることを示唆している。

$wx$  座は種子胚乳中のアミロースの合成を支配しており、この遺伝子座の欠損株はアミロースを全く合成できず、デンプンがすべてアミロペクチンからなるモチ米を生じる。アミロース含量 (全デンプンに対する割合) は米の品質に影響を与える。Japonica ( $Wx^b$ ) のアミロース含量は15~16%、 $Wx^a$  を持つ Indica や野生イネでは27~28%であり、その米の質は前者が適度な粘り気を持つのに対し、後者はパサパサである。さらに、 $Wx^b$  と変異型の相反交雑による  $F_1$  種子の場合は、 $Wx$  タンパク質の量とほぼ比例してアミロース含量が増加した。これらのことは、種子に蓄積されるアミロースの量は、その合成酵素である  $Wx$  タンパク質の量、すなわち  $wx$  座の働きによって調節されていることを示している。したがって、 $Wx^a$  と  $Wx^b$  のを規定するシス因子の同定など  $wx$  座の発現量を制御する分子機構を解明し、プロモーター領域の改変やトランスジェニック・イネの作製を通して、アミロース含量を任意に調節し米の品質を変更することが可能になると考えられる。

### E-c 応用遺伝研究部門

九州大学生体防御医学研究所渡辺武教授が客員となり、人類遺伝研究部門と協力しながら B リンパ球系細胞分化と遺伝子発現の調節との関連について研究を行った。また、京都産業大学米沢勝衛教授が育種遺伝研究部門と協力して植物集団に関する研究を行った。

研究課題 1: ヒト免疫グロブリン遺伝子の発現調節機構の解析 (渡辺): 我々は、ヒト H 鎖遺伝子が B 細胞特異的に発現するメカニズムについて、従来より研究を続けてきた。特にそのエンハンサー機能の発現について解析を行ない、いくつかの重要な DNA 領域を同定し、そこに結合するタンパク分子の遺伝子を解析した。真核細胞の多くの遺伝子は、細胞特異的あるいは分化過程特異的に発現することが知られている。このような遺伝子の発現調節は、個々の遺伝子が保有しているシスに働く DNA 領域 (調節領域) とそれらの調節領域に直接あるいは間接的に働きかけるトランスに作用する調節タンパクによって行なわれる。

免疫グロブリン遺伝子は、B 細胞系列の細胞でのみ再配列が生ずるが、再配列を終えた抗体遺伝子であっても、その発現は B 細胞でのみ生ずる。我々は、二つのエレメント HE2 (B) と E6 を同定し、それぞれ単独で B 細胞特異的なエンハンサー活性を示すことを証明した。HE2 (B) はマウス H 鎖遺伝子エンハンサーにおいても、オクタマー配列とともに重要であるとされているが、マウスの B は単独で B 細胞特異的エンハンサー活性を示さないのに対して、ヒト HE2 (B) は同エンハンサー活性を有することが、*in vitro* 及び *in vivo*

(トランスジェニックマウス)において示すことができた。現在、HE2に結合するトランスアクティングファクターの遺伝子のクローニングを行なっている。一方、E6はヒト抗体H鎖遺伝子エンハンサー下流領域に新たに我々が見出したエレメントであり、やはり単独でB細胞特異的な活性を有する。

(2) 植物遺伝資源系統に保有される遺伝子多様性の減少を最小にする世代更新方式(米澤・森島): 現在、世界各地の植物育種センターには莫大な数の遺伝資源系統の種子が収集・維持されているが、これら系統の種子は何年かに一回は必ず世代更新しなければならない。この場合問題になるのは、当初系統内に保有されていた遺伝子多様性が世代更新に伴って次第に減少する点である。本研究では、限られた人的および設備上の制約の下でこの減少をできるだけ抑えるという視点から、5つの世代更新方式、すなわち、2親交配方式(栽植した $N$ 個体を無作為に $N/2$ の対にして、対をなす2個体間で交配を行い、次代個体は各対の両個体から1個体ずつ、あるいは、各対の雌親から2個体を残す方式)、1個体1子方式(すべての栽植個体から次代個体を1個体ずつ残す方式)、部分採種方式(栽植個体の1部のみから採種し、各採種個体から同数の次代個体を残す方式)、分割維持する方式(各系統をいくつかの分集団に分けて維持する方式)、および対照としての混合繁殖方式(栽植個体のすべてから混合採種し、次代個体はそこから無作為に抽出した種子から育成する方式)について、集団の有効な大きさと当初の遺伝子多様性が十分多くの世代にわたって維持される確率を求め、その優劣を比較した。

自殖率が約60%以上の高い系統においては、1個体1子方式を適用することによって、遺伝子多様性の維持確率を大幅に改善することができる。他殖性の系統の場合は2親交配法が最も効果的であるが、労力的に実施困難な(あるいは、ごく少数の個体組み合わせでしか実施できない)場合がほとんどであろう。この場合は、袋かけなどによる人工的自殖と1個体1子方式を併用するのが最も効果的であるが、自殖ができない系統の場合は、1個体1子方式あるいは分割維持方式を用いれば、混合繁殖方式よりも高い遺伝子多様性が維持できる。部分採種方式は、栽植個体数が同一でも、採種個体が少ない場合は遺伝子の多様性を著しく損なう。

## F. 遺伝実験生物保存研究センター

当センターは、従来からの5研究室に加え、新しく認められた発生工学研究室に、哺乳動物保存研究室に所属していた中辻憲夫教授・白吉安昭助手が移り本格的に活動を開始した。人事面では、5月に細胞遺伝研究部門城石俊彦助手が哺乳動物保存研究室助教授として移り、9月には微生物保存研究室に新しく金丸研吾助手が採用された。研究と系統保存業務の両立という難しい問題をかかえながらも、新しいスタッフを得て、本センター運営の基本方針を再検討し将来構想にそった整備充実をめざして全員が努力している。

### F-a. 哺乳動物保存研究室

細胞遺伝研究部門城石俊彦助手が平成5年5月に助教授に昇任し当研究室に配置換えに

なった。城石助教授は、引き続きマウス MHC 領域における相同染色体間組換え機構、MHC 領域内組換え体に生じる高頻度可視突然変異生成機構の研究を継続した。また、マウス胚芽パターン形成を形態形成のモデルとして取り上げポジショナルクローニングを目指した遺伝解析を開始した。尚、城石助教授の研究概要は、平成5年度に限り細胞遺伝研究部門の欄に掲載した。宮下信泉助手は、マウス腫瘍発生における遺伝的要因の解析を進めた。中国産野生マウスによる遺伝的変異の探索を行った。また、国際学術研究「中国における動植物の遺伝的分化に関する日中共同研究」のため、11月30日から12月15日まで、天津市労働衛生職業病研究所（天津）、衛生部蘭州生物製品研究所（蘭州）および中国科学院上海実験動物中心（上海）において、主に野生マウスの遺伝的分化に関する共同研究を行った。

ネズミ類の系統保存事業としては、「系統保存費」および「科学研究費（がん特別研究）」等により、平成5年12月現在、88系統のマウスおよび1系統のラットを当センターのネズミ附属棟において SPF の状態で維持・保存している。これらの系統に関しては、実験動物中央研究所モニタリングセンターに依頼して、定期的に遺伝学的および微生物学的モニタリングを行っている。また「免疫遺伝学研究用マウス系統維持事業費」により、昨年引き続き藤井美香氏が日本クレア株式会社より派遣され、主にマウス受精卵の凍結保存を担当した。現在、2細胞期胚で173系統、8細胞期胚で62系統のマウスの受精卵を凍結保存している（進行中の系統も含む）。上記の系統の供与により所内の研究援助を行うと共に、国内・国外の大学・研究機関からの系統分与の依頼にも応じている。

(1) 野生由来マウス系統が保持している肺腫瘍発生に抑制的に働く遺伝子のマッピングについて（宮下・城石・若菜\*・米川\*\*・森脇）：東南アジア産野生マウスより新たに育成した肺腫瘍発生低発系の BGR 系統と、高発系の近交系 A 系統の交雑より得られた子孫を用いて、肺腫瘍発生実験を行った。さらに、生化学標識遺伝子の多型解析、サザン法、マイクロサテライト DNA を用いた PCR 法による連鎖試験を行い、BGR 系統が保持している肺腫瘍発生に抑制的に機能している遺伝子のマッピングを試みた。

その結果、①BGR 系統の *Pas-1* 遺伝子（第6染色体に存在する肺腫瘍発生の主要遺伝子）の対立遺伝子は A 系統と異なる抵抗性の対立遺伝子であること、②抑制的に機能する対立遺伝子は複数存在し、しかも *Rb*, *p53* 等の既知の抑制遺伝子とは異なる遺伝子であることが判明した。

### F-b. 無脊椎動物保存研究室

当研究部門では、ショウジョウバエの系統を保存し、その特性を生かして発生の研究を行なっている。上田助手と原田技官は、ショウジョウバエとカイコを用いて発生にかかわる転写因子の研究とショウジョウバエの系統保存を行なった。

本年度の研究は、文部省科学研究費重点領域研究「遺伝子制御ネットワーク「昆虫の変

\*（財）実験動物中央研究所

\*\*（財）東京都臨床医学総合研究所

態期にホルモンによって誘導される転写因子のネットワークの解析」, 「ショウジョウバエの分子生物学」 「転写因子 FTZ-F1 および BmFTZ-F1 の機能解析」, 国立遺伝学研究所特定研究「染色体の機能サイクル」の支援を受けた。

(1) ERR2 の FTZ-F1 box 様配列の解析 (上田, 広瀬): ショウジョウバエの FTZ-F1, カイコの BmFTZ-F1, マウスの ELP のアミノ酸配列の比較から見いだした FTZ-F1 box と類似の配列を有する核内ホルモンレセプタースーパーファミリーに属する因子として, ショウジョウバエの FTZ-F1 $\beta$  および human の ERR1 と ERR2 がある。これらの FTZ-F1 box 様配列も FTZ-F1 box 同様に塩基特異的な DNA への結合に関わるか解析するため, ERR2 の FTZ-F1 box 様配列を FTZ-F1 の zinc finger につなげたキメラタンパクを作成し, DNA への結合性を調べた。FTZ-F1 の zinc finger だけでは DNA への結合が見られなかったが, ERR2 の FTZ-F1 box 様配列を FTZ-F1 の zinc finger につなげたキメラタンパクでは DNA への結合性が見られるようになった。これらのことから, ERR2 の FTZ-F1 box 様配列も FTZ-F1 box としての機能を有し, ERR2 は FTZ-F1 同様 monomer で DNA に塩基特異的に結合する因子であると考えられた。さらに, FTZ-F1 box は, 核内ホルモンレセプタースーパーファミリーに属する因子の一部に存在する DNA 結合ドメインであると考えられた。

(2) ショウジョウバエ幼虫期における FTZ-F1 の発現 (村田, 広瀬, 上田): ショウジョウバエの FTZ-F1 の発現時期について幼虫の時期について western 法で調べたところ, 1 齢から 2 齢への脱皮および 2 齢から 3 齢への脱皮の時期に特異的に発現することが明らかになった。また, 発現部位について調べたところ, だ腺, 脂肪体, 気管, 前胃, 中腸, 盲のう, garland cell, ring gland, マルピギー氏管などほとんどの組織で発現が観察され, 特に組織特異的な発現パターンは示さなかった。この結果は, カイコにおける BmFTZ-F1 mRNA の発現パターンの観察と一致し, FTZ-F1 が脱皮の頃に時期特異的に発現する遺伝子の発現調節に関与することを示唆した。

(3) FTZ-F1 の機能の解析 (村田・広瀬・上田): FTZ-F1 の機能をさらに調べるため, heat shock プロモーターに FTZ-F1 遺伝子を結合した遺伝子を有するトランスジェニックフライ系統を作成した。embryo あるいは prepupa の時期に heat shock を与え, FTZ-F1 が発現するか western 法で調べたところ, native な FTZ-F1 タンパクの発現量程度あるいはそれ以上に発現させることができることが明らかとなった。そこで様々なステージの幼虫に heat shock を与えてその影響を観察したところ, 得られた 4 つの系統で共通に, 1 齢幼虫および 2 齢幼虫の中期あるいは前蛹期においてのみ熱ショックで生存率が減少することが明らかになった。これらの時期は, 内在性の FTZ-F1 が発現する直前であった。次に 2 齢幼虫の中期に熱ショックを与えた幼虫のその後の発生状況を観察したところ, 正常な幼虫が 3 齢になる時期になっても, 外見上は 2 齢のマウスフックや気門を有していた。幼虫内部を観察すると, 3 齢のマウスフックや気門を有しており, また, 表面のクチクラ層は容易に物理的にはがすことができ, その下にもう一層のクチクラ層が認められた。従って, 熱ショックを与えた幼虫は 2 齢脱皮をしなかったものと考えた。これらのこ

とは、FTZ-F1 が時期特異的に発現することが、幼虫の正常な発生特に脱皮において重要であることを示していると考えられた。

(4) FTZ-F1 のターゲット遺伝子の検索 (村田・広瀬・上田): FTZ-F1 が発現する時期に特異的に発現し、しかも転写開始点付近に FTZ-F1 結合部位を有する遺伝子をデータベースから検索したところ、クテクラタンパクをコードする可能性のある遺伝子 EDG 84 が見いだされ、FTZ-F1 のターゲットである可能性が生じた。前蛹期のトランスジェニックフライ系統に熱ショックを与え FTZ-F1 を本来発現していない時期に発現させたところ、EDG84 mRNA が誘導され、EDG84 は、FTZ-F1 のターゲット遺伝子のひとつであると考えられた。以上のことから、FTZ-F1 は、時期特異的に発現し、脱皮や変態に関係する遺伝子の発現調節にかかわっているという考えが支持された。

(5) ホルモンによる FTZ-F1 の誘導 (孫・広瀬・上田): カイコの BmFTZ-F1 mRNA は、幼若ホルモンのアナログである Juvenile hormone III あるいは脱皮ホルモンである 20-hydroxyecdysone によって誘導される (Sun, G. -C. *et al.*, *Dev. Biol.*, in press). 今回は、幼若ホルモンのアナログで Juvenile hormone III より約 100 倍活性の高い ZR515 で BmFTZ-F1 mRNA が誘導されるか調べた。5 齢 3 日のカイコに ZR515 を注射した場合、1.5 時間以内に誘導が観察されはじめ、この誘導は 12 時間まで観察された。また、5 齢 3 日のカイコ後部絹糸腺の器官培養系に ZR515 を加えたところ、30 分以内に誘導が観察されはじめ、3 時間後の発現は最高に達し、その発現量は Juvenile hormone III で誘導される量の約 5 倍にもなった。以上のように、幼若ホルモンとして活性の強いことで知られている ZR515 でより強い誘導が観察されたことは、生体内でも幼若ホルモンによって BmFTZ-F1 mRNA が誘導されることを示唆する。

(6) FTZ-F1 による転写活性化に必要なメディエーターの解析 (李・上田・広瀬): Hela 抽出液 *In vitro* 転写系を用いて FTZ-F1 (BmFTZ-F1) が *fushi tarazu (ftz)* 遺伝子の転写にポジティブに働く機構を解析する過程で、すでに 18 kd と 22 kd の因子がメディエーターの活性を有することを明らかにし、それぞれ MBF1 と MBF2 と名付け解析を進めてきた。これらの因子の相互作用を調べるため、BmFTZ-F1, MBF1, MBF2 そしてヒスチジンタグの付いた TBP をニッケルレジンとインキュベートした後、ニッケルレジンに保持されたタンパクを SDS-PAGE に供し、BmFTZ-F1 抗体によるウエスタンブロッティングで解析した。その結果、MBF1, MBF2 とヒスチジンタグの付いた TBP の 3 者が存在するときのみ BmFTZ-F1 は、ニッケルレジンに保持されたが、3 者のうちひとつでも欠くと保持されなかった。また、TATA box DNA をプローブとした TBP のゲルシフト系に 18 kd と 22 kd の因子の両方を加えたときのみ FTZ-F1 によるスーパーシフトが観察され、これら 4 つの因子が複合体を形成することが示唆された。これらの結果は、*In vitro* 転写系で、*ftz* 遺伝子の転写には MBF1 と MBF2 の因子の両方が必要であるという以前の結果と一致し、MBF1 と MBF2 が TBP を介して転写の活性化に関わることが示唆された (Li, F.-Q. *et al.*, *Mol. Cell. Biol.*, in press).

(7) FTZ-F1 の時期特異的発現を規定するシス-エレメントの解析 (影山・広瀬・上

田)：FTZ-F1の時期特異的発現を規定するシス-エレメントを解析するため、転写開始点付近を含む4.2 kbのゲノムDNA断片をlacZ遺伝子に結合させた融合遺伝子を作成し、これをP因子を介した遺伝子導入法でハエに導入し、3系統のtransgenic flyを作成した。前蛹期におけるレポーター遺伝子産物のβガラクトシターゼの活性を組織化学的に解析したところ、得られた3系統すべてにおいて、成虫原基、気管、表皮などで、内在性のFTZ-F1の発現している時期に特異的にβガラクトシターゼ活性がみられ、少なくともこれらの組織での発現のためのシス-エレメントが、4.2 kb以内に存在すると考えられた。

### F-c. 植物保存研究室

当研究室は、植物の遺伝特性の開発的研究とイネ・ムギおよびサクラ・アサガオの系統保存業務を目的としてきたが、研究スタッフの不在が続き、業務に関しても基本方針のたてにくい状況にある。保存系統の維持・管理や外部への分譲などは、育種遺伝研究部門・実験圃場の教官・技官の協力で続けられているが、人事面での整備充実を早急にはかる必要がある。

### F-d. 微生物保存研究室

微生物保存研究室では、大腸菌の細胞分裂の遺伝的調節機構、特に分裂時期の決定機構について研究を行った。本年度のスタッフは、西村昭子(助教授)、金丸研吾(助手)、石井陽子(技術補佐員)であった。金丸助手は、名古屋大学大学院農学研究科より、9月1日付けで着任した。鶴飼英樹・高木秀幸(東邦大学生物分子科学科前期博士課程)、上山清子(研究補助員)が研究を支援した。

本年度の研究は、文部省科学研究費重点研究(1)「細胞複製制御の分子生物学的研究(代表者・岡崎恒子)」 「大腸菌の細胞分裂の遺伝的調節機構」(西村)、一般(A)「複製開始領域に於けるDNAと蛋白の相互作用(代表者・堀内賢介)」 「細胞分裂を行う遺伝子群の構造と機能の解析」(西村)、特定研究「染色体構築と機能サイクルの基礎的研究(代表者・瀬野倅二)」 「大腸菌の細胞分裂の時間的調節機構」(西村)の支援を受けた。

(1) 大腸菌の細胞分裂の時期決定機構(西村)：昨年度に引き続き、DNA複製の進行を認識する機構に欠陥を持つ為に、分裂時期を制御できず、DNA複製一周期当たり1.3~1.5倍過剰に分裂するようになった変異株の解析を行った。変異遺伝子(*cfcA1*, *cfcB1*, *cfcC1*, *cfcD1*, *cfcE1*, *cfcF1*)は、DNA合成系や蛋白合成系の因子と深い係わりを持っていることが解ってきた。DNAの一次構造の解析から、*cfcA1*変異株は、グリシル-tRNA合成酵素のα-サブユニットに変異を持っていた。緊縮調節や既知の分裂阻害因子との係わりを解析した結果、*cfcA*遺伝子は、細胞周期の制御に特異的に関与している事、及び*lov*変異株やDNA合成の調節に見られるようなppGppを介しての細胞周期の制御は行っていないことが解った。*cfcB1*変異株は、AppppA分解酵素をコードする*apaH*遺伝子に変異を持っていた。真核細胞では、細胞周期に依存してAppppAの細胞内レベルが変動し、またDNA複製や、染色体構築、発生、分化に関与する蛋白に結合して、その機能に影響を与

える事が示唆されている。原核細胞では、熱ショックやUVなどのストレスにより、AppppAの細胞内レベルが急上昇し、その後ApaHにより速やかに分解される事が知られている。AppppAは*in vitro*では、広く真核細胞でも共通のある種のアミノアシル-tRNA合成酵素によって合成されるが、*in vivo*では今までに、幾つかのアミノアシル-tRNA合成酵素の変異株や、アミノアシル化の阻害作用や、tRNAの構造遺伝子の変異株いずれの場合も、AppppAが合成された例は報告されていない。しかしながら、*cfcAI*変異株による過剰分裂は、*apaH*<sup>+</sup>プラスミドにより抑制されることから、グリシン-tRNA合成酵素の変異株である*cfcAI*変異株は、AppppAを合成している可能性が示唆された。AppppAは又、DnaKに結合しDnaKのリン酸化を促進する。一方DnaK欠損株では、スレオニン-tRNA合成酵素のリン酸化が欠失することが知られている。細胞分裂開始時期の決定に、AppppAと共にDnaKが関与していることが強く示唆された。*cfc*変異株の解析から*in vivo*でのAppppA合成様式と作用機構を明らかにすることにより、分裂時期がどのような調節機構により制御されているか追求する。

(2) 大腸菌の細胞分裂と細胞増殖の共役機構(鶴飼・西村): 細胞分裂と細胞成長を共役させる機構に含まれる遺伝子の欠損株*ftsNI*と、その抑制遺伝子*sunU*を分離した。両遺伝子の解析から細胞には「細胞分裂に異常が生じると、細胞成長の各過程の進行に不均衡が生じ、増殖を停止する機構」が存在することを明らかにした。これは、今までに得られていない新しい知見である。*ftsNI*変異株は、30℃では正常に増殖するが、培養温度を30℃から42℃に切り替えると、分裂が停止すると共に、細胞質あたりのDNA量が多くなる。

この為、生菌数の増加は直ちに停止する事が解った。*ftsNI*変異株の温度感受性欠損を是正するDNAクローンを、大腸菌の連鎖クローンバンクから検索した結果、2種の異なるクローンを得た。一つは95分領域、もう一つは28分領域のDNA断片を持つクローンであった。

P1ファージ形質導入法により、*ftsNI*変異の遺伝子座の解析をしたところ、*ftsNI*変異は94.5分に座位していた。従って*ftsN*遺伝子は94.5分に座位し、28分領域のDNAは、*ftsNI*変異の抑制遺伝子を担っている事が解った。*ftsN*の野生型、及び変異型遺伝子DNAの一次構造を解析した結果、*ftsN*遺伝子は未知の遺伝子であり、その発現は*gearbox*(増殖速度が低下すると認識されるプロモーターの共通配列)により、制御されていることが解った。

*ftsNI*変異株では、*ftsN*遺伝子の199番目のシトシンがチミンに置換していた。DNAの一次構造から推定されたFtsN蛋白は、疎水性のアミノ酸を多く含み、膜蛋白である可能性が示唆された。*sunU*遺伝子についてもDNAの一次構造解析を行った。塩基配列から推定したSunU蛋白は、表面にグルタミン・グルタミン酸に富む、 $\alpha$ -ヘリックス構造を持つ蛋白である事が予想された。このことからSunU蛋白は、転写活性化因子である可能性が示唆された。SunU蛋白は、FtsNと類似の構造は持っていなかった。しかし、SunUのC末端領域は、分裂阻害因子SulAの保存領域と、高い相同性を示した。そこで、SunUと

SulA の相互関係を遺伝学的に解析した。その結果、両者は、競合的に働いているのではないことが解った。 *sunU*<sup>+</sup>-プラスミドはまた、 *ftsE, I, Z* 変異株のコロニー形成能をも回復させることが解った。しかし、 *sunU*<sup>+</sup>-プラスミドは、 *ftsE, I, Z* 変異による細胞分裂の欠損は是正できず、細胞は分裂を停止したまま、細胞質のみ増加した。即ち *ftsE, I, Z* 変異による分裂阻害と共に引き起こされる成長の停止は、 *ftsE, I, Z* 変異そのものの特性ではなく、二つの生体制御反応として、 *sunU*<sup>+</sup>-プラスミドにより遺伝的に分離できることが解った。以上の事実から、細胞には「細胞分裂過程と細胞成長過程を共役させる機構」が存在することが解った。これは、細胞の生存にとって、「細胞分裂（細胞の狭窄）そのものが重要である」という今までの既成概念を、根本から覆す事実であり、細胞増殖過程の整合性に対する理解をいっそう深める知見である。

(3) 大腸菌の細胞分裂装置の構築（金丸・西村）：本研究は、細胞分裂装置を構成する蛋白群の分離と再構成系の確立を目的とする。最近、大腸菌の細胞分裂に重要な FtsZ 蛋白が、Mg<sup>2+</sup> 依存性の GTP 活性を持ち、普段は細胞中に分散しているが、細胞分裂開始期に、細胞の中央にリング状に集合して、収縮環を形成するという画期的な知見が報告され、大腸菌が真核細胞と類似の機構を持っていた点に於いて、注目を集めている。細胞質膜内側を膜に沿ってリング状に連結するこの FtsZ 蛋白と結合し、細胞質膜、ペプチドグリカン層、外膜を貫く強固な分裂装置複合体を形成する蛋白群の探索、及びこの複合体に結合して収縮環を収縮させる駆動蛋白群の探索が重要課題となっている。分裂初期の過程に欠損を持つ *ftsZ* 変異株や、分裂後期の過程に変異を持つ *ftsA* 変異株など、各変異株から膜画分の蛋白を分離し、二次元電気泳動などにより、分裂装置の構築に係わる蛋白群分離の為の条件設定を検討した。

(4) リポ多糖合成と細胞分裂の共役機構（金丸・高木・西村）：DNA 複製終結と細胞分裂開始には厳密な時間的相関の相互関係がみられる。そこで DNA 複製終結領域（27 分）に変異を持つ細胞分裂欠損株 (*ftsK1*~*ftsK7*) を分離し解析を行った。DNA の一次構造解析から、これら 7 個の変異株は、リポ多糖合成に関与する *kdsA* 遺伝子領域を担うプラスミドにより、温度感受性欠損が相補される事が解った。大腸菌の *kdsA* 遺伝子は、サルモネラ菌の *kdsA* 欠損株を相補する DNA として分離されたものであり、リピド A とコラニン酸を結合するリンカー部分 KDO (3-deoxy-D-manno-octulosonic acid) 合成の中間産物、KDO8-リン酸の合成酵素をコードしていると考えられている。しかし、大腸菌の *kdsA* 遺伝子の変異株は、現在迄に分離されておらず、細胞分裂との関わりも不明である。そこで現在 *ftsK1*~*ftsK7* 全てについて変異点の決定および変異株における *KdsA* 活性の変化などについて解析中である。

(5) 大腸菌の細胞分裂遺伝子群のマッピング（上山・西村）：大腸菌の細胞分裂遺伝子 (*fts*) は、百数十存在すると推定されている。これらの遺伝子群について、個々の遺伝子の構造、遺伝子産物の機能、細胞周期の中での相互の関連・役割について、遺伝学的及び生化学的立場から、網羅的に解析することにより、細胞分裂機構の全貌を明らかにし、広く真核細胞にも共通の生命現象を理解していく為に、数年前より、まず全 *fts* 遺伝子のマッ

ピングを開始した。このような系統生物の特性開発研究は、系統保存事業の一環でもあり、系統保存センターが持つ利点を最大限活用したものである。一昨年迄に、当研究センターが中心となって開発した大腸菌の膨大な遺伝子バンクと突然変異体バンクを駆使して、相補性テストにより、細胞分裂に関与する全 *fts* 遺伝子群の染色体上の位置決定をおこなった。この結果を基に、昨年度に引き続き、P1 フェージ形質導入法により、実際の Ts 変異の遺伝子座の決定をおこなった。

#### F-e. 遺伝資源研究室

グルタミン合成酵素遺伝子の水平転移について(続): 前の年報で、グルタミン合成酵素(GS) 遺伝子の異種間水平転移について論じたが、その後の発展について報告する。この問題は、Carlson と Chelm (Nature, 322, 568-570, 1986) が、植物共生菌である根粒菌(*Rhizobium* と *Bradyrhizobium*) の真核型遺伝子(GSII) はその宿主から転移したと唱えたことから始まったのだが、彼らの論文の問題点は、宿主である大豆の GSII 遺伝子配列がわかっていないことであった。ところが、最近 DDBJ のデータベースを検索してみたところ、部分配列ではあるが、大豆の GSII 遺伝子の配列が登録されていることがわかった。そこで、この配列も利用して更に詳細な分子系統学的解析をしてみたところ、根粒菌の GSII 遺伝子配列は、その宿主の配列よりもほかの細菌の GSII 遺伝子の配列に系統的に近いことがわかった。従って、大豆から根粒菌への異種間水平転移の可能性なほば完全に否定されたものと思われる。やはり、GSI と GSII の遺伝子は原核生物と真核生物が分岐する前に起こった遺伝子重複の結果できたものであろう。

系統生物のカタログの編集発行: 当室では、系統生物についてのカタログを随時編集発行している。今回は、国内の専門家の協力により、コムギの系統カタログを編集していたが、この度ようやく「Catalogue of Wheat Strains Maintained in Universities and Institutes in Japan」として発行することができた。編者は井山審也マレーシア大学客員教授、常脇恒一郎京都大学教授、そして当研究室の館野義男である。このカタログは、国内外の関連研究者に配布していると同時に、希望者にも送付している。また、大腸菌のカタログは当研究所微生物保存研究室の西村昭子助教授が、ショウジョウバエのカタログは山本雅敏宮崎医科大学助教授が中心となって改訂を行っているが、これに対する援助も前年同様行っている。

Rice Genetics Newsletter の発行: 当室では、Rice Genetics Newsletter の発行を援助してきたが、今年から育種研究室の森島啓子教授と北海道大学の木下俊郎名誉教授が中心となって編集、発行を行うことになった。従って、この件に関しては、当研究室の研究事業から離れたことになった。

#### F-f. 発生工学的研究室

当研究室の研究課題については、文部省科学研究費補助金から中辻を代表者として一般研究(B)「マウス始原生殖細胞の増殖分化調節機構及び発生工学的操作の研究」、及びがん

特別研究(2)「マウス神経幹細胞へのがん遺伝子導入による細胞増殖・分化の研究」の交付を受けた。また重点領域研究「標的組換え」の計画班「ES細胞を用いた未知遺伝子の検索」(代表者: 熊本大学・山村研一教授), がん特別研究(1)班「相同組換え法を利用した発がん機構の研究」(代表者: 東京医科歯科大学・井川洋二教授), 及び総合研究(A)「形質転換個体を用いた生殖過程の解析」(代表者: 東京大学・高橋迪雄教授)の研究分担者であった。さらに、科学技術庁科学技術振興調整費による「発生工学技術の開発等に関する研究」班にも加わった。

(1) マウス着床後胚における形態形成と細胞分化の研究(中辻・白吉): 哺乳類胚の着床から妊娠中期までは、胎児の体の基本的な体制が形成される時期であり、胚中軸を示す原条の出現や中枢神経系原基の形成、始原生殖細胞の出現と生殖巣原基への移動などの重要な現象が起きる。我々は、いくつかのマウス系統を実験材料として用いて、始原生殖細胞への細胞運命決定と増殖・分化、生殖巣原基へ向っての移動、そして始原生殖細胞から雌雄の配偶子形成への分化の機構を解析する研究分野を発展させようとしている。これを目的として、遺伝研研究集会「生殖系列細胞の発生機構と発生工学」(代表者: 中辻憲夫)を開催して、国内の12研究室からの研究発表と討論を行った。

この分野に関して、当研究室では、哺乳類の始原生殖細胞を体外で培養して操作することを可能にすることによって、生殖細胞の増殖分化機能などを解析するための新しい実験系を作ると共に、このように実験操作を加えられた生殖細胞から動物個体を作出することによって、新しい発生工学手法を発展させることも目指している。まず、一旦体外で培養した胎仔卵巣原基由来の生殖細胞を成熟雌へ移植することによって、子孫を作出することが可能であることを示した後に、始原生殖細胞の体外培養についての条件を検討して、BRL細胞の培養上清が細胞増殖に効果を持つことを見いだした。そして移動期までの早期に特異的に始原生殖細胞の増殖を促進する新しい因子として腫瘍壊死因子TNF- $\alpha$ が著しい効果を示すことを発見した(Kawase, E. *et al.*, *Devel. Biol.*, **161**, 91-95, 1994)。さらに、その他の因子を加えて培養条件を改良することによって、これまでのところ7~8日齢始原生殖細胞の増殖を培養下で1週間以上続けさせて、細胞数を約100倍に増加させることが可能になった。この増殖速度と細胞数は、胎仔内での生殖細胞の増殖パターンをほぼ再現することができたことになる。今後の展望としては、雌雄配偶子への分化開始を培養下で起こさせてその制御に関わる因子を解析することが可能かどうか、あるいは培養下の生殖細胞への遺伝子導入を行いその効果を解析することなどを試みる準備を進めている。

一方、中枢神経系の発生と組織構築に伴う神経細胞の移動パターンについて、中辻は京都神経科学総合研究所の永田 功主事研究員との共同研究で、新しい細胞移動様式である直交性コンタクトガイダンスを発見して研究を行ってきた。この神経細胞の移動パターンが脳皮質の発生などに果たす役割の研究を進めて、いくつかの論文を発表した(Nagata, I. *et al.*, *Development*, **117**, 401-408, 1993; Nagata, I. and Nakatsuji, N., *Devel. Growth Differ.*, **36**, 19-27, 1994; Ono, K. *et al.*, *Devel. Growth Differ.*, **36**, 29-38, 1994)。

(2) 哺乳類初期胚細胞株を使った発生工学的研究 (中辻・白吉): 中辻はこれまでマウス初期胚の未分化幹細胞由来である胚幹細胞 (ES 細胞) 及び始原生殖細胞に着目して、これらの細胞を胚発生過程の解析の為に体外で培養するとともに、体外で遺伝子導入などの種々の操作を加えた後、再度動物胚と個体に戻すことにより、個体発生過程の解析と共に動物個体への外来遺伝子の導入など広範な研究方向に使用する、いわゆる「発生工学」と呼ばれる研究分野を進展させてきた (中辻憲夫, 1994, 「発生工学のすすめ」羊土社)。これまでに、胚幹細胞については種々のマウス系統からの ES 細胞株の樹立を行なう (Kawase, E. *et al.*, *Int. J. Devel. Biol.*, in press) とともに、マーカー遺伝子などを導入した細胞株を作り、キメラ解析を行なった。今後は胚幹細胞に加えて、始原生殖細胞及び中枢神経系原基の幹細胞を分離して培養したのち、哺乳類の生殖細胞分化と中枢神経系形成に関して様々な発生工学的研究を進めたいと考えている。

(3) マウス胚の細胞分化に関する分子遺伝学的研究 (白吉・中辻): マウス着床後胚では中枢神経系原基の形成や始原生殖細胞の出現などの極めて重要な細胞の運命決定と細胞分化が起きている。これらの細胞分化に関係する遺伝子を同定してその機能を解析することにより、ショウジョウバエや線虫などで大きく進展している胚発生と細胞分化過程の分子遺伝学的研究を、哺乳類胚を対象として進展させたいと考えている。出発点としては、神経板形成時などに発現様式が急激に変化する遺伝子を検索したり、ショウジョウバエや線虫ですでに同定されている遺伝子と関連するものを検索することなどが考えられる。これまでのところ、着床後マウス胚から cDNA ライブラリーを構築するとともに、これら細胞分化にとって重要と思われる遺伝子のクローニングを行っている。具体的には、ショウジョウバエの神経分化に関連する Acheate-Scute 遺伝子や Notch 遺伝子、生殖細胞の決定に関与する Oskar 遺伝子などを候補として、そのマウスホモログのクローニングを試みている。現在、Notch 遺伝子と相同性を示す遺伝子断片のクローニングに成功しており、その発現部位と機能の解析を行いつつある。

## G. 遺伝情報研究センター

当センターは 5 研究室化ら成るが、遺伝実験生物保存研究センター助教授館野義男、進化遺伝研究部門助教授齊藤成也、及び客員部門教授北上始が当センター DDBJ の活動に協力した。また、遺伝情報分析研究室助手鶴川義弘は 10 月 1 日付で農水省生物資源研究所遺伝子源第 2 部 DNA 管理情報科長に転出した。

総合研究大学院大学の第 5 期生として遠藤俊徳 (遺伝情報分析研究室)、影山裕二 (合成研究室)、鎌田勝彦 (構造研究室)、鈴木教郎 (組換え研究室)、田原浩昭・満木広宣 (ともに遺伝子ライブラリー) が入学し、それぞれに研究活動に参加している。

### G-a. 構造研究室

当研究部門では、遺伝子の発現調節メカニズムの解明を、分子生物学と生物物理学の境界領域において、オリジナルな速度論的手法をもちいて行なっている。また前年に引き続

いて、堀内恵美が研究を補佐した。

本年の構造研究室の主な研究活動は、嶋本伸雄助教授と、永井宏樹助手、博士課程3年久堀智子、同2年加畑博幸および同1年鎌田勝彦とで行なわれた。

遺伝研共同研究として鷺津正夫、黒沢 修、荒井一郎（成蹊大学工学部）が参加し、また、月原武富、佐藤孝雄（徳島大学工学部）、神藤平三郎、清水光弘、杵淵 隆（東京薬科大学）、荒牧弘範（第一薬科大学）、Robert Glass, Stefanie A. Margaron (Nottingham University) と協力して研究を行なった。

本年の主な研究は次の4研究である。

(1) 固定化オペロンによる大腸菌とバクテリオファージのRNAポリメラーゼの転写開始機構の研究（嶋本伸雄・久堀智子）：固定化オペロンとは、DNAに結合する酵素の反応機構の解明のために、われわれが開発したもので、DNAの端にアクリルアミド等のプラスチックビーズを付け、低速遠心によって転写複合体を反応溶液から分離できるようにしたものである。この方法と高速反応で用いられる手法とを組み合わせ、RNAポリメラーゼの反応機構の解析をATPの効果を中心におこなった。

この結果、大腸菌、バクテリオファージT3, T7RNAポリメラーゼについて、転写開始に続く伸長課程は、2種の異なるDNA・RNA・ポリメラーゼ3体複合体によっておこなわれ、1つは長いRNAを、もう1つはabortiveなRNAを生み出すことが明らかになった。2種とも伸長反応は行なうが、その速度に大きな差があることが明らかになった。遅い方の複合体は、短鎖RNAを一定の頻度で解離し、また、数分でdead-end複合体と呼ばれる、基質存在下でも伸長反応を行わないものに変換する事が判明した。この遅い伸長複合体は、初めて見いだされたもので、moribund複合体と命名された。

大腸菌酵素に対しては、伸長速度の不均一により2つ以上の酵素分子が行列を作ると、誤転写が起り、誤転写された産物はabortされることを見だし、転写のfidelityを保つ機構が明らかになった。タンデムな転写でmoribund複合体が形成され、これらの現象はこの複合体の特徴であると考えた。

(2) 固定化オペロンによるRNAポリメラーゼの1分子ダイナミクス（嶋本伸雄・加畑博幸・黒沢 修・鷺津正夫・荒井一郎・荒牧弘範）：固定化オペロンのもう一つの利用法は、光学顕微鏡と画像処理装置を用いて、直接DNA結合タンパク質のDNA上の動きを検出するというものである。DNAを平面上に伸長してそろった状態で固定する技術を開発した。また、大腸菌RNAポリメラーゼの一部を認識して活性を損なわない抗体（Robert Glass, Stefanie A. Margaronが作製）を利用して強力な蛍光プローブを活性を保持したままポリメラーゼに付けることに成功した。DNAとの結合の確立を考慮すると、全てのRNAポリメラーゼ分子がDNA上をスライディングすることが立証された。（Kabata, H. *et al.*, 1992.）

また、*P. Putida*のCamRリプレッサータンパク質も同様のアッセイで、スライディングする事が観測され、スライディング運動はDNA結合タンパク質の一般的性質である可能性が示唆された。

(3) 大腸菌一本鎖 DNA 結合蛋白質 (SSB) の構造と機能 (永井宏樹・鎌田勝彦・嶋本伸雄・月原富武・佐藤孝雄・神藤平三郎・清水光弘): SSB は大腸菌の複製に必須の蛋白質で、核酸に協同的結合をする。一本鎖 DNA に非特異的に結合すると同時に、特定の構造を持つ mRNA 群には特異的に結合し、翻訳を阻害する。つまり、DNA 複製と共役した翻訳調節機構の可能性を示す。この可能性を検討するために、SSB に結合する mRNA は増加させずに、細胞内の SSB を 30 倍に増加させ、mRNA が SSB に結合するようにした lacZ の発現を調べた。結果は 50% 程度の発現量の低下に留まり、そのような調節は存在しないか、存在しても小さなものである事が結論された。

また、DNA との結合モードの差を明らかにするため、X 線結晶構造解析をおこなった。そのために、1 段階純度を高めた大量精製法を確立、結晶を再現性良く調製できるようになった。重原子置換にも成功し、高分解能モデルの構築を目指している (月原富武、佐藤孝雄と協同研究)。

また NMR による構造解析では、解析できる分子量の上限が 2 万であるため、SSB テトラマー (分子量 8 万) では大きすぎる。このため、C-末からの部分欠失変異株を複製して、会合状態と DNA 結合能を調べ、約 50 アミノ酸残基削ったものが測定に適している事が解った (神藤平三郎、清水光弘と協同研究)。

## G-b. 組換え研究室

組換え研究室では、線虫 *C. elegans* の発生と行動の分子生物学的研究を行っている。研究室メンバーは、教授・桂 勲、助手・石原 健、大学院生・川上 穰 (東京大学大学院理学系研究科所属、遺伝研特別研究学生)、菱田竜一 (京都大学大学院理学系研究科所属、遺伝研特別研究学生)、研究補佐員・長岡菜里に、平成 5 年 4 月より大学院生・鈴木教郎 (総合研究大学院大学生命科学研究科) が加わり、また技術課所属の技官・浦崎美佐子の助けを受けることになって、一層充実した。本年度は文部省科学研究費より、一般研究 (B) 「*C. elegans* の発生におけるシグナル伝達の役割」(代表者: 桂)、重点領域研究 (ショウジョウバエ) (2) 「*C. elegans* の形態形成遺伝子の探索」(代表者: 桂)、重点領域研究 (細胞周期) (1) 「細胞分化とシグナル伝達」(代表者: 登田 隆 (京大・理)、班員: 桂)、奨励研究 (A) 「*C. elegans* の神経回路の形成機構の分子遺伝学的解析」(代表者: 石原) の援助を受けた。

### (1) 線虫 *C. elegans* の発生・シグナル伝達関連変異株の解析

(a) フッ素イオン耐性変異株 (川上・石原・桂): フッ素イオンは、(1) カルシウムイオンを奪う、(2) ホスファターゼの阻害剤となる、(3) 三量体 G タンパク質を活性化状態に固定する等により、シグナル伝達に影響を及ぼすことが考えられる。我々は、*C. elegans* のフッ素イオン耐性変異株を分離・解析することにより、新しいシグナル伝達機構とその役割を解明したいと思っている。

我々の分離した 13 株のフッ素イオン耐性変異株は劣性の変異で、5 つの新しい遺伝子 *ftr-1*~*ftr-5* に位置する。この内、クラス 1 遺伝子 (*ftr-1*, *ftr-3*, *ftr-4*) の変異株は、10 mm

のフッ素イオンに対して耐性であり、フッ素イオンの非存在下でも成長が遅くて産卵数が少なく、体が小さい。一方、クラス2遺伝子 (*ftr-2*, *ftr-5*) の変異株は、10 mm のフッ素イオンに対して完全に耐性ではなく、フッ素イオンの非存在下では成長速度と産卵数は野生株とほぼ同じで、体は正常またはやや短くて太い。また、クラス2変異は、クラス1変異の「成長速度が遅く、産卵数が少なく、体が小さい」という表現型を抑圧するが、フッ素イオンに対する強い耐性は抑圧しない。(Katsura, I. *et al.*, *Genetics*, **136**, 145–154, 1994)

*ftr* 遺伝子の本体を解明するために、トランスポゾン Tc1 の挿入変異株を用い Tc1 をプローブとして *ftr-1* と *ftr-3* の遺伝子クローニングを行った。また、遺伝子断片をプローブとして、*C. elegans* の cDNA ライブラリーより部分長 cDNA クローンを分離し、塩基配列を決定した。*ftr-1* は、いくつかのチャンネル・タンパク質と弱いホモロジーがあるが、決定的なことは言えない。これに対し *ftr-3* は、ほとんどのキナーゼドメインを持つが非常によく似たキナーゼはなく、新しいファミリーのタンパク質キナーゼであると思われる。*ftr-3* は 5' 側の異なる 2 種類の cDNA が得られているので、全長の cDNA を分離するとともに遺伝子全体の塩基配列を決定し、alternative splicing の可能性を調べている。

(b) *clr-1* 様変異株 (菱田・石原・桂): 幼虫致死変異の分離・解析の過程で、我々は、腸と体壁の間に隙間ができる変異株を 10 株 (8 遺伝子) 分離した。これらは、既存の変異のうちでは *clr-1* 変異と表現型が似るので、*clr-1* 様変異株と呼んでいる。マッピングによると、これらの変異は既知のシグナル伝達関連遺伝子 (*let-23*, *let-341*, *clr-1*, *lag-2*) か未知の遺伝子にあり、後者の未知の遺伝子は、シグナル伝達か、その下流で細胞の分化や機能に働くものと考えられる (Katsura, I., *Genetica*, **88**, 137–146, 1993)。未知の遺伝子の 1 つ、*let* (*ut40*, *ut102*) をトランスポゾンタギング法によりクローニングし、塩基配列を決定したが、既知の遺伝子とのホモロジーは見つからなかった。このクローンは、その遺伝子自体の変異株を導入すると、変異表現型を抑圧する。現在、このクローンが他のシグナル伝達変異の表現型を抑圧できるかどうかを調べている。また、このクローンを *lacZ* 融合ベクターにつないで線虫に導入し、遺伝子発現の場所と時期を調べる計画である。

(c) 孵化異常変異株 (菱田・石原・桂): 卵殻のキチン質は分解できるがタンパク成分を分解できないために孵化が遅れる変異の 1 つ *hch-1* は、Q 神経芽細胞の移動が異常になるという、興味ある表現型をもつ (Hedgecock, E. M. *et al.*, *Development*, **100**, 365–382, 1987)。我々は、この遺伝子のトランスポゾン挿入変異株を得たので、遺伝子クローニングを行った。現在までのところ、既知の遺伝子とのホモロジーは、見つかっていない。

## (2) 線虫 *C. elegans* の頭部神経系の遺伝学的解析

(a) 種々の頭部神経細胞のマーカーの作成 (石原・桂): *C. elegans* の頭部神経回路の形成や機能の研究に用いるために、種々の頭部神経細胞のマーカーを作成した。プロモーター・トラップ法 (Hope, I., *Development*, **113**, 399–408, 1991) に従い、*C. elegans* ゲノム DNA 断片を *lacZ* 融合ベクターにつないで約 2 万クローンから成るライブラリーを作り、これを約 200 個のプールに分けた。各プールから調製したプラスミドを *C. elegans* に導入したところ、約 20% のプールで頭部神経細胞に発現が見られた。このプールから隔

性のクローンを単離し、それらを線虫の染色体に挿入した。現在、ほとんどの神経細胞が染まる株や、一对の頭部神経細胞のみが染まる株などが得られている。また、これらのクローンの *lacZ* 遺伝子を *Aequorea victoria* (オワンクラゲの仲間) の緑色蛍光タンパク質 (Chalfie, M. *et al.*, Science, 263, 802-805, 1994) の cDNA と置き換えたところ、マークされた神経細胞が生きたままの無処理の線虫で蛍光を出すことがわかった。

(b) dauer 幼虫形成を指標とした頭部神経回路の解析 (鈴木・浦崎・石原・桂): *C. elegans* は、孵化直後に餌が不足し個体密度の高い状態にあると、3 令幼虫になる代わりに口の閉じた dauer 幼虫 (耐久型幼虫) になって環境が変わるのを待つ。dauer 幼虫になるか 3 令幼虫になるかは、餌やフェロモンが amphid という頭部の感覚器官に働くことにより、神経系を通して制御されている。dauer 幼虫形成は走化性等と比べてアッセイが簡単なので、我々は、これを指標として頭部神経系の機能解析を行うことにした。ところが、amphid の繊毛構造が異常になる変異以外では、1 つの行動または運動変異で dauer 幼虫形成が異常になる例はほとんどなく、むしろ 2 つの行動・運動変異が重なると dauer 幼虫形成が構成性になる (環境によらず dauer 幼虫になる) 例がいくつか知られている。これは、dauer 形成に関する信号が複数の経路 (その実体は並列の神経回路の可能性もある) をたどるためと推測されるが、この点に注意して以下の研究を行った。

*unc-31* 遺伝子は、ほとんどの神経で発現する遺伝子で、その欠損株は動きが悪く、産卵に欠陥があり、咽頭の摂食運動が餌の存在に依存しなくなっているが、dauer 形成は構成性ではない。ところが、これを他の神経系変異、たとえば *unc-3* 変異 (運動異常、神経索内での神経の配列が異常) や *aex-3* 変異 (脱糞異常) と組み合わせると、dauer 構成性になることが知られている。そこで、*unc-3* や *aex-3* のような神経回路形成や神経情報処理に関する変異をさらに探すために、「*unc-31* と組み合わせると dauer 形成が構成性になる変異」を分離した。単独で dauer 構成性になる変異 (多くは既知の変異) を除くため、*unc-31* 変異株に野生型 *unc-31* 遺伝子のクローンを染色体外に導入した株、*unc-31Ex* [*unc-31*(+)] を用いた。この株は導入した *unc-31* 遺伝子を一定の割合で失う。子孫に Unc (運動異常) 表現型を示す dauer 幼虫はいるが Unc<sup>+</sup> (運動正常) 表現型をしめす dauer 幼虫はいないものを、求める変異株とした。このような変異株を 40 株以上分離し、現在、マッピングを行っている。

既存の変異で「2 つ組み合わせると dauer 構成性になる変異」を探した。その結果、*unc-31*; *unc-3*, *unc-31*; *aex-3*, *unc-104*; *osm-1*, *unc-104*; *che-11*, *unc-104*; *che-13* という既知の例の他に、*egl-4*; *unc-3*, *egl-32*; *unc-3* という組み合わせが見つかった。また、amphid の繊毛構造が異常になる *che-3*, *che-11*, *daf-10*, *osm-1*, *osm-5*, *osm-6* の各変異や *daf-6* 変異は、それ自体では dauer 欠損性の変異だが、*unc-31* 変異や *unc-3* 変異と組み合わせると逆に dauer 構成性になることを発見した。さらに、(1-a) で述べたフッ素イオン耐性変異の多くは *unc-3* 変異と組み合わせると dauer 構成性になり、*unc-31* 変異と組み合わせても、弱いながらその傾向が認められた。これは *fir* 遺伝子が神経系で働くことを示唆する。

dauer 形成に及ぼす神経系薬剤の効果は、今までほとんど発表されていない。我々は、上述の様々な変異株（単一の変異）に種々の神経伝達物質のアゴニストやアンタゴニストを加えると dauer 構成性表現型が生じるか、すなわち、これらの薬剤が 1 つの変異の代わりになるかを調べている。これにより、dauer 形成阻害または誘導の信号が複数の神経回路を並列に伝わるという仮説を検討できると考えている。

(c) 頭部の運動・形態に異常のある変異株（石原・桂）：前年に引き続き分離・解析を行っているが、結果は後でまとめて報告したい。

### G-c. 合成研究室

合成研究室では、前年に引続き助手林 茂生がショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の発生遺伝学的研究を行った。形質遺伝研究部門広瀬 進と総合研究大学院大学生命科学研究科布施直之、特別研究学生八木克将が研究に参加した。研究補佐員として植松こづえ、渡辺たつのが研究を支援した。

本年度の研究は、文部省科学研究費重点研究“転写制御因子” (2)「ショウジョウバエの器官形成を制御する転写制御因子」(林)、重点研究“ショウジョウバエ” (2)「ショウジョウバエにおける器官形成の遺伝的制御」(林)、国立遺伝学研究所共同研究「ショウジョウバエ *strawberry* 遺伝子の機能解析」(岡野, 林, 広瀬)、国立遺伝学研究所特定研究「遺伝子高次機能の多面的総合的研究」(林)の支援を受けた。

#### (1) ショウジョウバエの形態形成の研究

a) ショウジョウバエ *escargot* 遺伝子の機能解析 (布施・広瀬・林)：高等動物の器官形成における細胞分化、パターン形成の遺伝的制御機構を理解するためにショウジョウバエの後期成虫発生に着目し、そこで働く Zn フィンガー遺伝子 *escargot* (*esg*) を研究している。ショウジョウバエの成虫発生は変態期を境に多倍体の幼虫細胞のほとんどが死滅し、二倍体の細胞からなる成虫原基とヒストプラストが増殖、分化し成虫の外部構造が再構築される。我々は *esg* 遺伝子が成虫構造形成の前提となる成虫原基、ヒストプラストのゲノムの倍数性の維持に重要な役割を担っていることをすでに明かにしてきた (Hayashi *et al.*, *Development*, 118, 105-115, 1993)。我々の得た結果は *esg* が発生において細胞周期の調節因子として多倍体化を阻止することでゲノムサイズの調節を行っていることを示唆する。そこで本年度は *esg* による多倍体化阻害の分子機構の解明を試みた。

#### i) *esg* 蛋白の強制発現による *esg* 突然変異の救済

*esg* の弱い突然変異体においては腹部ヒストプラストが多倍体化し成虫の腹部表皮が欠損する。この表現型が *esg* の機能低下によるものであることを確実に証明するために *esg* 蛋白の過剰発現が *esg* 変異を救済できるかを調べた。*esg* 変異体 (*esg<sup>L2</sup>/esg<sup>CW2</sup>*) の幼虫期に熱ショックプロモーターにより *esg* 蛋白を発現させると表現型が有意に回復した。回復の度合は熱ショックの頻度がたかまるに従って増大した。この結果は持続的な *esg* の発現がヒストプラストの多倍体化を阻害できることを示す。またこのレベルの *esg* 蛋白の発現は他の成虫組織の発生には目立った影響を与えないことも示している。

### ii) *esg* 蛋白による幼虫細胞の多倍体化の阻害

次に *esg* 蛋白が幼虫細胞の多倍体化を阻止できるかを調べるため、通常 *esg* を発現せず高度に多倍体化する唾液腺細胞で *esg* 蛋白を胚発生後期より持続的に発現させる実験を行った。まず酵母の転写活性化因子である GAL4 の結合サイトを持ったプロモーターの下流に *esg* の cDNA をつないだ融合遺伝子をショウジョウバエ個体に導入した系統を樹立した。この系統と Brand and Perrimon に供与された GAL4 を幼虫の唾液腺細胞に特異的に発現する系統とをかけあわせると GAL4 による転写活性化により *esg* を唾液腺細胞で発現させることが可能となった。このような個体は唾液腺の発達が著しく遅れ通常ポリテニ化する唾液腺染色体での DNA 合成も強く阻害されて大幅な生存率の低下が見られた。プロモデオキシウリジンの取込み実験の結果 DNA 合成阻害は一令幼虫の時期にすでに起こっていることが分かった。この結果は *esg* 蛋白の持続的な発現は多倍体化の DNA 合成を阻害する事を示す。

### iii) 転写因子としての *esg* 蛋白

*esg* 蛋白は C<sub>2</sub>-H<sub>2</sub> タイプの Zn フィンガー蛋白であり転写調節因子であると予想されている。このことを実証するための実験を行った。まず *esg* 蛋白が *in vitro* で特異的に結合する塩基配列をランダムなオリゴヌクレオチドからゲルシフト法と PCR 法を用いて選択して GCACCTGT/C のコンセンサス配列を得た。この配列に対する *esg*Zn フィンガードメインの解離定数は  $2.7 \times 10^{-10}$  M であった。この *esg* のコンセンサス配列は bHLH 蛋白ヘテロダイマーの結合配列の一つである E2 コンセンサスと同一であった。次に *esg* 蛋白と bHLH 蛋白が細胞内で相互作用するかをショウジョウバエの培養細胞 S2 への遺伝子導入系で調べた。bHLH 蛋白 da と sc のヘテロダイマーは *esg* コンセンサス配列を持つプロモーターを強く活性化する。*esg* 蛋白はこの活性化を強く阻害した。また *esg* 蛋白自身に転写活性化能はみられなかった。このことは *esg* 蛋白が bHLH 蛋白依存的なプロモーターのリプレッサーとして働くことを示している。

以上の結果は *esg* 蛋白が bHLH 蛋白による転写活性化を阻害することで DNA 合成を阻害する事を示唆している。真核生物の G1, S 期に働く制御因子は多く知られているがその中には Zn フィンガーも bHLH 蛋白も含まれない。昆虫細胞の多倍体化は脊椎動物、酵母の側からみれば特異なものなので多倍体化のプロセスには未知の因子が関与している可能性が高い。今後は *esg* 蛋白が実際生体内で bHLH 蛋白の作用を阻害するかを実証すること、細胞の多倍体化において *esg* 蛋白と相互作用する bHLH の同定、また *esg* 蛋白、bHLH 蛋白が作用して DNA 合成開始を制御する因子の同定などが課題となる。

b) ショウジョウバエ *esg* 遺伝子の発現調節機構 (八木・広瀬・林): *esg* 遺伝子は胚発生後期に全ての成虫原基と多くのヒストプラストにおいて発現を開始し、三令幼虫期まで持続する。このように *esg* の発現と成虫細胞の存在とは不可分のものであるので、*esg* の発現開始には成虫細胞形成に直接関わる遺伝子が作用していると予想される。そこで *esg* の発現調節機構を解明するために *esg* 遺伝子のシス調節領域のマッピングを行っている。すでに得られている染色体の欠失変異体を解析した所、遺伝子の上流約 10 kb を欠失する

と胚での *esg* の発現は全く失われた。そこで *esg* の上流領域の DNA 断片を  $\beta$ -ガラクトシダーゼレポーター遺伝子の上流につないだ融合遺伝子を作製し P 因子形質転換法にて個体に導入して  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現パターンを調べることにより *esg* 遺伝子の発現調節領域の同定を現在行っている。

c) ショウジョウバエの複眼形成に必須な遺伝子 *strawberry* (林・広瀬): 我々が東京大学医科学研究所岡野博士らのグループとの協同研究により新たに同定した *strawberry* (*sty*) 遺伝子は分泌性の蛋白質をコードし、細胞間相互作用を通じて神経分化を阻害する働きを行なうと予想されている。この予想を検証するために *sty* 遺伝子を熱ショックプロモーターで強制発現させて神経分化、形態形成に及ぼす影響を検討した。幼虫期に熱ショックにより発現した *sty* 遺伝子は *sty* の弱い変異に由来する中枢神経、複眼、翅脈の異常を救済した。よって機能的な *sty* 産物が熱ショックにより合成される事、及び組織特異的な *sty* の発現は必ずしも救済に必要な事では無い事がわかった。更に *sty* の発現レベルを上げると野性型の個体に、i) 複眼の光受容細胞の減少、ii) 複眼の cone 細胞の減少、iii) 羽の翅脈の消失などの異常が観察された。これらは *sty* の loss of function 型変異の異常と反対の異常であり、*sty* が細胞分化を阻害する因子であるという考えを支持する結果である。

#### G-d. 遺伝情報分析研究室

本研究室では、DNA 配列データを主とする遺伝情報を対象として、コンピュータや理論的手法を用いたデータ解析を行なっている。また、研究事業として、DNA 配列データベースの構築を、日本 DNA データバンク (DNA Data Bank of Japan) として、アメリカ合衆国の GenBank とヨーロッパ共同体の EMBL データライブラリーと共同して行なっている。

本年は、五條堀孝教授及び鶴川義弘助手と池尾一穂助手が、本研究室の教官として活動したが、鶴川助手が 10 月 1 日付けで農林水産省農業生物資源研究所に新設された遺伝資源第二部 DNA 管理情報科の科長 (研究職) として転出した。データバンク研究事業には、これらの教官の他、遺伝実験生物保存研究センターの館野義男助教授と進化遺伝研究部門の斎藤成也助教授が、主体的に参加した。また、大量遺伝 (寄付) 研究部門の北上 始助教授と山崎由紀子助手もこの研究事業に参画したが、3 月 31 日をもって予定通りこの寄付部門は終了した。しかし、北上助教授は、核酸化学客員研究室の客員助教授として、データバンク研究事業に協力した。また、本年より、総合研究大学院大学の山口由美大学院生が 2 年生として、遠藤俊徳大学院生が 1 年生として、本研究室で研究を行なった。さらに、4 月 1 日より、帝人グループの新井 理氏が受託研究員として、本研究室に所属して研究を行なうとともに研究事業に協力した。

本研究室の研究及び DDBJ 活動の補佐を、青山敦子、岩瀬正子、上田陽子、内田玲子、川本たつ子、斎藤真理、佐々木美香子、佐藤由美子、仕田原容子、下山メアリー、白壁則子、鈴木成子、鈴木利紀子、筒井波留、柳楽幸子、長谷川麻子、長谷川有子、服部淑恵、

平島美恵子, 堀江元乃, 佐久間陽子, 渡辺昭乃が行なった。

(1) ヒト集団における主要組織適合性抗原遺伝子の多様性 (五條堀・今西): ヒトの主要組織適合性 (MHC) 分子は, HLA と呼ばれる。1958 年に Dausset によって発見されて以来, HLA 分子の構造, 機能, そして遺伝子に関する知見が, 分子レベルにおいて飛躍的に蓄積してきている。HLA 遺伝子群は, 第 6 染色体に位置し, 約 4 Mb の長さを占めている。HLA 遺伝子は, その構造と機能によって, クラス I と II の 2 つのグループに分かれるが, とくとき補体はクラス III と呼ばれる。いくつかの HLA 遺伝子は, 極端に高い多型性を示すことがよく知られている。特に, クラス I の HLA-A, HLA-B, HLA-C の遺伝子や, クラス II の HLA-DR, HLA-DQ の遺伝子は, いろいろな人類集団において, 高度な多型性を示す。このため, これらの遺伝子は, 人類集団の進化的歴史を追跡するのに, 極めて有用である。この研究では, これらの観点から, 第 11 回国際 MHC ワークショップで収集された HLA のタイピングデータに基づいて, 80 人種にわたる人類集団の系統遺伝学的解析を総括的にまとめた。

詳細は, Human Population Genetics, pp. 67-74, Plenum Publishing Corp. に発表した。

(2) アミロイド  $\beta$  タンパク前駆体遺伝子とその挿入配列の分子進化的解析 (池尾・高橋 敬\*・五條堀): アルツハイマー病の脳に出現する老人斑の主成分は, アミロイド  $\beta$  タンパクである。その前駆体タンパクは, プロテアーゼ・インヒビター・ドメイン (クニッツ型インヒビター) を挿入配列としても膜タンパク質の一種であることが知られている。このプロテアーゼ・インヒビター・ドメインは, それ自身が特定の機能を持つ遺伝子であるばかりでなく, アミロイド  $\beta$  タンパク前駆体遺伝子で見られるように, 他の遺伝子の機能的ドメインとしても存在することが知られている。これらのクニッツ型インヒビター・ドメインは, 他の遺伝子への挿入や, 遺伝子重複によって, タンパク質の構造や機能の多様化に分子レベルの進化的単位として関与していると考えられる。

一方, アミロイド  $\beta$  タンパク前駆体は, 哺乳類に広く存在し, 近年, ショウジョウバエにも類似の遺伝子が見つかった。現在のところ, ショウジョウバエのアミロイド  $\beta$  タンパク前駆体には, プロテアーゼ・インヒビター・ドメインの挿入配列は見つかっていない。そこで, アミロイド  $\beta$  タンパクとその挿入配列の進化的起源および両者の進化的関係を調べるために, 各々の配列を用いて, 分子系統樹を作成し, 分子進化的解析を行った。これらの配列の起源は共に, 数億年前と古く, 進化の初期の段階でアミロイド  $\beta$  タンパク前駆体は, プロテアーゼ・インヒビターの挿入配列をもつに到ったと推定された。アミロイドタンパクの出現は, 約 4~5 億年前と推定された。また, アミロイド  $\beta$  タンパク前駆体にみられるクニッツ型インヒビター挿入配列もまた, インター  $\alpha$  トリプシンインヒビター型の遺伝子を祖先配列として, 約 4~5 億年前に出現したと推定された。この結果, アミロイド  $\beta$  タンパク前駆体遺伝子にみられるクニッツ型インヒビター・ドメインの挿入配列は,

\* 島根医大

インター- $\alpha$ トリプシンインヒビター型の遺伝子から遺伝子重複によって出現した直後にアミロイド $\beta$ タンパク前駆体遺伝子に挿入されたと考えられる。

この研究の一部の詳細は、Philosophical Transactions: Biological Sciences, The Royal Society に印刷中である。

(3) C型肝炎ウイルス遺伝子の進化速度 (伊奈・溝上\*・森山・五條堀): C型肝炎ウイルスの系統進化, 進化速度, 分岐時間等を知るために, 分子進化的解析を行なった。世界中のいろいろな地域から単離されたウイルス株の塩基配列を用いて, C型肝炎ウイルスの進化系統樹を構築した。この系統樹によると, 同一地域から単離されたウイルス株は, 必ずしも1つのクラスターを形成しなかった。このことは, このウイルスが輸血等の血液の移動とともに世界中に伝染されたことを強く示している。また, このウイルス遺伝子の同義置換速度を推定したところ, C遺伝子は $1.35 \times 10^{-3}$ /サイト/年で, E遺伝子の $6.29 \times 10^{-3}$ /サイト/年よりはるかに遅かった。これは, 他の遺伝子の置換速度がE遺伝子に近かったので, C遺伝子になんらかの機能的制約がかかっているものと考えられる。C遺伝子領域にオーバーラップして, ORFがとれるので, そのことが強く進化速度に関与しているものと考えられる。

詳細は, J. Mol. Evol., 38, 50-56, 1990 発表した。

(4) ヒトT細胞白血病ウイルスI型の系統進化とその人類学的考察 (三浦\*\*・伊奈・速水\*\*・五條堀): インドと南米(コロンビアとチリ)のそれぞれの原住民, アイヌの人々, 中央アフリカのガボン人, 西アフリカのガーナ人から単離されたヒトT細胞白血病ウイルス(HTLV-I)を進化系統学的に解析した。これらの単離株のゲノムを部分的に配列決定を行ない, 以前に得られている他のHTLV-I株やSTLV-Iのゲノム配列と比較を行なった。これらの比較から, 分子進化系統樹を作成した結果, 1つの主要なクラスターが存在することが分かった。このクラスターを“コスモポリタン”となづけ, 日本株やカリブ地域の株及び西アフリカ株がこれに含まれることが分かった。さらに, このコスモポリタン群を3つのサブタイプに分けて, 人種の進化との対応を検討した。

詳細は, Proc. Natl. Sci. USA に印刷中である。

(5) HIVの宿主内での進化機構 (山口・五條堀): HIVのゲノムは, 他のレトロウイルスと同様に, その突然変異率は非常に高い。HIVのゲノムの塩基置換速度は, 年あたりサイトあたり約 $10^{-3}$ のオーダーであり, これは宿主のゲノムの約百万倍の速さである。HIVの外被糖タンパク質のアミノ酸配列は, 異なる株間で配列に違いが見られるほか, 宿主内でも変異が見られ, 時間と共に変化する。外被糖タンパク質の第3可変領域(V3領域)は, 抗原決定基として重要であることが知られている。このV3領域が宿主からの何らかの淘汰圧を受けて適応的な進化をしているかどうかを査定するために, 宿主内での分子進化機構について解析を行なった。同一患者から採られた数十本のHIVの塩基配列から, 分子系統樹を数人の患者について作成したところ, V3領域付近の塩基配列は感染直

\* 名古屋市大医学部

\*\* 京都大学ウイルス研

後は殆ど均一であったが、時間の経過と共に塩基置換を蓄積し、区別できる変異系統が形成されていたことがわかった。V3 領域では、非同義置換速度が同義置換速度を上回る時期が存在した。V3 領域の塩基多様度は、時間と共に大きく変動していた。これらの観察結果は、V3 領域が、免疫系などの宿主からの淘汰圧を受けて、適応的な進化をしている可能性を示唆する。

(6) 同義・非同義塩基置換の大量解析 (遠藤・池尾・五條堀): DNA データベース (DDBJ Rel. 12) に登録されている遺伝子のうち、翻訳領域の全長が含まれている 26,705 個の塩基配列から、翻訳領域の塩基配列を取り出し、アミノ酸配列相同性データベース (SODHO Ver. 2, 富士通) で分けられた相同性によるグループを用いて、21,741 グループの cDNA アラインメントを作成した。この cDNA アラインメントを使い、Nei & Gojobori の方法によって、これらのグループのすべての塩基配列の組み合わせで、サイトあたりの同義・非同義塩基置換の推定を行ったところ、約 90% の塩基配列間で、推定された同義置換数が非同義置換数を上回っていた。また、約 10% の塩基配列間で、非同義置換数が同義置換数を上回っていた。非同義置換数が同義置換数を上回る遺伝子では、正の自然淘汰の起こった可能性がある。また、遺伝子の染色体上の位置と進化速度の関係を調べるため、ヒトとマウスで染色体上の位置のわかっている遺伝子を選び、これらを、ヒトの遺伝子上において G バンド上、R バンド上にあるものに分け、それぞれで塩基置換数の推定を行った。しかし、明らかな相関は見られなかった。これらの結果は、遺伝学会、分子生物学会で発表された。

(7) DNA データベースの構築とネットワークサービスの整備 (鶴川・池尾・山崎・北上・斎藤・館野・五條堀): DNA 配列データベースの構築と管理運営を、昨年関係データベース管理ソフトウェア Sybase を用いた GenBank 修正版によって行なう体制を完成させたが、今年もこれに基づいて DNA 配列データベースの構築を行なった。最新版の 1994 年 1 月のリリース 16 には 154,626 エントリー、165,017,628 塩基のデータが含まれている。その内訳は下に示してある。DDBJ の普及活動が広く浸透してきたこともあり、データのサブミッションが急増している。特に、ヒト、イネ、線虫などのゲノムプロジェクトの進展に伴い、大量データ登録の作業が増大してきている。また、ユーザー登録者は激増しており、昨年の 1000 人程度から現在は 1800 人に迫る勢いで増加している。

昨年、鶴川助手を中心として完成させた、anonymous ftp や WAID および Gopher などのネットワークサーバーの利用者も多く、DDBJ 活動にとって極めて有用である。なお、鶴川助手は、1993 年 12 月から農業生物資源研究所で新たに始まった DNA データバンク事業の責任者として栄転した。このデータバンクと DDBJ は、今後密接な協力関係を持ちながら互いの研究事業を進めていく。

DDBJ の過去 1 年間の研究事業の詳細は、DDBJ ニュースレター No. 14 や毎月発行の所内ニュースに発表した。

### G-e. 遺伝子ライブラリー研究室

本研究室では、遺伝子ライブラリーの構築、管理、配布という研究事業と、このための新しい方法論の開発を行い、並行して、遺伝子ライブラリーを活用して、動物発生過程の遺伝子発現ネットワークの解明をめざす研究を進めている。

研究室構成としては、小原雄治助教を中心として、安達佳樹助手、田原浩昭（総研大大学院生）、満木広宣（同）、曾慶韜（湖北大学・中国政府派遣研究員）が研究に参加した。パート職員として、西垣明子、本橋智子、渡辺寿子が実験補佐、杉本章子が実験及び事務補佐を兼務し、高橋初江が補助業務に従事した。

本年度の研究は、文部省科学研究費創成的基礎研究「ヒトゲノム解析研究」（小原）、同奨励研究(A)（安達）、理化学研究所委託研究「ヒトゲノム解析研究」（小原）の支援を受けた。

研究事業としては昨年にひきつづき大腸菌遺伝子ライブラリー、新たに線虫 cDNA データベースについて活動した。

1) 大腸菌遺伝子ライブラリー（小原・西垣・杉本）：小原が名古屋大学在職中に作成した大腸菌ゲノムの遺伝子ライブラリーの維持、配布、情報収集を続けた。このライブラリーの特色は、個々のクローンについて詳細な制限酵素地図が作成されており、これをもとに、大腸菌全ゲノム 4,700 キロ塩基対が、互いに少しずつオーバーラップするクローンでおおわれていることである。総数 3,400 クローンの中から十分な重なりをもってゲノムをカバーする 476 クローンを選び出し、これを「ミニセット」としてリクエストに応じてきた。本年は 64 件、のべ 4,493 クローンを世界 13 ヶ国（アメリカ、日本、ドイツ、イギリス、韓国、オランダ、旧ユーゴ、スウェーデン、オーストラリア、ブラジル、ロシア、カナダ、フランス（発送数順））の研究者に送付した。これまでの累計は、世界 30 ヶ国 634 件、のべ 86,639 クローンにのぼっている。発送先の研究者には、その地域の研究者への二次配布を積極的に求めているので、クローンの利用者はこれらの数字よりはるかに多いことが予想される。また、ミニセットクローンをプロットしたメンブレンフィルターは、本年も宝酒造（株）により製造され、国内、北米、ドイツで市販された。これを用いた研究からのクローンのリクエストが増えている。

(2) 線虫 *C. elegans* の cDNA データベース（小原・杉本）：以下に述べる cDNA の系統的解析プロジェクトから得られた情報は、一部のクローンについてはすでに線虫統合データベース ACEDB に送付し、公開されている。今後まとまり次第、速やかな公開を計画している。また、タグ配列のうち約 1,400 本は DDBJ に登録した。cDNA クローンの高密度グリッドフィルター（1,440 クローン/枚を 3 枚）は要望が高いので、最近になって配布を開始した。種々のフィードバックがあることを期待している。

線虫 *C. elegans* 発生過程の遺伝子発現ネットワークの研究

線虫 *C. elegans* は発生、神経系、行動の分子遺伝学研究所のすぐれたモデル材料であり、さらに、線虫はゲノム解析が最も進んでいる生物の一つである。すでに、線虫ゲノム（100

Mb, 染色体 6 本) のほぼ全部が約 1,000 の整列 YAC/コスミドクローンでカバーされ、ゲノム計画での第一のゴールであるゲノムマップは、多細胞生物としては初めて完成した。英米 2 グループ共同で全塩基配列決定計画が開始され、1998 年完成を目指してすでに大規模配列決定 (1 Mb/年/ユニット x 数ユニット) の段階にはいっている。

しかし、ゲノム DNA の塩基配列だけでは遺伝子構造やその発現制御の仕組みは分からない。遺伝子構造は cDNA を調べる必要があるし、遺伝子の発現は転写、翻訳、修飾などいろいろな段階で制御されている。また、mRNA やタンパクなど遺伝子産物の局在化も重要な役割をもっている。これらの研究はこれまで個々に行われてきたが、生命現象の全体像を分子遺伝学的に解明することをめざすならば、遺伝子産物の解析をそのダイナミックな発現様式を含めて系統的に行う必要がある。ゲノムマップを手にした今、これを軸に多くの情報を有機的に結び付けて総合的なアプローチをとるべきである。そうすれば、突然変異体から始まるこれまでの道筋はよりやりやすくなるだろうし、逆に興味ある発現パターンを示すタンパクや cDNA から始めて突然変異体にあたるといふ道筋も開けてくるであろう。このような展開こそ実験生物におけるゲノム研究のめざすところである。

このような観点から、本研究は、遺伝子総数約 15,000 と推定される *C. elegans* について、全遺伝子を同定すること、全遺伝子の挙動を調べることを通じて、発生過程における遺伝子発現ネットワークの理解をめざすものである。対象としては mRNA (cDNA) と遺伝子タンパクがあるが、第一段階として、以下のような cDNA の系統的解析をおこなった。

(1) cDNA クローンの分類 (小原・西垣・杉本・本橋): 前回報告したランダム cDNA クローンのサブセット約 4,400 クローン ( $\lambda$ ZAP ベクター, 線虫 *him-8* 株の全発生時期を含む集団由来, 鎖長分画をしたので挿入 cDNA は 1.5~5 Kb, 発現量の多い遺伝子 20 種は除いてある) について分類を進めた。

オリジナルファージストック液から直接 PCR で増幅した挿入 cDNA を鋳型に, anchored oligo (dT) プライマーを用いたサイクルシーケンシング反応で 3'-poly-A のすぐ上流からのタグ配列を決定した。これをデータベース化し, 新たに決定した配列と FASTA プログラムで比較した。同一の配列を持つものを同じ遺伝子のクローンであると見なし, 同一グループに分類した。4,016 クローンをシーケンスした結果, 3,089 のクローンについてクリーンなシーケンスが得られ, 上記の解析の結果, 1,478 の cDNA 種 (遺伝子種) に分類された。これは推定全遺伝子の約 10% に相当する。複数のクローン (2~23 クローン) が出現したものが 670 種, 1 クローンのみ見つかったのが 808 種であった。これらのユニーク cDNA 種に CELK00001 から CELK01478 の通し番号をつけた。

(2) cDNA クローンの塩基配列解析 (小原・杉本・本橋・西垣): 5'-側からのタグ配列決定も並行しておこない, 3', 5'-タグ配列の両方について, 東大医科研ヒトゲノム解析センターの BLAST サーバーを利用して non-redundant タンパクデータベースに対しホモロジー検索をおこなった。その結果, 565 種 (38%) に有意な類似遺伝子が見つかった。

データベースの組成の反映か、出現クローン数の多い cDNA 種は類似遺伝子が見つかる頻度が高かった。既知の線虫遺伝子に対しては、データベースの 173 エントリー (tRNA 遺伝子などは除いた) 中 36 遺伝子 (約 20%) にヒットした。また、ゲノムシーケンシング計画で決定された 67 コスミド (約 2 Mb) については、30 コスミドに 49 種の cDNA がヒットした。

複数のクローンが出現した cDNA 種について、各クローンの配列をオーバーラップさせた結果、5'-端はかなりまちまちで、nested deletion シリーズのようにオーバーラップが取れ、部分的に配列決定を追加すれば全長配列を決定できることがわかった。また、途中から枝わかれするクローンがいくつか見つかり、既にゲノムシーケンスがわかっている領域のものについて比較したところ、alternative splicing によることが判明した。タグ配列だけからでも、alternative splicing の調節を受けている遺伝子群を選び出せる可能性が出てきたので、今後詳細な解析を進め、そのような遺伝子のセットを作成する予定である。

(3) cDNA クローンの全長配列決定 (満木・小原): 全長配列決定法としては、昨年度開発した PCR-based nested deletion 法を改良し、nested deletion 断片の分取に必要であった 32P 標識を蛍光標識に代え、FM-BIO100 Fluor Imager を用いてすべて非 RI 条件でおこなえるようにした。FM-BIO100 の使用にあたっては宝酒造 (株) 中央研究所・石野博士の協力を得た。

(4) ゲノムへのマッピング (小原・本橋・杉本・西垣): ほぼ全ゲノムをカバーする YAC 整列クローン (956 クローン) を格子状に並べたメンブレンのレプリカを多数し、PCR 増幅した挿入 cDNA をプローブにハイブリダイズさせることにより、ゲノムへのマッピングをおこなった。プローブの標識は DIG (ジゴキシゲニン) のシステムを用い非 RI 法でおこなった。これまでに、1,022 クローンをマップした。染色体間での偏りは見られなかったが、染色体内では中央部が比較的密度が高く、端の領域は疎らであった。

(5) より rare なクローンの分離同定 (小原・渡辺・本橋・杉本・西垣): より rare なクローンを分離分類していくため、更に数多くのクローンを解析する必要があるが、ランダムに解析を進める方法では無駄が多い。そのために、同じライブラリー、短い cDNA も含むライブラリー、胚発生期由来のライブラリー、から各 10,000 クローン、合計 30,000 クローンをランダムに集め、96 穴プレートに保存し、これを高密度グリッドにしてすでに分類済みのクローンをプローブにハイブリダイゼーションをおこない、未同定クローンのサブセットを作成中である。そらい次第、上記と同様、タグ配列決定→分類、マッピング、発現パターン解析、を始める予定である。

(6) 発現時期、細胞の決定 (田原・小原): 各発生時期 (2 時間おき) の単一胚から mRNA の 3' 側 0.5~1 Kb を一様に PCR で増幅する方法を開発し、これをメンブレンにドットプロットして発現時期決定の試験紙として用いた。これの妥当性について検討するために、これまで困難とされてきた whole mount embryo への *in situ* ハイブリダイゼーション法を開発した。卵殻の除去、ヴィテリン膜の除去、形態維持のための浸透圧調整、

など種々の改良をおこない、既知のコントロール遺伝子 (*gfp-1*: 極初期の胚のみで発現, *unc-54*: 中期胚以降の体壁筋のみで発現, *myo-2*: 中期胚以降の咽頭筋のみで発現, *vit-2*: 成虫の腸のみで発現) をもちいた予備実験で方法の信頼性を確認した。このメンブレンを用いてこれまでに第3染色体にマップされた126種のcDNAについて発現パターンを調べた。その結果、胚発生全時期で発現が見られたもの52種(41%), 初期胚のみで発現が見られたもの(母性遺伝子)19種(15%), 中期~後期胚で発現が見られたもの(接合体型遺伝子)14種(11%), シグナルがはっきり出なかったもの(発現量が非常に少ないか、または幼虫期以降に発現)41種(32%)であった。時期特異的にシグナルが見られるクローンについて *in situ* ハイブリダイゼーションで発現細胞を調べた結果、特定の細胞(系譜)での発現が見つかってきており、特異的発現遺伝子のスクリーニングに有効であることが示された。

(7) 特異的発現を示す遺伝子の解析(田原・曾・小原): クローン4-3は上記の解析で原腸陥入期に特異的な遺伝子として単離されたものである。*in situ* ハイブリダイゼーションの結果、4細胞期ころから発現が見られ、原腸陥入期に最高に達し、以後急速に減少することがわかった。興味ぶかいことに生殖系列創始細胞だけ発現が見られず、他の細胞では多少の違いがあるものの同程度の発現が見られた。Northern解析の結果、mRNAは1Kb弱であった。cDNAクローンの塩基配列の結果、データベースに類似遺伝子が見つからない新規な遺伝子であるが、核タンパクであることが推測された。

クローン4-1は受精後9時間頃に特異的な遺伝子として単離されたもので、*in situ* 解析の結果、発現は上皮または神経細胞と思われる少数の細胞に限られた興味深いパターンであった。これも、データベースに類似遺伝子が見つからない新規な遺伝子であった。

(8) トランスポゾン挿入を利用する遺伝子破壊法の開発(安達・小原): 上述のようなcDNA解析から得られた遺伝子の生物機能を知るためには遺伝子機能を欠損した変異体の解析が必要である。*C. elegans* ではgene targetingをおこなうのに適当な選択マーカーが不十分であるので、昨年に引き続き、トランスポゾン挿入突然変異体バンクの構築とPCRを応用した挿入変異体単離法、さらにトランスポゾン切り出しに伴う欠失変異体の分離法の開発を進めた。

*C. elegans* の *mutator* 株は約300コピーのトランスポゾン Tc1 を持ち、様々な遺伝子への挿入突然変異体が知られている。任意の遺伝子について Tc1 挿入変異体を得る以下の方法を開発した。*mutator* 株を約100個体ずつプールして培養した後、そのF1集団の一部個体を凍結保存して突然変異体バンクを作成し、残り個体から各プールごとのPCR用DNAを調製する。目的遺伝子配列とTc1配列をプライマーとしてPCRを行ない、Tc1が目的遺伝子領域に挿入した個体を含むプールを検出する。そのプールの保存個体を各個体別に培養し、F1世代の一部を同様のPCRで調べ、目的遺伝子へのTc1挿入変異株を得る。表現型が劣性致死である場合でも、Tc1挿入ヘテロ接合体でPCR産物を検出できるので分離可能のはずである。

2種類の *mutator* 株 RW7097 (*mut-6*) 及び MT3126 (*mut-2*) よりバンクを作成し、い

くつかの遺伝子について Tc1 挿入変異株の分離頻度を調べた。RW7097 株の 768 プール (約 80,000 個体に相当) よりなるバンクでは、調べた 13 遺伝子に対し 7 遺伝子で 9 種の Tc1 挿入株を得た。MT3126 株から作成した 192 プール (約 20,000 個体に相当) のバンクからは、調べた 6 遺伝子中 4 遺伝子において計 5 株を得ることができた。単位ゲノム領域への 1 プール当り Tc1 挿入株を得る割合は、MT3126 株の方が高いことが明らかとなり、このバンクでは約 4 Kb のゲノム領域に対し 1 個の Tc1 挿入株が期待できることがわかった。総計 14 種の Tc1 挿入株中 7 種はエキソンへの挿入であった。その内、*unc-22* 遺伝子への Tc1 挿入ホモ接合体は特徴的な表現型 (twicher) を示した。他の遺伝子については、変異体の表現型はわかっていなかったが、エキソンへの挿入変異のホモ接合体においても、生存率、形態、運動性に異常を見いだせなかった。

しかし最近、Tc1 が転写後スプライシングにより除かれ遺伝子機能が回復する例が報告されているので、確実に遺伝子機能を破壊するため、Tc1 の転移に伴い近傍領域の欠失が高頻度に生じることを利用して、Tc1 挿入株より欠失変異体の分離を試みた。方法は、Tc1 挿入ホモ接合体を各少数個体より出発する 50 集団として培養し、その一部より DNA を抽出し、Tc1 挿入部位をはさむプライマーで PCR を行なう。正確な切り出しが起こった場合、野生型の長さの PCR バンド (通常約 3 Kb に設定) が出現するので、これより短い PCR 産物を指標として欠失変異体を含む集団を検出し、この集団中の個体を更に少数ずつ培養し、同様の PCR による検出を繰り返すことで欠失変異株を得るものである。キナーゼドメインとホモロジーがある配列を持つことからクローニングされた *kin-16* 遺伝子は、機能欠損による表現型が知られていない。この遺伝子について、上述のようにして欠失変異体の分離を試みたところ 3 株を得ることができ、その内 1 株では遺伝子全長を欠失していた。そのホモ接合体でも生存率、形態、運動性に異常を見いだせなかったので、*kin-16* が non-essential であるか、機能的に重複する他の遺伝子が存在することが考えられた。同様の試みが他の遺伝子についても進行中である。

## H. 放射線アイソトープセンター

(1) 枯草菌 *secA* 遺伝子の転写制御 (定家): 枯草菌は栄養源の枯渇によって増殖が止まると孢子形成を始める。孢子形成は一つの細胞に不等分裂によって大きさの異なる二つの細胞が出来て、大きい細胞が小さい細胞を孢子細胞に育成する過程である。孢子形成の真のシグナルはいまだ不明であるが、リン酸を介したシグナル伝達によって Spo0A 蛋白がリン酸化され、転写制御因子となって孢子形成期特有のシグマ H 遺伝子を活性化し、シグマカスケードを誘導することによって孢子形成が始まる。*secA* は初め細胞分裂の開始に関与する遺伝子として分離されたが、その後不等分裂や孢子形成シグナル伝達の初期にも必要であることが分かった蛋白局在化遺伝子である。栄養増殖と孢子形成を結ぶ過程での *secA* の役割を知る目的で、この遺伝子の転写制御機構の研究を行っている。

S1 マッピングとプライマー伸長法によって *secA* の転写開始点が同定された。プロモーターからの転写は T2 を過ぎると止まる。孢子形成シグナル伝達欠損株 (*spo0A*) と蛋白分

泌シグナル伝達活性化株 (degU32) では転写が持続するので、孢子形成が始まると Spo0A によって負に、DegU によって正に制御されていることが分かった。secA のプロモーターには DegU の標的配列が、構造遺伝子内には Spo0A の標的配列が存在することはこの解釈を支持する。secA のようなハウスキープ遺伝子がどのように制御されていて、蛋白局在化およびそれ以外の未知の機能を通して細胞の増殖と分化にどのように関わっているかを知ることは重要である。

(2) 枯草菌ゲノム解析 (定家, 谷田): ヒトゲノム計画の一環として日本, ヨーロッパ共同プロジェクトの枯草菌全ゲノムの塩基配列決定計画が進行中であるが, 当研究室では sigB-cotA 領域のシーケンスを担当している。方法は枯草菌 DNA のラムダーライブラリーから板谷のリンキングクローンにプラークハイブリするものを pUC ベクターにクローニングして, デリション法によるサブクローンを作成し, 一本鎖あるいは二本鎖 DNA でサイクルシーケンスの後自動シーケンサーで塩基配列を決定する。今までに 15 kb 程の塩基配列を決定したが ORF のうちホモロジーのあったものは既知の枯草菌 phoAIII と大腸菌 dnaG オペロンの orfX のみであった。

## I. 実験圃場

実験圃場は植物関連研究部門の圃場, 水田, 温室における実験材料の栽培・管理を行い, 研究活動を支援している。また, 野生イネやサクラ・アサガオの系統保存業務についても協力している。中村郁郎助手は 4 月に岩手生物工学研究センターに転出した。本年, 圃場長は育種遺伝研究部門の佐野助教授が兼任し, 芦川・永口・宮林の各枝官の協力を得て運営にあたった。

## V. 研究活動

### A. 研究業績

#### 1) 著書・分担執筆

- 五條堀 孝: 第16巻分子進化実験法. 共編, 日本生化学会編, 「新生化学実験講座」, 東京化学同人.
- 五條堀 孝: 分子進化実験法序論. 「新生化学実験講座」(日本生化学会編), 第16巻分子進化実験法, pp. 1-8, 東京化学同人, 1993.
- 五條堀 孝: がん遺伝子の進化. 「新生化学実験講座」(日本生化学会編), 第16巻分子進化実験法, pp. 115-124, 東京化学同人, 1993.
- 五條堀 孝: 系統樹. 「新生化学実験講座」(日本生化学会編), 第16巻分子進化実験法, p. 506, 東京化学同人, 1993.
- 五條堀 孝, 池尾一穂: 分子進化工学の将来. 「分子生物学からバイオテクノロジーへ」(三浦謹一郎編), pp. 30-35, 共立出版, 1993.
- 五條堀 孝, 池尾一穂, 鶴川義弘: DNA データベースとタンパク質データベース. 「新生化学実験講座」(日本生化学会編), 第16巻分子進化実験法, pp. 423-434, 東京化学同人, 1993.
- Gojobori, T. and T. Imanishi: Genetic variability of major histocompatibility complex in human populations. In: "Human Population Genetics: A centennial tribute to J. B. S. Haldane" (Majumder, P. ed.), pp. 67-74 Plenum Publishing Corp., 1993.
- Hara, H. and Park, J. T.: A far upstream region is required for expression of the *ftsI* gene coding for penicillin-binding protein 3 of *Escherichia coli*. In "*Bacterial growth and lysis*" (de Pedro, M. A. et al. ed), pp. 303-308, Plenum Press, New York, 1993.
- 宝来 聡: 遺伝子からみた日本人の起源. 「日本人と日本文化の形成」, pp. 323-342, 朝倉書店, 1993.
- 宝来 聡: 日本人はどこからきたか, 遺伝学からみたモンゴロイドの拡散. 「日本文化の起源, 民族学と遺伝学の対話」, pp. 69-98, 講談社, 1993.
- 広瀬 進: 転写開始複合体形成の動力学. バイオマニュアルシリーズ5, 転写因子研究法(田村隆明編), pp. 87-96, 羊土社, 1993.
- Ikemura, T.: CODON USAGE. In "Plant Molecular Biology LABFAX" (Croy, R. R. D. ed.), pp. 37-48, Blackwell Scientific Publications, UK, 1993.
- 池尾一穂, 五條堀 孝: コンピュータ・CG; 一次構造比較. 「新生化学実験講座」(日本

- 生化学会編), 第20巻機器概論, pp. 349-363, 東京化学同人, 1993.
- 伊奈康夫, 五條堀孝: アミノ酸配列モチーフ表, 「新生化学実験講座」(日本生化学会編), 第16巻分子進化実験法, pp. 467-505, 東京化学同人, 1993.
- 石浜明: RNAポリメラーゼの分子を解剖する, 「分子生物学からバイオテクノロジーへ」(三浦謹一郎編), pp. 95-103, 共立出版, 東京, 1993.
- 石浜明: 遺伝情報の発現機構, 「分子生物学」(三浦謹一郎編), pp. 71-82, 日本放送大学教育振興会, 東京.
- Ishihama, A., Toyoda, T., Kobayashi, M., Yasuda, J., Asano, Y. and Nakayama, M.: Formation and control of influenza virus RNA polymerase. In "Options for the Control of Influenza" (Hannoun, C. et al., eds.), pp. 289-297, Elsevier Sci. Publ. B. V., 1993.
- Ishihama, A., Yamagishi, M., Fujita, N., Matsushima, H., Ozaki, M. and Sakurai, H.: Starvation-induced resistant state of *Escherichia coli*: Transcriptional and translational control at the stationary phase. In "Stress Proteins" (Azuma, K. ed.), J. UOEH, Vol. 15, Suppl., pp. 25-30, 1993.
- Ishihama, A., Zou, C., Kobayashi, M., Kumar, A., Fujita, N., Sakurai, H. and Hayward, R. S.: Molecular recognition in gene transcription. In "Molecular Recognition in biological systems" (Buckin, V. et al., eds.).
- Iyama, S., Tsunewaki, K. and Tateno, Y.: Catalogue of wheat experimental strains maintained in the universities and institutes in Japan. Genetic Resources Section, National Institute of Genetics, Mishima, 1993.
- 桂 勲: 線虫 *C.エレガンス* の発生における細胞死, 「細胞死の生物学」(三羽信比古編著), pp. 240-254, 東京書籍, 東京, 1993.
- 小原雄治: ゲノムDNAのクローニング, 臨床遺伝医学(編集・古庄敏行, 外村 晶, 清水信義, 北川照男), pp. 31-38, 診断と治療社, 東京, 1993.
- 三中信宏, 斎藤成也: 最大節約法, 新生化学実験講座第16巻「分子進化実験法」(五條堀孝・口野嘉幸・西村邁・大沢省三共編), pp. 380-395, 東京化学同人, 東京, 1993.
- 森島啓子: イネ遺伝資源—その多様性・遺伝的侵蝕・保全, 「育種とバイオサイエンス」(蓬原雄三編), pp. 32-45, 養賢堂, 1993.
- 森島啓子: 遺伝学と系統論—パターンからプロセスへ, 「日本文化の起源—民族学と遺伝学の対話」(佐々木高明・森島啓子編), pp. 43-66, 講談社, 1993.
- 森島啓子: イネにおける節間伸長と花芽形成の可塑性, 「植物の形質発現と環境適応機構」(東北大遺生研 IGE シリーズ17), pp. 51-63, 1993.
- 森脇和郎・米川博通: 遺伝子からみたアジア産ハツカネズミ亜種の分布と分化—ヒトの移動の指標となり得るか?—, 「日本人と日本文化の形成」(埴原和郎編), 422-431, 朝倉書店, 1993.

- 中 辻 憲 夫: 「発生工学のすすめ」実験医学バイオサイエンスシリーズ 第11巻, 羊土社, 1993.
- 斎 藤 成 也: 近隣結合法. 新生化学実験講座第16巻「分子進化実験法」(五條堀孝・口野嘉幸・西村邁・大沢省三共編), pp. 400-410, 東京化学同人, 東京, 1993.
- 佐藤洋一郎: 稲のきた道. pp. 12-21, しにか, 1993.
- 佐藤洋一郎: 熱帯における遺伝資源の喪失, TROPICS, 3(1): 33-50, 1994.
- 佐藤洋一郎: 遺伝学からみた稲の伝来と稲作文化の受容. 「日本文化の起源—民族学と遺伝学の対話」(佐々木高明・森島啓子編), pp. 59-198, 講談社, 1993.
- 瀬 野 悍 二: ユビキチンによる染色体動態の遺伝的制御. 実験医学増刊「染色体の分子細胞生物学」(柳田充弘ら編) Vol. 11, No. 20, p. 2635, 羊土社, 1993.
- Tajima, F.: Measurement of DNA polymorphism. In "*Mechanisms of Molecular Evolution*" (Takahata, N. and Clark, A. G. eds.), pp. 37-59, Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Sinauer Associates, Sunderland, MA, 1993.
- 田 嶋 文 生: 平均距離法. 新生化学実験講座第16巻「分子進化実験法」(日本生化学会編), pp. 376-380, 東京化学同人, 東京, 1993.
- Takahata, N. and Clark, A. G. (Edited): *Mechanisms of Molecular Evolution*. Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Sinauer Associates, Sunderland, MA, 1993.
- Takahata, N.: Haldane's contribution to the understanding of the evolution of vertebrate immune system. In "Human Population Genetics: A centennial tribute to J.B.S. Haldane" (Partha P. Majumder, ed.), pp. 49-65, Plenum Press, 1993.
- Takahata, N., Satta, Y. and Klein, J.: Trans-species polymorphism at the major histocompatibility complex loci. In "Progress in Immunology VIII." (J. Gergely, M. Benczur, Anna Erdei, A. Falus, Gy. Fust, G. Medgyesi, Gy. Petronyi, Eva Rajnavolgyi eds.), pp. 153-158, Springer/Verlag, 1993.
- 館 野 義 男: 系統樹作成法 概論. 「分子進化実験法」, 五條堀, 口野, 西村, 大沢篇, pp. 373-376, 東京科学同人.
- 館 野 義 男: Faris 法と改 Farris 法. 「分子進化実験法」, 五條堀, 口野, 西村, 大沢篇, pp. 395-400, 東京科学同人.
- Tomizawa, J.: Evolution of functional structures of RNA. In "*The RNA World*" (Gesteland, R. and Atkins, J. F., eds.) pp. 419-445, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1993.
- Wada, K., Wada, Y., Tanaka, S., Doi, H., Nakamura, Y., Sugaya, K., Fukagawa, T. and Ikemura, T.: A sensitive and efficient homology search method to find protein-coding regions using protein-coding region DNA database. In "Proceedings of Genome Informatics Workshop IV" (Takagi, T. et al., eds.), pp. 347-351, Universal Academy Press, Inc. Tokyo, 1993.

米川博通, 森脇和郎: 「マウスから見た日本人の起源」(佐々木・森島編), pp. 137-157, 1993, 講談社.

米澤勝衛: 植物集団における遺伝的周縁効果. 「育種学最近の進歩」第34集, pp. 124-133, 1993.

## 2) 論文

Aizawa, S., Yaguchi, M., Nakano, M., Toyama, K., Inokuchi, S., Imai, T., Yasuda, M., Nabeshima, R. and Handa, H.: Hemopoietic supportive function of human marrow stromal cell line established by a recombinant SV40-adenovirus vector. *Exp. Hematol.*, in press.

Ando, A., Kikuti, Y. Y., Kawata, H., Okamoto, N., Imai, T., Eki, T., Yokoyama, K., Soeda, E., Ikemura, T., Abe, K. and Inoko, H.: Cloning of a new kinesin-related gene located at the centromeric end of the human MHC region. *Immunogenetics*, **39**, 194-200, 1994.

Ando, A., Shiina, T., Kawata, H., Kikuti, Y. Y., Geng, L., Tsuji, K., Ikemura, T. and Inoko, H.: Cloning of new expressed genes located at the centromeric end of the human major histocompatibility complex (MHC) region. *HGM93*, in press.

Araki, K., Ohashi, Y., Sasabe, T., Kinoshita, S., Hayashi, K., Yang, X. Z., Hosako, Y. and Handa, H.: immortalization of rabbit corneal epithelial cells by a recombinant SV40-adenovirus vector. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **34**, 2665-2671, 1993.

Azuma, Y., Yamagishi, M. and Ishihama, A.: Subunits of the *Schizosaccharomyces pombe* RNA polymerase II: Enzyme purification and structure of the subunit 3 gene. *Nucleic Acids Res.*, **21**, 3794-3745, 1993.

Chiquet-Ehrismann, R., Hagios, C. and Matsumoto, K.: The tenascin gene family. *Perspect. Dev. Neurobiol.*, **2**, 3-7, 1994.

Danjo, I., Iha, H., Onozawa, T., Zhaojun, X. and Fujiyama, A.: The posttranslational modification of C-terminal amino acids of the ras super family proteins. *Amino Acids*, **5**, 147, 1993.

Ehrismann, R. C., Hagios, C. and Matsumoto, K.: The tenascin gene family. *Perspect. Dev. Neurobiol.*, in press.

Eiguchi, M., Hirano, H. Y., Sano, Y. and Morishima, H.: Effect of water depth on internodal elongation and floral induction in a deepwater-tolerant rice line carrying the *dw3* gene. *Japan. J. Breed.*, **43**, 135-139, 1993.

Eiguchi, M., Sano, R., Hirano, H.-Y. and Sano Y.: Genetic and developmental bases for phenotypic plasticity in deepwater rice. *J. Hered.*, **84**, 201-205, 1993.

Gojobori, T. and Ikeo, K.: Molecular evolution of serine protease and its inhibitor with

- special reference to domain evolution. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, The Royal Society, in press.
- Gojobori, T., Yamaguchi, Y., Ikeo, K. and Mizokami, M.: Evolution of pathogenic viruses with special reference to the rates of synonymous and non-synonymous substitutions. *Jpn. J. Genet.*, in press.
- Hamamatsu, C., Toriyama, S., Toyada, T. and Ishihama, A.: Ambisense coding strategy of the rice stripe virus genome. *J. Gen. Virol.*, **74**, 1125-1131, 1993.
- Hashimoto, H., Ishihara, T., Shigemoto, R., Mori, K. and Nagata, S.: Molecular cloning and tissue distribution of a receptor for pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Neuron*, **11**, 333-342, 1993.
- Hashimoto, S., Kumai, H., Nakai, M., Hashimoto, K. and Nakatsuji, N.: Promotion of cell adhesion on fibronectin during adenovirus infection of KB cells. *Exp. Cell Res.*, **205**, 270-275, 1993.
- Hayashi, S., Hirose, S., Metcalfe, T. and Shirras, A.: Control of imaginal cell development by the *escargot* gene of *Drosophila*. *Development*, **118**, 105-115, 1993.
- Hayashi, T., Ohtsuka, H., Kuwabara, K., Mafune, Y., Miyashita, N., Moriwaki, Ki., Takahashi, Y. and Kominami, R.: A variant family of mouse minor satellite located on the centromeric region of chromosome 2. *Genomics*, **17**, 490-492, 1993.
- Hayashizaki, Y., Shibata, H., Hirotsune, S., Sugino, H., Okazaki, Y., Sasaki, N., Hirose, K., Imoto, H., Okuizumi, H., Muramatsu, M., Komatsubara, H., Shiroishi, T., Moriwaki, K., Katsuki, M., Hatano, N., Sasaki, H., Udeda, T., Mise, N., Takagi, N., Plass, C. and Chapman, V. M.: Identification of an imprinted U2af binding protein related sequence on mouse chromosome 11 using the RLGS method. *Nature Genetics*, **6**, 33-40, 1994.
- Higashitani, A., Greenstein, D., Hirokawa, H., Asano, S. and Horiuchi, K.: Multiple DNA conformational changes induced by an initiator protein precede the nicking reaction in a rolling circle replication origin. *J. Mol. Biol.*, in press.
- Higashitani, N., Higashitani, A. and Horiuchi, K.: Nucleotide sequence of the primer RNA for DNA replication of filamentous bacteriophages. *J. Virol.*, **67**, 2175-2181, 1993.
- Higashitani, N., Higashitani, A., Hotta, Y. and Tabata, S.: Characterization of meiosis-specific strand transfer activities in lily microsporocytes. *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.*, **71**, 259-267, 1993.
- Higashitani, A., Nishimura, Y., Hara, H., Aiba, H., Mizuno, T. and Horiuchi, K.:

- Osmoregulation of the fatty acid receptor gene *fadL* in *Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genet.*, **240**, 339-347, 1993.
- Hirano, H.-Y., Mochizuki, K., Umeda, M., Ohtsubo, H., Ohtsubo, E. and Sano, Y.: Retrotransposition of a plant SINE into the *wx* locus during evolution of rice. *J. Mol. Evol.*, **38**, 132-137, 1994.
- Honda, R., Ohba, Y., Nagata, A., Okayama, H. and Yasuda, H.: Dephosphorylation of human p34<sup>cdc2</sup> kinase on both Thr-14 and Try-15 by human *cdc25B* phosphatase. *FEBS Lett.*, **318**, 331-334, 1993.
- Honda, M., Shiosaki, K., Eda, Y., Tokiyoshi, S., Yamamoto, S., Nakasone, T., Ikeo, K., Yamaguchi, Y., Gojobori, T., Korber, B., Hachimori, T. and Yamazaki, S.: Father-to-mother-to-infant transmission of HIV-1: Clonally transmitted isolate of infant mutates more rapidly than that of the mother and gradually loses reactivity with neutralizing antibody. *J. Virology*, in press.
- Horai, S., Kondo, R., Nakagawa-Hattori, Y., Hayashi, S., Sonoda, S. and Tajima, K.: Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.*, **10**(1), 23-47, 1993.
- Ina, Y., Mizokami, M., Orito, E., Moriyama, E. N., Yamamoto, M. and Gojobori, T.: Reduction of synonymous substitutions in the core protein gene of hepatitis C virus. *J. Mol. Evol.*, **38**, 50-56, 1993.
- Ina, Y., Mizokami, M., Orito, E., Moriyama, E. N., Yamamoto, M. and Gojobori, T.: Mutation pattern of hepatitis B viruses and its implication for the effect of the anti-viral drugs. *Mol. Biol. Evol.*, in press.
- Inomata, Y., Wada, T., Handa, H., Fujimoto, K. and Kawaguchi, H.: Preparation of DNA carrying affinity latex and purification of transcription factors with the latex. *J. Biomater. Sci.*, in press.
- Ishida, T., Pan, I.-H., Horai, S., Saitou, N. and Sun, C.-S.: Seroepidemiological survey of human T-lymphotropic retrovirus among indigenous populations in Taiwan. *International Journal of Epidemiology*, **22**, 927-930, 1993.
- Ishihama, A.: Protein-protein communication within the transcription apparatus. *J. Bacteriol.*, **175**, 2483-2489, 1993 (minireview).
- Ishihama, A. and Barbier, P.: Molecular anatomy of viral RNA-directed RNA polymerases. *Arch. Virol.* **134**, 235-258, 1994 (review).
- Iwata, A., Tsuchiya, T., Ueda, S., Ishihama, A., Zhu, G.-S. and Hirai, K.: Nucleotide sequence and transcription organization of the tumor-associated region of Marek's disease virus. *Proc. Internatl. Symp. Marek's Disease Virus*, in press.

- Kabata, H., Kurosawa, O., Arai, I., Washizu, M., Glass, R., Margaron, S. A. and Shimamoto, N.: Visualization of single molecules of RNA polymerase sliding along DNA. *Science*, **262**, 1561-1563, 1993.
- Kajitani, M., Kato, A., Wada, A., Inokuchi, Y. and Ishihama, A.: Regulation of the *Escherichia coli hfq* gene encoding host factor-I for phage Q $\beta$ . *J. Bacteriol.*, **176**, 53-534.
- Kanamaru, K., Kashiwagi, S. and Mizuno, T.: The cyanobacterium, *Synechococcus* sp. PCC7942, possesses two distinct genes encoding cation-transporting P-type ATPases. *FEBS Lett.*, **330**, 99-104, 1993.
- Katsura, I.: In Search of new mutants in cell-signaling systems of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetica*, **88**, 137-146, 1993.
- Katsura, I., Kondo, K., Amano, T., Ishihara, T. and Kawakami, M.: Isolation, characterization, and epistasis of fluoride-resistant mutants of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, **136**, 145-154, 1994.
- Katoh, Y., Maekawa, M. and Sano, Y.: Effects of 5-azacytidine on somatic mutation in a soybean test system. *Mutation Res.*, **300**, 49-55, 1993.
- Kawagishi, M., Yamagishi, M. and Ishihama, A.: Cloning and sequence determination of the *Schizosaccaromyces pombe rpb2* gene encoding the subunit 2 of RNA polymerase II. *Nucleic Acids Res.*, **21**, 469-473, 1993.
- Kawase, E., Yamamoto, H., Hashimoto, K. and Nakatsuji, N.: Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  stimulates proliferation of mouse primordial germ cells in culture. *Devel. Biol.*, **161**, 91-95, 1994.
- Kawase, E., Suemori, H., Takahashi, N., Okazaki, K., Hashimoto, K. and Nakatsuji, N.: Strain difference in establishment of mouse embryonic stem (ES) cell line. *Int. J. Devel. Biol.*, in press.
- Kitagawa, M., Okabe, T., Ogino, H., Matsumoto, H., Suzuki-Takahashi, I., Kokubo, T., Higashi, H., Saitoh, S., Taya, Y., Yasuda, H., Ohba, Y., Nishimura, S., Tanaka, N. and Okumura, A.: Butyrolactone I, a selective inhibitor of cdk2 and cdc2 kinase. *Oncogene*, **8**, 2425-2432, 1993.
- Kitami, H., Hara, H., Yamanaka, H. and Miyazaki, T.: Performance Evaluation for Parallel-Mixed Integer Programming System, Optimization Methods and Software, Gordon and Breach Science Publishers, 1993/12.
- Kitakami, H., Yamazaki, Y., Ikeo, K., Ugawa, Y., Shin-I, T., Saitou, N., Gojobori, T. and Tateno, Y.: Building and search system for a large-scale DNA database. *Proceeding of Mol. Bioinformatics, IEE 94 Collaqlun: London*, in press.
- Klein, J., Satta, Y., O'hUigin, C. and Takahata, N.: The molecular descent of the major histocompatibility complex. *Ann. Rev. Immunol.*, **11**, 269-295, 1993.

- Klein, J., Satta, Y., Takahata, N. and O'hUigin, C.: Trans-specific Mhc polymorphism and the origin of species. *J. Med. Primatol.*, **22**, 57-64, 1993.
- Klein, J., Takahata, N. and Ayala F. J.: Mhc polymorphism and human origins. *Sci. Am.*, **269**, 46-51, 1993.
- Kolb, A., Igarashi, K., Ishihama, A., Lavigne, M., Buckle, M. and Buc, H.: *E. coli* RNA polymerase, deleted in the C-terminal part of its  $\alpha$ -subunit, interacts differentially with the cAMP-CRP complex at the *lacP1* and the *galP1* promoter. *Nucleic Acids Res.*, **21**, 319-326, 1993.
- Kondo, R., Horai, S., Satta, Y. and Takahata, N.: Evolution of Hominoid mitochondrial DNA with special reference to the silent substitution rate over the genome. *J. Mol. Evol.*, **36**(6), 217-231, 1993.
- Kumar, A., Grimes, B., Fujita, N., Makino, K., Malloch, R. A., Hayward, R. S. and Ishihama, A.: Role of the sigma<sup>70</sup> subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase in transcription activation. *J. Mol. Biol.*, **235**, 405-413, 1994.
- Kumar, A., Malloch, R. A., Fujita, N., Smillie, D. A., Ishihama, A. and Hayward, R. S.: The minus 35-recognition region of *Escherichia coli* sigma 70 is inessential for initiation of transcription at an "extended minus 10". *J. Mol. Biol.*, **232**, 406-418, 1993.
- Kusubata, M., Matsuoka, Y., Tsujimura, K., Ito, H., Ando, M., Yasuda, H., Kamijo, M., Ohba, Y., Okumura, E., Kishimoto, T. and Inagaki, M.: Cdc2 kinase phosphorylation of desmin at three serine/threonine residues in the amino-terminal had domain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **190**, 927-934, 1993.
- Lawley, B., Fujita, N., Ishihama, A. and Pittard, A. J.: The TyrR protein of *Escherichia coli* is a class I transcription activator. *J. Bacteriol.*, in press.
- Lee, H.-S., Ishihama, A. and Kustu, S.: The C-terminus of the  $\alpha$ -subunit of RNA polymerase is not essential for transcription activation of  $\sigma^{54}$ -holoenzyme. *J. Bacteriol.*, **175**, 2479-2482, 1993.
- Li, F.-Q., Ueda, H. and Hirose, S.: Mediators for activation of *fushi tarazu* gene transcription by BmFTZ-F1. *Mol. Cell. Biol.*, in press.
- Luo, J., Fujita, N., Ishihama, A. and Krakow, J. S.: Molecular anatomy of the  $\beta'$  subunit of *E. coli* RNA polymerase: Identification of regions involved in assembly. *Biochemistry*, in press.
- Ma, D., Watanabe, H., Mermelstein, F., Admon, A., Ogura, K., Sun, X., Wada, T., Imai, T., Shiroya, T., Reinberg, D. and Handa, H.: Isolation of a cDNA encoding the largest subunit of TFIIA reveals functions similar to coactivators. *Genes Dev.*, **7**, 2246-2257, 1993.

- Masuda, Y., Tsuchimoto, S., Nishimura, A. and Ohtsubo, E.: Isolation of temperature sensitive aminoacyl-tRNA synthetase mutants from an *Escherichia coli* strain harboring the *pemK* plasmids. *Mol. Gen. genet.*, **238**, 169-176, 1993.
- Matsumoto, K., Saga, Y., Ikemura, T., Sakakura, T. and Chiquet-Ehrismann, R.: The distribution of tenascin-X is distinct and often reciprocal to that of tenascin. *C. J. Cell Biol.*, **125**, 483-493, 1994.
- Matsumoto, K., Saga, Y., Ikemura, T., Sakakura, T. and Chiquet-Ehrismann, R.: Mapping of the extracellular matrix protein tenascin-like gene in the S region of the H-2 complex in comparison to its human counterpart. HGM 93, in press.
- Miura, T., Fukunaga, T., Igarashi, T., Yamashita, M., Ido, E., Funahashi, S., Ishida, T., Washio, K., Ueda, S., Hashimoto, K., Yoshida, M., Osame, M., Singhai, B. S., Zaninoviz, V., Cartier, L., Sonoda, S., Tajima, K., Ina, Y., Gojobori, T. and Hayami, M.: Phylogenetic subtypes of human T-lymphotropic virus type 1 and their relations to the anthropological background. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, in press.
- Mizokami, M., Gojobori, T., and Lau, J. YN: Molecular evolutionary virology: Its application to HCV. *Gastroenterology*, in press.
- Mochizuki, K., Ohtsubo, H., Hirano, H.-Y., Sano, Y. and Ohtsubo, E.: Classification and relationships of rice strains with AA genome by identification of transposable elements at nine loci. *Jpn. J. Genet.*, **68**, 205-217 (1993).
- Mukumoto, F., Hirose, S., Imaseki, H. and Yamazaki, K.: DNA sequence requirement of a TATA element-binding protein from *Arabidopsis* for transcription *in vitro*. *Plant Mol. Biol.*, **23**, 995-1003, 1993.
- Murakami, A.: Growth phenomena in *Bombyx mori* (*L.*)—with a special reference to genetic factors responsible for growth acceleration and moultinism. *J. Indian Sericult.*, in press
- Murakami, A.: Ecogenetical studies on voltinism in the tropical mulberry silkworm, *Bombyx mori*. *Proceedings of the International congress on Tropical Sericulture Practices*, pp. 11-23
- Nagai, S., Yagihashi, T. and Ishihama, A.: DNA sequence analysis of an allelic variant of the *Actinobacillus pleuropneumoniae*-RTX-toxin (ApxIA) from serotype 10. *Microb. Pathogenesis*, **15**, 485-495, 1993
- Nagata, I., Kawana, A. and Nakatsuji, N.: Perpendicular contact guidance of CNS neuroblasts on artificial microstructures. *Development*, **117**, 401-408, 1993.

- Nagata, I. and Nakatsuji, N.: Migration behavior of granule cell neurons in cerebellar cultures. I. A PKH26 labeling study in microexplant and organotypic cultures. *Devel. Growth Differ.*, **36**, 19-27, 1994.
- Naito, M., Ishiguro, H., Fujisawa, T. and Kurosawa, Y.: Presence of eight distinct homeobox-containing genes in cnidarians. *FEBS Lett.*, **3**, 272-274, 1993.
- Nakamura, T., Ihara, T., Nunoya, T., Kuwahara, H., Ishihama, A. and Ueda, S.: Immunogenicity of glycoprotein II of pseudorabies virus. *Vet. Microbiol.*, **36**, 83-90, 1993.
- Nakashima, K., Sugiura, A., Kanamaru, K. and Mizuno, T.: Signal transduction between the two regulatory components involved in the regulation of the *kdpABC* operon in *Escherichia coli*: phosphorylation-dependent functioning of the positive regulator, KdpE. *Mol. Microbiol.*, **7**, 109-116, 1993.
- Nakashima, H., Sakai, M., Inaba, R. and Imamura, T.: Isolation and fluorescent *in situ* hybridization mapping of 60 cosmid clones on human chromosome 18. *Genomics*, **19**, 577-580, 1994.
- Nakashima, H., Sakai, M., Inaba, R. and Imamura, T.: Dinucleotide repeat polymorphism at the D18S336 locus. *Human Molecular Genetics*, **31**, 390, 1994.
- Nakayama, M., Yazaki, K., Kusano, A., Nagata, K., Hanai, N. and Ishihama, A.: Structure of mouse Mx1 protein: Molecular assembly and GTP-dependent conformational change. *J. Biol. Chem.*, **268**, 15033-15038, 1993.
- Nass, S. J., Olowson, M., Miyashita, N., Moriwaki, K., Balling, R. and Imai, K.: Mapping of the Mod-1 locus on mouse chromosome 9. *Mammalian Genome*, **4**, 333-337, 1993.
- Nei, M. and Takahata, N. Effective population size, nucleotide diversity, and coalescence time in subdivided populations. *J. Mol. Evol.*, **37**, 240-244, 1993.
- Nerurkar, V. R., Song, K.-J., Saitou, N., Mallan, R. R. and Yanagihara, R.: Interfamilial and intrafamilial genomic diversity of human T lymphotropic virus type I strains from Papua New Guinea and the Solomon Islands. *Virology*, **196**, 506-513, 1993.
- Nonaka, M., Matsuda, Y., Shiroishi, T., Moriwaki, K., Nonaka, M. and Natsume-Sakai, S.: Molecular cloning of the b subunit of mouse coagulation factor XIII and assignment of the gene to chromosome 1: Close evolutionary relationship to complement factor H. *Genomics*, **15**, 535-542, 1993.
- Ohta, T.: Amino acid substitution at the *Adh* locus of *Drosophila* is facilitated by small

- population size. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **90**, 4548-4551, 1993.
- Ohta, T.: Pattern of nucleotide substitutions in growth hormone-prolactin gene family: A paradigm for evolution by gene duplication. Genetics, **134**, 1271-1276, 1993.
- Ohta, T.: An examination of the generation-time effect on molecular evolution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **90**, 10676-10680, 1993.
- Ohta, T.: Interaction of selection and drift in molecular evolution. Jpn. J. Genet., **68**, 529-537, 1993.
- Omoto, K., Hirai, M., Jin, F., Misawa, S., Washio, K., Tokunaga, K., Yamazaki, K., Saitou, N., Du, C., Lu, B., Luo, Z., Zeng, X., Xu, J., Zhao, H., Zhang, Z., Wei, X., Niu, K., Hao, L. and Du, R.: Population genetic study in Hainan Island, China. I. Distribution of blood genetic markers. Anthropological Science, **101**, 1-24, 1993.
- Ono, K., Nakatsuji, N. and Nagata, I.: Migration behavior of granule cell neurons in cerebellar cultures. II. An electron microscopic study. Devel. Growth Differ., **36**, 29-38, 1994.
- Ross, W., Gosink, K. K., Salomon, J., Igarashi, K., Zou, C., Ishihama, A. and Gourse, R. L.: A third recognition element in prokaryotic promoters: Involvement of the  $\alpha$  subunit of RNA polymerase. Science, **262**, 1407-1413, 1993.
- Sakumi, K., Igarashi, K., Sekiguchi, M. and Ishihama, A.: The Ada protein is a member of class-I transcription factor of *Escherichia coli*. J. Bacteriol., **175**, 2455-2457, 1993.
- Sakurai, M., Sugano, M., Handa, H., Komai, T., Yagi, R., Nishigaki, T. and Yabe, Y.: Studies of HIV-1 protease inhibitors. I. Incorporation of a reduced peptide, simple aminoalcohol, and statine analog at the scissile site of substrate sequences. Chem. Pharm. Bull., **41**, 1369-1377, 1993.
- Sakurai, M., Higashida, S., Sugano, M., Nishi, T., Saito, F., Ohta, Y., Handa, H., Komai, T., Yagi, R., Nishigaki, T. and Yabe, Y.: Studies of HIV-1 protease inhibitors. II. Incorporation of four types of hydroxyethylene dipeptide isoesters at the scissile site of substrate sequences. Chem. Pharm. Bull., **41**, 1378-1386, 1993.
- Sakuta, R., Goto, Y., Horai, S. and Nonaka, I.: Mitochondrial DNA mutations at nucleotide positions 3243 and 3271 in mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: A comparative study. J. Neurol. Sci., **115**, 158-160, 1993.
- Sakuta, R., Goto, Y., Nonaka, I. and Horai, S.: An A-to-G transition at nucleotide pair 11084 in ND4 gene may be mitochondrial DNA polymorphism. Am. J.

- Hum. Genet., **53**, 964–965, 1993.
- Sano, Y.: Constraints in using wild relatives in breeding: Lack of basic knowledge on crop gene pools. In "Internat. Crop Sci. I", (Ed. D. R. Buxton), Crop Sci. Soc. Amer. Madison, WI. 437–443, 1993.
- Sano, Y.: Is an egg-killer present in rice? *Theor. Appl. Genet.*, **86**, 148–152, 1993.
- Satta, Y., O'hUigin, C., Takahata, N. and Klein, J.: The synonymous substitution rate at the major histocompatibility complex loci in primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 7480–7484, 1993.
- Sawada, J., Goto, M., Sawa, C., Watanabe, H. and Handa, H.: Transcriptional activation through the tetrameric complex formation of E4TF1 subunits. *EMBO J.*, in press.
- Shimizu, H. and Sugiyama, T.: Suppression of head regeneration by accelerated wound healing in hydra. *Develop. Biol.*, **160**, 504–511, 1993.
- Shinohara, A., Ogawa, H., Matsuda, Y., Ushio, N., Ikeo, K. and Ogawa, T.: Cloning of human, mouse and fission yeast recombination genes homologous to RAD51 and recA. *Nature Genetics*, **4**, 239–243, 1993.
- Shiroishi, T., Sagai, T. and Moriwaki, K.: Hotspots of meiotic recombination in the mouse major histocompatibility complex. *Genetica*, **88**, 187–196, 1993.
- Sugaya, K., Fukagawa, T., Ando, A., Inoko, H., Matsumoto, K. and Ikemura, T.: Three genes, receptor gene for AGE, homeobox-containing gene PBX, and int-3 related Notch-family genes found in the HLA class III region near the border to the class II on 6p21.3. HGM93, in press.
- Sugaya, K., Fukagawa, T., Matsumoto, K., Takahashi, E., Ando, A., Inoko, H. and Ikemura, T.: Three human MHC class III genes near the junction with the class II locus: gene for receptor of advanced glycosylation end products, PBX2 homeobox gene and a Notch-homolog, human counterpart of mouse mammary tumor gene int-3. *Genomics*, in press.
- Sumi, Y., Shiroya, T., Fujimoto, K., Wada, T., Handa, H. and Kawaguchi, H.: Application of cationic latex particles for protein purification. *Colloids and Surfaces*, in press.
- Sun, G.-C., Hirose, S. and Ueda, H.: Intermittent expression of BmFTZ-F1, a member of the nuclear hormone receptor superfamily during development of the silkworm *Bombyx mori*. *Dev. Biol.*, in press.
- Tabuchi, H., Handa, H. and Hirose, S.: Underwinding of DNA on binding of yeast TFIID to the TATA element. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **192**, 1432–1438, 1993.
- Tachida, H. and Iizuka, M.: A population genetic study of the evolution of SINES. I.

- Polymorphism with regard to the presence or absence of an element. *Genetics*, **133**, 1023–1030, 1993.
- Tachida, H.: Evolution of repeated sequences in non-coding regions of the genome. *Jpn. J. Genet.*, **68**, 549–565, 1993.
- Tajima, F.: Unbiased estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Mol. Biol. Evol.*, **10**, 677–688, 1993.
- Tajima, F.: Simple methods for testing the molecular evolutionary clock hypothesis. *Genetics*, **135**, 599–607, 1993.
- Tajima, F.: Statistical analysis of DNA polymorphism. *Jpn. J. Genet.*, **68**, 567–595, 1993.
- Takahashi, K., Hattori, T., Noji, S., Nohno, T., Saito, T., Fujita, N., Ishihama, A. and Taniguchi, S.: Repression of *in vitro* transcription of the *Escherichia coli* *fnr* and *narX* genes by FNR protein. *FEBS Lett.*, **340**, 59–64, 1994.
- Takahashi, M., Toriyama, S., Hamamatsu, C. and Ishihama, A.: Nucleotide sequence and possible ambisense coding strategy of rice stripe virus RNA segment 2. *J. Gen. Virol.*, **74**, 769–773, 1993.
- Tanaka, K., Fujita, N., Ishihama, A. and Takahashi, H.: Heterogeneity of the principal sigma factor in *Escherichia coli*: The *rpoS* gene product,  $\sigma^{33}$ , is a principal sigma factor of RNA polymerase in stationary phase *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 3511–3515, 1993.
- Takahata, N.: Allelic genealogy and human evolution. *Mol. Biol. Evol.*, **10**, 2–22, 1993.
- Takahata, N.: Introductory comments on major papers by Professor Motoo Kimura. *Jpn. J. Genet.*, **68**, 353–395, 1993.
- Takahata, N.: Relaxed natural selection in human populations during the Pleistocene. *Jpn. J. Genet.*, **68**, 539–547, 1993.
- Tao, K., Fujita, N. and Ishihama, A.: Involvement of the RNA polymerase  $\alpha$ -subunit C-terminal region in cooperative interaction and transcripton activation with OxyR protein. *Mol. Microbiol.*, **7**, 859–864, 1993.
- Tateno, Y., Takezaki, N. and Nei, M.: Relative efficiencies of the maximum likelihood, neighbor-joining, and maximum parsimony methods when substitution rate varies with site. *Mol. Biol. Evol.*, **11**, 261–277, 1994.
- Toyoda, T., Kobayashi, M. and Ishihama, A.: Replication *in vitro* of the influenza virus genome: Selective dissociation of RNA replicase from virus-infected cell ribonucleoprotein complexes. *Arch. Virol.*, in press.
- Wallin, J., Mizutani, Y., Imai, K., Miyashita, N., Moriwaki, K., Taniguchi, M., Koseki, H. and Balling, R.: A new pax gene, Pax-9, maps to mouse chromosome 12. *Mammalian Genome*, **4**, 354–358, 1993

- Watanabe, H., Sawada, J., Yano, K., Yamaguchi, K., Goto, M. and Handa, H.: cDNA cloning of transcription factor E4TF1 subunits with ETS and NOTCH motifs. *Mol. Cell. Biol.*, **13**, 1385-1391, 1993.
- West, D., Williams, R., Rhodius, V., Bell, A., Sharma, N., Zou, C., Ishihama, A. and Busby, S.: Interactions between the *Escherichia coli* cyclic AMP receptor protein and RNA polymerase at class II promoters. *Mol. Microbiol.*, **10**, 789-797, 1993.
- Yamagishi, M., Matsushima, H., Wada, A., Sakagami, M., Fujita, N. and Ishihama, A.: Regulation of the *Escherichia coli* *rmf* gene encoding ribosome modulation factor (RMF): Growth phase- and growth rate-dependent control. *EMBO J.*, **12**, 625-630, 1993.
- Yamao, F., Nagai, Y., Kaneda, S., Yoshida, S. and Seno, T.: Conditional resistance to thymineless death predominantly selects DNA synthesis-deficient mutants of mammalian cells. *Mutat. Res.*, **289**, 83-89, 1993.
- Yasuda, J., Toyoda, T., Nakayama, M. and Ishihama, A.: Regulatory effects of M protein variations on influenza virus growth. *Arch. Virol.*, **133**, 283-294, 1993.
- Yasuda, J., Nakada, S., Kato, A., Toyoda, T. and Ishihama, A.: Molecular assembly of influenza virus: Association of the NS2 protein with virion matrix. *Virology*, **196**, 249-255, 1993.
- 米澤勝衛: 植物遺伝資源系統に保有される遺伝子多様性の減少を最小に抑えるための世代更新方法. 京産大国土研紀要, **15**, 50-55, 1994.
- Yoshikawa, H., Nagai, H., Matsubara, K. and Fujiyama, A.: Two-Dimensional Gel Electrophoretograms of Human Chromosome Specific Restriction DNA Fragments. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **196**, 1566-1572, 1993.
- Yoshiki, A., Moriwaki, K., Sakakura, T. and Kusakabe, M.: Histological studies on male sterility of hybrids between laboratory and wild mouse strains. *Develop. Growth & Differ.*, **35**, 271-281, 1993.
- Yoshinaga, H., Ogino, T., Ohtahara, S., Sakuta, R., Nonaka, I. and Horai, S.: A T-to-G mutation at nucleotide pair 8993 in mitochondrial DNA in a patient with Leigh's syndrome. *J. Child Neurol.*, **8**, 129-133, 1993.
- Zou, C., Fujita, N. and Ishihama, A.: Assymmetric spacial arrangement of two alpha subunits within the *Escherichia coli* RNA polymerase. *J. Mol. Biol.*, **263**, 1283-1288, 1994.

### 3) その他

- 安藤晃彦, 森島啓子: ブラジルの野生イネ一日共同研究. 育種学雑誌, **43**, 473-475.

- Chen, W. B., Nakamura, I., Sato, Y. I. and Nakai, H.: Distribution of different chloroplast DNA types in *indica* and *japonica* rice. RGN, 9, 142-144, 1993.
- 檀上 稲穂, 藤山秋佐夫: Choroideremia 遺伝子は Geranylgeranyltransferase か. 実験医学, 11, 68-70, 1993.
- 永口 貢, 佐野 芳雄: 植物体の冠水応答. 化学と生物, 31, 602-608, 1993.
- 遠藤 俊徳, 五條堀 孝: 遺伝子と進化. からだの科学 173 号特別企画「遺伝子に学ぶ」, pp. 37-41.
- 藤沢 敏孝: ヒドラの形態形成初期過程の調節. 遺伝, 別冊 No. 6, 46-51, 1994.
- 藤山秋佐夫: ワークショップ「日本におけるヒトゲノム研究」に参加して. 蛋白質核酸酵素, Vol. 38, 83-85, 1993.
- 藤山秋佐夫: デュアルレーザー染色体ソーティングとその利用. 蛋白質核酸酵素, 38, 596-590, 1993.
- 藤山秋佐夫: 染色体のソーティング. 細胞工学, 12, 299-303, 1993.
- 五條堀 孝, 池尾一穂記: 定向進化をまねた分子進化学 (Gerald, F. Joyce 著). 日経サイエンス 2 月号, pp. 66-75.
- 五條堀 孝: 誌上講義: 最新進化論議第 1 回—第 6 回連載. セリオ, 4-10 月号.
- 五條堀 孝訳: ウイルスをとらえる新しい概念「準種」. 日経サイエンス 9 月号, 日経サイエンス社, pp. 66-78.
- 五條堀 孝: 情報科学を取り入れた生命科学の新しい展開—生命情報科学の将来—. 特別寄稿「生命科学の曲り角—500 号に寄せて」, 蛋白質・核酸・酵素, 38, No. 12, pp. 2070-2071.
- 五條堀 孝: 未来の進化を予測して迎撃できるか. 科学朝日 11 月号特集「ウイルス・ウォーズ」, 朝日新聞社, pp. 20-23.
- 五條堀 孝, 清水 恵美訳: 分子遺伝生態学. 南江堂 (印刷中).
- Greenstein, D., Wang, B., Plasterk, R., Andachi, Y., Kohara, Y. and Ruvkun, G.: Structure-function analysis of the *ceh-18* POU-domain in vivo using Tc1-generated deletions. The Worm Breeder's Gazette, 13, 56, 1993.
- Hamamatsu, C., Miyabayashi, T. and Morishima, H.: Variation in bacterial blight resistance within natural populations of wild rice and farmers' field. RGN, 9, 88-90, 1993.
- 林 茂生: ショウジョウバエの器官形成遺伝子. 実験医学, 11, 31-37, 1993.
- 林 茂生, 上田 均: ショウジョウバエ成虫発生における転写制御. 実験医学, 11, 127-135, 1993.
- Hirano, H.-Y.: Genetic variation and gene regulation at the *wx* locus of rice. Gamma-Field Symp., in press.
- 平野 博之: イネにおけるアミロースの合成とその遺伝的制御. 澱粉科学, 40, 195-201, 1993.

- 平野博之, 佐野芳雄: イネの *wx* 遺伝子座の機能と米の品質. 日本醸造協会誌, 88, 613-617, 1993.
- 広瀬進: DNA 超らせん化因子の構造と機能. 実験医学, 増刊, “染色体の分子細胞生物学” (柳田充弘ほか編), pp. 50-54, 羊土社, 1993.
- 広瀬進: 転写とその調節. 生体の科学, 特集, “現代医学・生物学の仮説・学説”, pp. 476-479, 医学書院, 1993.
- 宝来聰: ミトコンドリア DNA の分子遺伝学研究, 検査法の進歩. 日本臨床, 51(9), 42-47, 1993.
- 宝来聰: 縄文人の DNA は語る. 「原日本人, 弥生人と縄文人のナゾ」, 朝日新聞社, 129-143, 1993.
- 宝来聰: 遺伝学からみた日本人. モンゴロイド—地球を動く. 第6回「大学と科学」公開シンポジウム講演収録集, 78-91, 1993.
- 宝来聰: 遺伝子からみた日本人. シリーズ: 先史モンゴロイドを探る. 「学術月報」, 46(2), 45-51, 1993.
- 宝来聰: ミトコンドリア DNA からみた日本人. “ヒトの遺伝” 「生物の科学 遺伝」別冊5号, 137-147, 1993.
- 宝来聰, 近藤るみ: ミトコンドリア: その起源と遺伝子. 「臨床分子医学」, 1(2), 111-118, 1993.
- 池尾一穂, 五條堀孝: HIV と変異. 治療, 75, No. 6, pp. 91-94.
- 池尾一穂, 五條堀孝: 生命の進化と情報の増大. 週刊朝日百科「動物たちの地球」119号, 『秩序ある世界』, 朝日新聞社, pp. 302-303.
- 池村淑道: ヒト遺伝子の探求. 染色体構造と遺伝子塩基配列. 数理科学, 2, 66-72, 1993.
- 今村孝: 赤血球の分子生物学, サラセミアの遺伝子解析. 血液・腫瘍科, 28(1), 49-57, 1994.
- 石浜明: 第2回「アジア転写会議」. 蛋白質核酸酵素, 16, 1015-1016, 1993.
- 桂勲: 線虫 *C. elegans* の形態形成遺伝子. 実験医学, 11, 52-57, 1993.
- 北上始, 五條堀孝: DNA データベースシステム, 「遺伝子情報処理への挑戦 11」, bit, 25, No. 11, pp. 24-36.
- 北上始, 五條堀孝: 遺伝子情報処理への挑戦: DNA データベースシステム, bit 11月号, 共立出版, pp. 24-36, 1993/11.
- 北上始, 山崎由紀子, 鶴川義弘, 池尾一穂, 斎藤成也, 舘野義男, 五條堀孝: 関係データベースによる生物情報の構築と検索. JFCC 会誌 (印刷中).
- 近藤るみ, 宝来聰: ヒトミトコンドリア DNA の遺伝子配置と機能. 「日本臨床」, 51(9), 2-5, 1993.
- 小原雄治: 線虫 *C. elegans* のゲノム解析. 蛋白質核酸酵素, 38, 685-695, 1993.
- 小原雄治: *C. elegans* の遺伝子マップ. 実験医学, 11, 1562-1569, 1993.

- 小原 雄 治: 線虫 *C. elegans* の cDNA マップ. 実験医学, 11, 2759-2763, 1993.
- 森 脇 和 郎: マウスはヒトのモデルになれるか. メディコピア, 28, 34-48, 1993.
- 森 脇 和 郎: 野生遺伝子を導入した生物機能モデル. 1-1. なぜマウスか, なぜ野生か? Exp. Anim., 42, 276-279, 1993.
- 森 脇 和 郎: マウス遺伝生物学—歴史と発展—. 実験医学, 11, 108-115, 1993.
- 森 脇 和 郎: なぜマウスゲムノか? アニテックス, 6, 59-62, 1994.
- 村 上 昭 雄: 中国大陸から日本へのカイコの道. “日本分化研究 4”, pp. 166-182, 勉誠社, 1993.
- Nakamura, I.: A rice mutant showing accelerated internode overgrowth. RGN, 9, 61-62, 1993.
- 中 辻 憲 夫: 哺乳動物の性決定遺伝子. 遺伝, 47, 59-63, 1993.
- 中 辻 憲 夫: 哺乳類(マウス)の胚発生過程と遺伝子群. 蛋白質核酸酵素 臨時増刊号「形態形成に関わる遺伝子群」(編者: 西田育巧・桂 勲・中辻憲夫), 38, 2465-2479, 1993.
- 太 田 朋 子: 分子レベルの進化機構. 「日本の科学者」, 28, 19-24, 1993.
- 太 田 力, 広 瀬 進: DNA の超らせんによる転写制御. 細胞工学臨時増刊, “DNA の構造変換と機能発現” (安藤俊夫編), pp. 27-32, 秀潤社, 1993.
- 斎 藤 成 也: モンゴロイド諸集団の遺伝的近縁関係. 学術月報, 46, 31-36, 1993.
- 斎 藤 成 也: 遺伝子の個人差と種差. からだの科学, 173, 47-50, 1993.
- 斎 藤 成 也: 人類集団の系統復元—その緩慢な道のり, 別冊日経サイエンス「現代人はどこからきたか」(馬場悠男編), 81-87, 1993.
- Shao, Q., Yi, H. X., Liu, Y., Sano, Y. and Iyama, S.: Importance of molecular data for understanding of evolution of Asian rice (*Oryza sativa* L.). In: Selected papers on rice biotechnology. Edited by B. Wang and K. Yuan. Chinese Science and Technology Press. pp. 104-109, 1993.
- Shibagaki, Y. and Mizumoto, K.: Yeast mRNA Capping Enzyme: Active site localization and the effect of insertion mutations on the activity. *Kitasato Archiv. Exp. Med.*, in press.
- 白 吉 安 昭: 脊椎動物の神経系の発生. 蛋白質核酸酵素 臨時増刊号, 「形態形成に関わる遺伝子群」(編者: 西田育巧・桂 勲・中辻憲夫), 38, 2544-2557, 1993.
- 城 石 俊 彦: 遺伝的組換え研究におけるマウス実験系. 実験医学, 11, 116-121, 1993.
- 城 石 俊 彦: 部位特異的なマウス相同染色体間組換え. 実験医学, 11, 147-152, 1993.
- Songkran Chitrakon, Sato, Y. I., Morishima, H. and Shimamoto, Y.: Genetic erosion of rice in Thailand. RGN, 9, 73-75. 1993.
- Subramanya, G. and Murakami, A.: Climatic Differential Phenotypic Expression of Voltine Genes in *Bombyx mori* (L.) “Report of Central silk Board”, Ministry of Textiles, India, pp. 1-15, 1993.

- 高畑尚之: MHC 遺伝子の多様性が語る人類の起源. 日経サイエンス 2月号, 42-50, 1994.
- 富澤純一: 私の分子遺伝学(1). 遺伝, 47(6), 71-78, 1993.
- 富澤純一: 私の分子遺伝学(2). 遺伝, 47(7), 101-108, 1993.
- Tomizawa, J.: Evolution of functional RNA structures. Yakult International Symposium, Vol. 7, "RNA Structure and Function", 5-17, 1993.
- 富澤純一: 機能を持つ RNA 構造の出現. 1993 ヤクルト国際シンポジウム「RNA の構造と機能」, 61-73, 1993.
- 山口由美, 池尾一穂, 五條堀 孝: HIV の起源と進化. 「臨床医のための実験医学シリーズ12—エイズ研究の最先端」, 羊土社, pp. 19-28.
- 山崎由紀子, 五條堀 孝: 塩基配列データベース. 小児内科, 第25巻10号(印刷中).
- 吉野正康, 城石俊彦: YACDNA を用いたマウスゲノムへの遺伝子導入. 実験医学, 11, 2189-2191, 1993.

## B. 発表講演

- Andachi, Y. and Kohara, Y.: Tc1 insertional mutant bank of *C. elegans*. The 1993 Meeting on *C. elegans*, Madison, USA, June.
- 安達佳樹, 小原雄治: 線虫 *C. elegans* におけるトランスポゾン挿入を利用した遺伝子破壊法の開発. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 安藤麻子, 椎名 隆, 河田寿子, 菊池イア—ラ幸江, 辻 公美, 池村淑道, 猪子英俊: HLA-DP 抗原亜領域のセントロメア側に位置する新しい発現遺伝子群. 第23回日本免疫学会, 仙台, 11月.
- Ando, A., Shiina, T., Kawata, H., Kikuti, Y. Y., Geng, L., Tsuji, K., Ikemura, T. and Inoko, H.: Cloning of new expressed genes located at the centromeric end of the human major histocompatibility complex (MHC) region. Human Genome Mapping Workshop 93, Kobe, November.
- 安藤祥司, 辻村邦夫, 松岡洋一郎, 徳井俊也, 久永真市, 奥村英一, 内山雅司, 岸本健雄, 安田秀世, 稲垣昌樹: cdc2 キナーゼは基質のプロリン残基のN-置換構造を認識する. 第66回日本生化学会大会, 東京, 10月.
- 浅野 敏, 東谷篤志, 堀内賢介: 大腸菌繊維状フェージにおけるプラス鎖複製エンハンサーの作用機構の解析. 第16回日本分子生物学会年会, 千葉, 1993年12月.
- 浅野幸康, 水本清久, 丸山徳見, 石浜 明: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの機能地図: 8-azido GTP を用いたアフィニティーラベル. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Asano, Y., Nakayama, M., Toyoda, T. and Ishihama, A.: Self-assembly motif of Mx1 protein. The 9th Internatl. Cong. Virology, Glasgow, UK, August.

- 浅野 幸康, 豊田 哲也, 佐藤 智, 中山 学, 石浜 明: マウス Mx1 蛋白質の変異体を用いた機能解析. 第 41 回日本ウイルス学会総会, 札幌, 10 月.
- 網代 廣三, 西川 安廣, 安田 秀世, 辻 秀雄: B2 チロシンフォスファターゼ阻害剤を用いた染色体脱凝縮異常細胞 (tsTM13) の正常化と p34<sup>cdc2</sup> のリン酸化. 第 52 回日本癌学会総会, 仙台, 10 月.
- Azuma, Y., Kawagishi, M., Kimura, M., Yamagishi, M. and Ishihama, A.: Structure of RNA polymerase II from *Schizosaccharomyces pombe*: Purification and gene cloning. The 2nd Asian Conf. Transcription (ACT-II), Korea, January.
- 東 慶直, 木村 誠, 山岸 正裕, 石浜 明: 分裂酵母の RNA ポリメラーゼの精製とタンパク質遺伝子の単離. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- Danjo, I., Iha, H., Onozawa, T., Zhaojun, X. and Fujiyama, A.: The posttranslational modification of C-terminal amino acids of the ras super family proteins, International Congress of Amino Acids, Vienna, August.
- 永口 貢, 平野 博之, 佐野 芳雄, 森島 啓子: 深水耐性遺伝子 (*dw<sub>3</sub>*) による節間伸長と花芽誘導の変化. 日本育種学会, 松戸, 4 月.
- 永口 貢, 佐野 芳雄: イネ深水抵抗性遺伝子 (*dw<sub>3</sub>*) の発育遺伝-生育相変換との関連について. 日本育種学会, 札幌, 10 月.
- 遠藤 俊徳, 五條堀 孝: 染色体上の遺伝子の位置と進化速度の関係. 第 16 回日本分子生物学会年会, 日本コンベンションセンター (幕張メッセ), 12 月.
- 遠藤 俊徳, 池尾 一穂, 五條堀 孝: 同義及び非同義塩基置換の大量解析とその分子進化的意義. 第 65 回日本遺伝学会大会, 三島, 9 月.
- Fujisawa, T., Sugiyama, T., Hatta, M., Shimizu, H., Koizumi, O., Muneoka Y., Takahashi, T., deHaro, M., Bosch, T. and David, C. N.: Molecular mechanisms of hydra regeneration. II. An exhaustive screening of peptide signal molecules. The 33rd NIBB Conference, Okazaki, March.
- 藤沢 敏孝: ヒドラ神経由来の幹細胞因子の同定. 日本発生物学会第 26 回大会, 福岡, 5 月.
- 藤田 信之, 鄒 潮, Kumar, Ashok, 石浜 明: RNA ポリメラーゼと転写因子との分子間コミュニケーション. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- Fujisawa, T.: A nerve factor(s) required for survival and proliferation of interstitial stem cells in hydra. 5th International Workshop on Hydroid Development, Guenzburg, Germany, September.
- Fujiyama, A.: Human gene database for a personal computer with graphical interface. Genome Informatics Workshop IV, Yokohama, December.
- Fujiyama, A., Danjo, I. and Zhaojun, X.: Trial construction of human gene database

and sample templates interfacing with personal computer. HGM93, Kobe, November.

- 深川 竜郎, 菅谷公彦, 安藤麻子, 猪子英俊, 松本健一, 池村淑道: ヒトゲノム上に存在する巨大 GC 含量モザイク境界領域のクローニングと構造解析. 日本遺伝学会第 65 回大会, 三島, 9 月.
- 深川 竜郎, 菅谷公彦, 安藤麻子, 猪子英俊, 松本健一, 池村淑道: ヒトゲノム上に存在する巨大 GC 含量モザイク境界構造解析とその解析技術の開発. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 布施直之, 広瀬 進, 林 茂生: ショウジョウバエ *escargot* 遺伝子の機能解析. 第 1 回日本ショウジョウバエ研究会, 八王子, 7 月.
- 布施直之, 広瀬 進, 林 茂生: ショウジョウバエ *escargot* の成虫発生における役割. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 五條堀 孝: 遺伝情報からみた生物の進化. 鳥取大学医学部生命科学科特別講義, 鳥取大学医学部, 2 月.
- 五條堀 孝: 病原性ウイルスの分子進化と疫学への応用. 鳥取大学医学部生命科学科セミナー, 鳥取大学医学部, 2 月.
- 五條堀 孝: HLA 遺伝子の遺伝的多様性. 第 10 回近畿 HLA 研究会, 大阪ヒルトンホテル, 2 月.
- 五條堀 孝: ウイルス遺伝子の分子進化. 群馬大学医学部特別講義, 群馬大学医学部, 3 月.
- 五條堀 孝: 組織適合性遺伝子の遺伝的多様性. 群馬大学医学部モレキュラーメディスン研究会, 群馬大学医学部, 3 月.
- Gojobori, T.: "Human genetics variability at the MHC loci" Symposium from the double helix to the human genome; 40 year of molecular genetics, Paris, France, 4 月.
- 五條堀 孝: ヒトゲノム計画と分子進化工学. 東京電力エネルギー館科学ゼミナール, 東京渋谷電力館, 6 月.
- 五條堀 孝: 大量遺伝情報解析から期待されるもの. シンポジウム VI「ゲノム解析からの展望」, 日本遺伝学会第 65 回大会, 日本大学三島校舎, 9 月.
- 五條堀 孝: ウイルス遺伝子の進化. シンポジウム I「中立説の 25 周年」, 日本遺伝学会第 65 回大会, 日本大学三島校舎, 9 月.
- 五條堀 孝: 生命科学からの挑戦的課題に計算機科学はどう答えられるか—生命情報科学の発展と人工生命を目指す分子進化工学の現状—. サイエнтиフィック・システム研究会平成 5 年度応用システム関連分科会第 1 回会合, 遺伝研, 9 月.
- 五條堀 孝: DNA データベースの分子進化工学—並列コンピュータによる遺伝子情報解析を含めて—. 企業研究会 CAMM フォーラム 9 月例会, 東京学士会館, 9

月.

- Gojobori, T.: "Human genome diversity and database". 4th International HGD Workshop, Sardinia, Italy, 9月.
- Gojobori, T., Kawanishi, Y., Shiobara, T., Kawai, M., Naitou, K., Tanaka, Y., Tateno, Y. and Ikeo, K.: "The new method to extract a motif from the alignment database". Human Genome Mapping Workshop '93, Kobe, November.
- 五條堀 孝: 生物進化論—分子レベルからみた進化. 神戸大学理学部集中講義, 11月.
- 五條堀 孝: 分子生物学と生命情報学. 第13回医療情報学連合大会特別講演, 国立教育会館(東京), 11月.
- Gojobori, T.: "Molecular phylogeny of functional domains in serine protease and its inhibitors". The Royal Society, London, U.K., 12月.
- 五條堀 孝: ゲノム解析における生命情報科学の役割. 第16回日本分子生物学会年会, 日本コンベンションセンター(幕張メッセ), 12月.
- 五條堀 孝: ウイルスの進化について. 第168回総合医療開発研究会特別講座, ホテルキャッスルプラザ(名古屋), 12月.
- 五條堀 孝: 病原性ウイルスの進化. 神戸大学理学部セミナー, 12月.
- Hagiya, M., Suyama, A., Ito, T., Fujiyama, A., Oyama, A. and Takagi, T.: ContigMaker: a software for supporting contig mapping experiments, HGM93, Kobe, November.
- Hamamatsu, C., Barbier, P., Nakamura, I., Kyojuko, J., Toriyama, S., Shimamoto, K. and Ishihama, A.: Transcription and translation of the ambisense genome of rice stripe virus: Cell-free systems and protoplast infection. The 9th Internatl. Cong. Virology, Glasgow, UK, August.
- 原 弘志, 堀内賢介: 大腸菌のペニシリン結合蛋白質3の遺伝子 *ftsI* のプロモーター. 第16回日本分子生物学会年会, 千葉, 12月.
- 橋本光一郎, 三谷, 高橋伸子, 中尾治彦, 中辻憲夫, 松居靖久: ブタおよびウサギ始原生殖細胞の培養. 日本発生生物学会第26回大会, 福岡, 5月.
- Hayashi, S., Hirose, S., Metcalfe, T. and Shirras, A.: Control of imaginal cell development by the *escargot* gene of *Drosophila*. 34th Annual Drosophila Research Conference, San Diego, March-April.
- 林 茂生, 布施直之, 広瀬 進: ショウジョウバエ *escargot* 遺伝子による成虫発生の制御. 日本発生生物学会第26回大会, 福岡, 5月.
- 東谷篤志, 廣川秀夫, 浅野 敏, 堀内賢介: 複製開始反応における origin DNA の構造変化. 第9回ワークショップ「DNA複製とDNAダイナミクス」, 蒲郡, 10月.
- 東谷篤志, 廣川秀夫, 浅野 敏, 堀内賢介: 大腸菌繊維状ファージの複製開始蛋白が及ぼす Origin DNA の構造変化. 第16回日本分子生物学会年会, 千葉,

12月.

平野 博之: *wx* 座の量的発現とアミロース含量の制御. 農林交流センターシンポジウム「穀粒デンプン生合成の遺伝的制御」筑波, 3月.

平野 博之: イネ *wx* 座の遺伝的変異と発現調節. 第32回ガンマーフィールド・シンポジウム, 水戸, 7月.

Hirano, H.-Y., Kawakami, N. and Sano, Y.: The *du* loci that regulate the expression of the *Wx* gene in rice. XV International Botanical Congress, Yokohama, August–September.

平野 博之, 川上直人, 猿山晴夫, 菊池治巳, 佐野芳雄: イネ種子胚乳における低アミロースを引き起こす *du* 遺伝子座の機能. 日本育種学会第83回講演会, 東京, 4月.

平野 博之, 松村 健, 田林紀子, 谷田昌稔, 米田好文, 佐野芳雄: トランスジェニック植物におけるイネ *wx* 座遺伝子の組織特異的発現. 日本植物生理学会1993年度年会, 金沢, 3月.

Hirano, H.-Y. and Sano, Y.: Retrotransposition of a plant SINE into a single locus in rice evolution. The Second International Symposium of The Graduate University for Advanced Studies, Kawasaki, March.

平野 博之, 佐野芳雄: イネ *Wx* 遺伝子の量的発現制御. 日本遺伝学会第65回大会, 三島, 9月.

平野 博之, 田林紀子, 松村 健, 谷田昌稔, 米田好文, 松本美和子, 佐野芳雄: トランスジェニック・イネおよびペチュニアにおける *wx* 座遺伝子の発現. 日本育種学会第84回講演会, 札幌, 10月.

広瀬 健二, 広常真治, 佐々木宣哉, 井本広済, 杉野英彦, 岡崎康司, 奥泉久人, 芝田英生, 村松正實, 藤山秋佐夫, 林崎良英: RLGS法を用いた染色体特異的 YAC Contig map の作製法, 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.

広瀬 進: DNA スーパーコイル化因子のクローニングと発現. ワークショップ「DNAダイナミクス」, 岡崎, 3月.

広瀬 進: DNA 超らせん因子の機能. 第5回高遠・分子細胞生物学シンポジウム, 高遠, 8月.

広瀬 進: DNA の高次構造と転写調節. 第66回日本生化学会大会シンポジウム「転写調節機構」, 東京, 10月.

Hirose, S. and Tabuchi, H.: Underwinding of DNA on binding of TFIID to the TATA element. The Second Asian Conference on Transcription, Cheju Island, January.

Hirotsune, S., Okazaki, Y., Sugino, H., Shibata, H., Imoto, H., Sasaki, N., Hirose, K., Okuizumi, H., Muramatsu, M., Fujiyama, A., Brown, S., Chapman V. M.

and Hayashizaki, Y.: A novel method for constructing chromosome specific YAC contig using RLGS, HGM93, Kobe, November.

菱田竜一, 石原 健, 近藤和典, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* の *clr-1* 様表現型変異株の解析. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.

本多玲子, 安田秀世, 大場義樹: cdc2キナーゼ, cdk2の脱リン酸化, リン酸化による活性制御. 第52回日本癌学会総会, 仙台, 10月.

宝来 聰: アメリカンインディアンアジア起源説. 公開シンポジウム「先史モンゴロイド集団の拡散と適応戦略」, 東京, 1月.

Horai, S.: Prehistoric dispersal of humans: Implication of contemporary and ancient mitochondrial DNA sequences. The Second International Symposium of The Graduate University for Advanced Studies on "Current Views on the History of Organisms", Kanagawa, March.

宝来 聰: 人類遺伝学とPCR. 東京大学アイソトープセンター実験技術講習会「遺伝子操作の基礎—PCR法」, 東京, 3月.

宝来 聰: ミトコンドリアDNAからみたヒト上科の進化. 京都大学霊長類研究所共同利用研究会. 「第22回ホミニゼーション研究会」, 犬山, 3月.

Horai, S.: Mitochondrial DNA and human evolution. JSPS-NRCT Cooperation Program in Medical Genetics, Khon Kaen University, Thailand, July.

Horai, S.: Human genetic diversity revealed by sequence analysis of the D-loop region of mitochondrial DNA. Eijkman Institute Seminar, Jakarta, Indonesia, August.

Horai, S.: Hominoid phylogeny and human diversification. Symposium on "Human Genetic Diversity", the 17th International Congress of Genetics, Birmingham, U. K, August.

宝来 聰: ミトコンドリア遺伝病. 第3回遺伝医学セミナー, 湯沢, 9月.

宝来 聰: ミトコンドリアDNAからみた人類の拡散. シンポジウム「人類遺伝学の新しい潮流—分子遺伝学の立場から—」, 日本人類遺伝学会第38回大会, 東京, 10月.

宝来 聰: モンゴロイド 地球を動く. 関東地区教育研究所連盟研究協議会, 特別講演, 熱海, 11月.

宝来 聰: 遺伝子からみた日本人のルーツ. 第8回総合医療研究会記念講演会, 東京, 11月.

宝来 聰: DNAからみたヒトの進化と多様性. 第7回ゆらぎ現象研究会, 神奈川, 11月.

Horai, S.: Origin of *Homo sapiens* inferred from the age of the common ancestral mitochondrial DNA. International Institute for Advance Studies Workshop on "The origin and past of *Homo sapiens sapiens* as viewed from

DNA—Theoretical Approach”, Kyoto, December.

- Ikemura T.: Long-range G+C% mosaic structures 'isochores' of the human genome and a border of the structures. International Symposium on “Molecular Evolution and Bioinformatics”. Mishima, April.
- 池村淑道: 高等動物ゲノムの構造化とその進化的意味. 1993年度日本生物物理学会第31回年会, 名古屋, 10月.
- 池尾一穂, 高橋敬, 五條堀孝: クリングル構造の分子進化における役割. 第65回日本遺伝学会大会, 三島, 9月.
- 池尾一穂, 高橋敬, 五條堀孝: 神経成長因子レセプターにみられるクリングル構造の進化における役割. 第16回日本分子生物学会年会, 日本コンベンションセンター (幕張メッセ), 12月.
- 今村龍, 仁木宏典, 山中邦俊, 小椋光, 藤田信之, 石浜明, 平賀壮太: 新しい転写調節系; CRP-cAMP を不活化する Icc 蛋白. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Ishihama, A.: The molecular anatomy of RNA polymerase. Seoul Nat. Univ. Lecture, Seoul, Korea, January.
- Ishihama, A.: RNA polymerase-transcription factor contact site I. Workshop “RNA Polymerase: Structure and Dynamics”, Mishima, January.
- Ishihama, A.: Structure-function analysis of *E. coli* RNA polymerase. The 5th RNA Polymerase Workshop, Nottingham, UK, March.
- Ishihama, A.: Transcription activation by CAP. Mapping of contact sites on RNA polymerase. The 92nd ASM General Meeting, Seminar: Transcription Activation: Activator-RNA Polymerase Contacts. New Orleans, USA, May.
- Ishihama, A.: Mapping of the contact sites on RNA polymerase with class-I and class-II transcription factors. The 2nd FASEB Conf. on “Control of Transcription Initiation in Prokaryotes”, Saxton River, USA, July.
- Ishihama, A.: Protein-protein communication within transcription apparatus. Hebrew Univ. Hadassah Med. Sch. Lecture, Jerusalem, December.
- 石浜明: イネ縞葉枯ウイルスの転写と複製. 文部省科学研究費重点領域研究「RNA レプリコン」ワークショップ, 熱海, 12月.
- 石浜明: 転写におけるDNAの構造変化. 第16回日本分子生物学会年会シンポジウム, 幕張, 12月.
- Ishihama, A., Asano, Y., Nakayama, M., Toyoda, T., Yazaki, K. and Sato, S.: Structure and function of interferon-induced mouse Mx1 protein. Ann. Meet. Internatl. Soc. Interferon and Cytokine Res., Tokyo, October.
- Ishihama, A., Ding, Q., Yamagishi, M., Sakurai, H. and Fujita, N.: Modifications of

- transcriptional and translational apparatus in stationary-phase *Escherichia coli*. The 1st Adv. Workshop Eur. Sci. Found. "Stress-Induced Post-Translational Protein Modifications", Paris, France, December.
- Ishihama, A., Fujita, N., Sakurai, H., Ding, Q., Ozaki, M. and Yamagishi, M.: Modulation of RNA polymerase in stationary-phase *E. coli*. Internatl. Symp. Cell. Mol. Biol. on Phosphate and Phosphorylated Compounds in Microorganisms, Woods Hole, USA, September.
- Ishihama, A., Yamagishi, M., Fujita, N., Matsushima, H., Ozaki, M. and Sakurai, H.: Genetic program for starvation survival of *E. coli*: Transcriptional and translational control. The 2nd Asian Conf. Transcription (ACT-II), Korea, January.
- 石原 健, 桂 勲: プロモータートラップ法による線虫 *C. elegans* の神経特異的マーカーの作成. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Ishihara, T. and Katsura, I.: Construction of *lacZ* markers specific to the nervous system by promoter trapping. The 1993 Meeting on *C. elegans*, Madison, WI, U.S.A., June.
- 岩間美奈子, 瀬田香織, 水本清久: センダイウイルス (HVJ) の転写機構—宿主因子依存リーダ RNA の *In vitro* 生合成反応の解析—第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Iwama, M., Takagi, T., Seta, K., Mizumoto, K.: *In vitro* transcription of Sendai virus genome—Synthesis of leader RNA—IXth International Congress of Virology, Glasgow, August.
- 岩間美奈子, 瀬田香織, 高木敏光, 水本清久: センダイウイルス (HVJ) の転写機構—リーダ RNA の *in vitro* 生合成反応の解析—. 第41回日本ウイルス学会総会, 札幌, 10月.
- 岩間美奈子, 瀬田香織, 高木敏光, 水本清久: センダイウイルス (HVJ) の転写機構: リーダ RNA の *in vitro* 生合成とそれに必要な宿主因子. 第66回日本生化学会大会, 東京, 10月.
- 岩波 徹, 山尾文明, 瀬野悍二, 家城洋之: cDNA プローブを用いた温州萎縮ウイルスの検出. 日本植物病理学会大会, 奈良, 4月.
- 岩波 徹, 山尾文明, 瀬野悍二, 家城洋之: 温州萎縮ウイルスおよびその近縁ウイルスの核酸の性状の比較. 日本植物学会関東部会, 松戸, 9月.
- Jeong, W., Kang, C., Kobayashi, M. and Ishihama, A.: Transcription initiation site selection affected by base pair substitutions in *lacUV5* promoter. The 2nd Asian Conf. Transcription (ACT-II), Korea, January.
- 加畑博幸, 黒沢 修, 荒井一郎, 鷺津正夫, 嶋本伸雄: スライディングからみた DNA-タンパク質間相互作用. 日本生物物理学会, 名古屋, 9月.

- Kabata, H., Shimamoto, N., Kurosawa, O., Arai, I., Washizu, M., Margaron, M. A. and Glass, M.: Single molecule dynamics of RNA polymerase sliding along DNA., *Molecular Genetics of Bacteria & Phages*, Cold Spring Harbor, New York, U.S.A, 8月.
- 影山裕二, 広瀬進, 上田均: ショウジョウバエ *FTZ-FI* 遺伝子の構造解析. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Kajitani, M., Inokuchi, Y., Kato, A., Ueda, S. and Ishihama, A.: Host factor for phage Q $\beta$  replication. The 9th Internatl. Cong. Virology, Glasgow, UK, August.
- 梶谷正行, 井口義夫, 和田明, 石浜明: Q $\beta$  フェージ RNA レプリカーゼ宿主因子の機能解析. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 鎌倉勝彦, 永井宏樹, 嶋本伸雄, 佐藤孝雄, 森本幸生, 月原富武, 村上聡, 柏木賢一, 松本崇: 一本鎖DNA結合蛋白質の結晶構造解析. 日本生物物理学会, 名古屋, 9月.
- 金田澄子, 永井由貴子, 瀬野悍二, 山尾文明: 細胞複製期に機能するユビキチン結合酵素 E2 とその選択性. 第16回日本分子生物学会, 幕張, 12月.
- 金丸研吾, 柏木誠司, 水野猛: ラン藻 (*Synechococcus* PCC7942) がもつ2種類のカチオン輸送 P 型 ATPase の塩基配列決定と機能解析. 日本農芸化学会 1993 年度大会, 仙台, 4月.
- 金丸研吾, 柏木誠司, 水野猛: 単細胞性ラン藻 *Synechococcus* PC 7942 のもつ重金属輸送 P 型-ATPase の機能及び発現調節機構. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 桂 勲: *C. elegans* の新しいシグナル伝達因子の探索. 日本遺伝学会第65回大会, 三島, 9月.
- 桂 勲, 石原健, 鈴木教郎: 線虫 *C. elegans* の頭部神経系の遺伝学的解析. 日本生物物理学会第31回年会, 名古屋, 10月.
- Katsura, I., Kondo, K., Ishihara, T. and Hishida, R.: Larval lethal mutations having *clr-1*-like phenotype. The 1993 Meeting on *C. elegans*, Madison, WI, USA, June.
- 川岸万紀子, 山岸正裕, 石浜明: 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II のサブユニットの構造と機能: 第2サブユニット遺伝子とその発現産物の解析. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 川岸万紀子, 山岸正裕, 山本正幸, 石浜明: 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II のサブユニット 2 遺伝子の単離とその解析. 酵母遺伝学集談会, 広島, 7月.
- Kawagishi, M., Yamagishi, M., Yamamoto, M. and Ishihama, A.: Ribonuclease activity associated with the subunit 2 of *S. pombe* RNA polymerase II. Cold Spring Harbor Meet., Yeast Cell Biology, Cold Spring Harbor, USA, August.

- Kawakami, M., Ishihara, T. and Katsura, I.: Genetics and molecular cloning of fluoride-resistant genes. The 1993 Meeting on *C. elegans*, Madison, WI, USA, June.
- 川上 穰, 石原 健, 近藤和典, 天野寿一, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* の NaF 耐性と成長速度に関係する新しいプロテインキナーゼ. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 川瀬栄八郎, 白吉安昭, 橋本光一郎, 中辻憲夫: マウス始原生殖細胞の長期間培養への誠み. 日本動物学会第 64 回大会, 那覇, 11 月.
- 川瀬栄八郎, 山本博士, 橋本光一郎, 中辻憲夫: マウス始原生殖細胞に効果を示す新たな増殖因子. 日本発生生物学会第 26 回大会, 福岡, 5 月.
- Kawashima, T., Miyashita, N., Gotoh, H., Wu, S-L., Jin, M-L., Wang, F-S., Kryukov, A. P. and Moriwaki, K.: Hbb polymorphism and the distribution in Asian wild mice. 17th International Congress of Genetics, Birmingham, August.
- 木村 誠, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニットの機能地図: サブユニット集合に必要な部位の同定. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 木村直紀, 中川 恭, 豊田哲也, 石浜 明, 小田鈎一郎, 中田 進: インフルエンザウイルス NS1 タンパク質の機能解析. 第 41 回日本ウイルス学会総会, 札幌, 10 月.
- 杆淵 隆, 清水光弘, 松本 潮, 神藤平三郎, 永井宏樹, 嶋本伸雄: 大腸菌一本鎖 DNA 結合タンパク質 (SSB) の機能ドメイン解析. 日本分子生物学会, 幕張, 12 月.
- Kitakami, H.: Integration and Search System for a Large-scale DNA Database, International Symposium on Molecular Evolution and Bioinformatics, Mishima-Plaza Hotel, April.
- 北上 始: 分散環境における生物分類樹データベースの構築, 科学研費総合 (B) 研究集会, 京都大学, 12 月.
- 北上 始, 山崎由紀子, 鶴川義弘, 池尾一穂, 斎藤成也, 館野義男, 五條堀孝: DNA データベースの構築と検索, 情報処理学会全国大会, pp. 431-432, 3 月.
- 鬼頭 稲穂, 藤山秋佐夫: ras 蛋白質の局在化を制御する酵素群の解析. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 小林麻己人, 豊田哲也, 石浜 明: 組換えバキュロウイルス混合感染発現系を用いたインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分析. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- Kobayashi, M. and Ishihama, A.: Molecular anatomy of influenza virus RNA poly-

merase. The 9th Internatl. Cong. Virology, Glasgow, UK, August.

- 小林正友, 太田 力, 広瀬 進: ホスファチジルセリンによる超らせん導入活性の活性化. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 小原雄治: 線虫ゲノムとcDNAの総合解析. 日本遺伝学会第65回大会シンポジウム, 三島, 10月.
- 小原雄治: PCRを用いたcDNAクローンの全長シーケンシング. 第16回日本分子生物学会年会バイオテクノロジーセミナー, 幕張, 12月.
- Kohara, Y.: Genome analysis of the nematode *C. elegans*. International Symposium on Microorganism DNA, Makuhari, December.
- 小原雄治, 本橋智子, 西垣明子, 杉本章子, 満木広宣: 線虫cDNAの系統的解析. 第16回日本分子生物学会年会シンポジウム, 幕張, 12月.
- Kohara, Y., Mitsuki, H., Nishigaki, A., Motohashi, T. and Sugimoto, A.: Systematic analysis of *C. elegans* cDNA. The 1993 Meeting on *C. elegans*, Madison, USA, June.
- Kohara, Y., Mitsuki, H., Nishigaki, A., Motohashi, T., Sugimoto, A., Andachi, Y., Tabara, H. and Zeng, Q-T.: Systematic analysis of cDNA of the nematode *C. elegans*. Human Genome Workshop 93, Kobe, November.
- Kondo, R.: The synonymous substitution rate in the hominoid mitochondrial DNA. The Second International Symposium of The Graduate University for Advanced Studies on "Current Views on the History of Organisms", Kanagawa, March.
- 近藤るみ, 宝来 聡: ヒト上科の全ミトコンドリアDNAの解析. 日本遺伝学会第65回大会, 三島, 9月.
- Kondo, R., Horai, S., Satta, Y. and Takahata, N.: The synonymous substitution rate in hominoid mitochondrial DNA. The 17th International Congress of Genetics, Birmingham, UK, August.
- Kubori, T. and Shimamoto, N.: Physical interference between *E. coli* RNA polymerase molecules in tandem transcription spoils fidelity and enhances abortive synthesis. FASEB Summer Conference on Control of Transcription Initiation in Prokaryotes, Satons River, Vermont, USA, July.
- 久堀智子, 嶋本伸雄: Column Transcriptionによる新しい転写複合体の検出. 日本分子生物学会, 幕張, 12月.
- Kubori, T., Terada, H. and Shimamoto, N.: Effect of ATP on the early stage of transcription by prokaryotic RNA polymerases. The Second Asian Conference on Transcription, Cheju, Korea, January.
- Kumar, A., Grimes, B., Makino, K., Fujita, N., Malloch, R., Smillie, D., Wedgwood, S., Ishihama, A. and Hayward, R. S.: Structure/function studies of sigma

- subunits of *E. coli* RNA polymerase. The 2nd Asian Conf. Transcription (ACT-II), Korea, January.
- 黒 沢 修, 鷺 津 正 夫, 福 田 強, 嶋 本 伸 雄: 微細加工電極を用いた DNA の両端固定. 日本生物物理学会, 名古屋, 9 月.
- Lawley, B., Ishihama, A. and Pittard, A. J.: Tyr can act as a class-I transcription factor at the *tyrP* operator. The Australian Soc. Molec. Biol. Biochem. Meeting, Adelaide, Australia, July.
- 松 本 健 一, 相 賀 裕 美 子, 池 村 淑 道, 坂 倉 照 好, Ehrismann, R. C.: 生体内におけるテネイシン類似産物の存在様式. 日本遺伝学会第 65 回大会, 三島, 9 月.
- Matsumoto, K., Saga, Y., Ikemura, T., Sakakura, T. and Ehrismann, R. C.: Extracellular matrix protein tenascin-like gene found in the S region of the H-2 complex. The seventh international mouse genome conference, Hamanako, November.
- Matsumoto, K., Saga, Y., Ikemura, T., Sakakura, T. and Ehrismann, R. C.: Mapping of the extracellular matrix protein tenascin-like gene in the S region of the H-2 complex in comparison to its human counterpart. Human genome mapping workshop 93, Kobe, November.
- 松 本 健 一, 相 賀 裕 美 子, 池 村 淑 道, 坂 倉 照 好, Ehrismann, R.: テネイシン X の精製および生体内での存在様式. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 満 木 広 宣, 小 原 雄 治: PCR と oligo-directed nested deletion 法を組み合わせた cDNA クローンの全長シーケンシング法の開発. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 宮 林 登 志 江, 森 島 啓 子: イネ白葉枯病抵抗性の変異研究. I. 抵抗性遺伝子の分布パターン. 日本育種学会第 83 回講演会, 東京, 4 月.
- 宮 内 慎, 井 上 源 文, 大 場 義 樹, 安 田 秀 世, 村 上 康 文: cdk2 の 5' 上流配列の転写活性化領域. 第 16 回日本分子生物学会年会, 東京, 12 月.
- Mizumoto, K., Takagi, T. and Iwama, M.: Isolation and Characterization of transcription initiation complex of Sendai virus. IXth International Congress of Virology, Glasgow, August.
- 水 野 健 一, 嵯 峨 井 知 子, 城 石 俊 彦, 森 脇 和 郎: マウス減数分裂期における相長的組換え高発部位とクロマチン高次構造. 日本遺伝学会第 65 回大会, 三島, 9 月.
- 水 野 健 一, 嵯 峨 井 知 子, 城 石 俊 彦, 森 脇 和 郎: マウス減数分裂期における相長的組換え高発部位とクロマチン高次構造. 第 8 回遺伝的組換えとその制御ワークショップ, 函南, 9 月.
- 水 野 健 一, 嵯 峨 井 知 子, 城 石 俊 彦, 森 脇 和 郎: マウス減数分裂期における相長的組換え高発部位とクロマチン高次構造. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張,

12月.

- 森 治 禎, 清 淵 潔, 竹本経緯子, 藤田信之, 石浜 明, 井口八郎, 福田龍二, 三木健良, 水野 猛, 牧野耕三, 山本義弘: 大腸菌染色体0~6分領域の構造. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Morishima, H.: Polymorphism of bacterial blight resistance in the populations of wild and cultivated rice: A lesson from natural-ecosystems. 7th Intern. Congr. SABRAO, Taipei, November.
- 森 島 啓 子: アジアの野生稻: その変異と栽培化. 日中学術研究会, 佐賀, 7月.
- 森 島 啓 子: コメ問題を通して見た世界. 現代世界と文化の会, 京都, 10月.
- 森 島 啓 子, 宮林登志江: イネ白葉枯病抵抗性の変異研究. II. 野生イネ抵抗性遺伝子の微細地理的分布. 日本育種学会第83回講演会, 東京, 4月.
- 森 島 啓 子, 宮林登志江: 耐病性遺伝子の集団内多型とその維持機構. 日本遺伝学会第65回大会, 三島, 9月.
- 森 島 啓 子, 島本義也, 大原 雅, Martins, P. S., Ando, A., Oliveira, G. C. X.: アマゾン野生イネーその変異と適応. 日本育種学会第84回講演会, 札幌, 10月.
- 森 脇 和 郎: 「マウスはヒトのモデルになれるか?」第13回メディコピア教育講演シンポジウム, 東京, 1月.
- 森 脇 和 郎: 実験医学におけるマウスの位置. 愛知がんセンター研究所特別講演, 名古屋, 4月.
- 森 脇 和 郎: 実験動物科学の基礎としての遺伝学. 実験動物学会 LAS 委員会. 学術会議実験動物学研連共催シンポジウム, 東京, 平成5年5月21日
- 森脇和郎: 「野生マウスは役に立つ」. 第7回GIBCO-BRL シンポジウム, 箱根湯元, 7月.
- Moriwaki, K.: Genetic differentiation and geographical distribution of mouse subspecies groups and their relevance to Peruvian mice. Workshop on "Spontaneous chromosome damage in Peruvian mice" at 17th International Congress of Genetics, Birmingham, August.
- 森 脇 和 郎: 「遺伝子でヒトとマウスを結ぶ」. 山梨医科大学動物実験施設記念講演会, 甲府, 10月.
- Moriwaki, K.: Gene mapping based on inters-subspecific (domesticus/molossinus) backcross. 7th International Mouse Genome Conference Hamamatsu, November.
- Moriwaki, K.: "Genetic status of Japanese wild mice". Vanderbilt University School of Medicine, Department of Biology Seminar, Nashville, November.
- Moriwaki, K.: Cooperative researches in East Asia on the geographical survey of genetic variations in the house mouse and their use in biological research. Japan/Korea Joint Seminar for Collaborative Researches on Biological Sciences, Sendai, December.

- 村田武英, 広瀬進, 上田均: FTZ-F1の発現時期および生体内機能. 第26回日本発生生物学会, 福岡, 5月.
- 村田武英, 広瀬進, 上田均: 時期特異的に発現するFTZ-F1の機能解析. 日本ショウジョウバエ研究会第1回研究集会, 八王寺, 7月.
- 村田武英, 広瀬進, 上田均: ショウジョウバエFTZ-F1の強制発現による生体への影響. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 永井宏樹, 鎌田勝彦, 嶋本伸雄: 大腸菌一本鎖DNA結合タンパク質(SSB)の構造と機能. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 永井由貴子, 金田澄子, 瀬野悍二, 山尾文明: ユビキチン活性化酵素のリン酸化による細胞周期の制御. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 中川 恭, 豊田哲也, 石浜 明, 水本清久, 小田鈎一郎, 中田 進: インフルエンザウイルスPB2はゲノムの複製に不要である. 第41回日本ウイルス学会総会, 札幌, 10月.
- 中島 衡, 今村 孝: 18番染色体遺伝子ライブラリーの作成とマッピング. 人類遺伝学会第38回大会, 東京, 10月.
- Nakashima, H., Sakai, M., Inaba, R. and Imamura, T.: Mapping of 50 cosmids isolated from a human chromosome 18 library by fluorescent in situ hybridization. Seventeenth International Congress of Genetics, Birmingham, UK, August.
- 中辻憲夫, 永田 功: マウス胎仔の培養大脳皮質で観察されたニューロブラストの直交性オリエンテーション. 日本発生生物学会第26回大会, 福岡, 5月.
- 西村昭子, 鶴飼英樹, 上山清子, 色部麗子: 大腸菌の細胞分裂の遺伝的調節機構. シンポジウム「細胞分裂の分子機構」大阪, 9月.
- Ohba, K., Mizokami, M., Ina, Y., Ohno, T., Suzuki, K., Orito, E. and Gojobori, T.: "adv of IIBsAG were divided into 3 genotypes of the nucleotide sequences of the S region". 1993 International symposium on viral hepatitis and liver disease, Tokyo, May.
- 大羽玲子, 広瀬進: 活性クロマチンドメインの *in vitro* 再編成の試み. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Ohta, T.: Testing the nearly neutral theory by DNA sequence analysis. Int. Symp. on Mol. Evol. and Bioinformatics. Mishima, April.
- 太田朋子: 遺伝子研究を通してみた進化の機構. 4th NTTサイエンスフォーラム, 経団連ホール, 4月.
- 太田朋子: 分子進化のほゞ中立理論. 第32回ガンマーフィールド・シンポジウム, 水戸, 7月.
- 太田朋子: 遺伝子進化機構の再考. 第65回日本遺伝学会大会, シンポジウム「中立説の25周年」, 三島, 9月.

- Ohta, T., Okada, K., Hayashi, S., Kobayashi, M. and Hirose, S.: Molecular cloning and analysis of DNA supercoiling factor reveal its ability to bind calcium. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology "DNA and Chromosomes", Cold Spring Harbor, June.
- Okada, K., Hayashi, S., Ohta, T. and Hirose, S.: Expression of DNA supercoiling factor in *Drosophila*. Workshop "Constitution of Chromosomes", Osaka, February.
- 岡田浩一, 太田力, 林茂生, 広瀬進: ショウジョウバエ超らせん化因子の構造と機能. 第1回日本ショウジョウバエ研究会, 八王子, 7月.
- 岡野栄之, 林茂生, 沢本和延, 吉川真悟, 岩崎雅之, 谷村禎一, 広瀬進, 安井正人, 御子柴克彦: 神経細胞の分化と軸索走行を制御する新しい液性因子をコードする *strawberry* 遺伝子座について. 第1回日本ショウジョウバエ研究会, 八王子, 7月.
- Okano, H., Hayashi, S., Tanimura, T., Sawamoto, K., Yoshikawa, S., Watanabe, J., Iwasaki, M., Hirose, S., Mikoshibe, K. and Motell, C.: The *Drosophila strawberry* locus encodes a putative secreted protein which regulates neural development. 34th Annual Drosophila Research Conference, San Diego, March-April.
- 岡崎康司, 広常真治, 杉野英彦, 芝田英生, 井本広済, 佐々木宣哉, 広瀬健二, 奥泉久人, 村松正實, 藤山秋佐夫, 林崎良英: ソーイングされたヒト染色体を用いた RLGS 画像上でのスポットマッピング. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 小野勝彦, 永田功, 中辻憲夫: 小脳顆粒細胞の直交性コンタクトガイダンスによる移動と細胞内骨格系. 日本発生物学会第26回大会, 福岡, 5月.
- 李豊備, 上田均, 広瀬進: メディエーターを介した FTZ-F1 と TBP の相互作用. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Sadaie, Y.: *Bacillus subtilis secA* promoters. 7th Internatl. Conf. on *Bacillus*, Inst. Pasteur, France, July.
- 定家義人: 枯草菌 *secA* 遺伝子プロモーター. 日本遺伝学会第65回大会, 三島, 9月.
- 定家義人: 枯草菌 *secA* 遺伝子プロモーター. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 嵯峨井知子, 中辻憲夫, 城石俊彦, 森脇和郎: B10. H-2 コンジュニク系統由来 ES 細胞株の生殖系への移行. 日本遺伝学会第65回大会, 三島, 9月.
- 嵯峨井知子, 中辻憲夫, 城石俊彦, 森脇和郎: MHC 領域における高頻度相同組換え機構解析のための胚性幹 (ES) 細胞株の樹立. 第8回遺伝的組換えとその制御ワークショップ, 函南, 9月.
- 嵯峨井知子, 中辻憲夫, 城石俊彦, 森脇和郎: MHC 領域における高頻度相同組換え

- え機構解析のための胚性幹 (ES) 細胞株の樹立. 第 16 回分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 斎藤成也: 遺伝子頻度データベースの開発とそれに基づく集団近縁図の作成. 公開シンポジウム「先史モンゴロイド集団の拡散と適応戦略」, 東京, 1 月.
- 斎藤成也: 霊長類の進化系統樹を基礎にした新しいデータ解析への展望. 京都大学霊長類研究所共同利用研究会「第 22 回ホミニゼーション研究会」, 大山, 3 月.
- Saitou, N.: Evolution of ABO blood group genes. International Symposium on Molecular Evolution and Bioinformatics, Mishima, April.
- Saitou, N.: Evolutionary rate of insertions and deletions in nucleotide sequences of primate noncoding region DNA. NIH informal seminar, Frederick, June.
- 斎藤成也: 系統樹. 岐阜大学医学部微生物分類セミナー, 岐阜, 7 月.
- 斎藤成也, 尾本恵市, 杜 伝 書, 杜 若 甫: 海南島集団を中心とする東アジア・東南アジア人類集団の遺伝的近縁関係. 第 47 回日本人類学会民族学会連合大会, 新座, 10 月.
- 斎藤成也, 植田信太郎: 欠失・挿入による塩基配列の分子進化. 日本遺伝学会第 65 回大会, 三島, 9 月.
- 斎藤成也, 山本文一郎: ABO 血液型関連遺伝子の進化. 第 38 回日本人類遺伝学会大会, 東京, 10 月.
- 斎藤成也, 山本文一郎, 植田信太郎: ABO 血液型関連遺伝子の進化. 第 66 回日本生化学会大会, 東京, 10 月.
- 佐野芳雄: 発育形質の遺伝的制御をめぐる問題点. 日本育種学会, 松戸, 4 月.
- 佐野芳雄: イネ雑種不稔遺伝子  $S_5$  と  $S_6$  は存在するか? 日本育種学会, 松戸, 4 月.
- 佐野芳雄: イネの発育遺伝. 農水省農生研シンポ, つくば, 6 月.
- 佐野芳雄: イネにおける細胞質・核遺伝子相互作用で新たに誘発される雑種不稔遺伝子. 日本遺伝学会, 三島, 9 月.
- 佐野芳雄: イネにおける交雑不親和性遺伝子 ( $Lcr_1(t)$ ) を抑制する因子. 日本育種学会, 札幌, 10 月.
- Sano, Y., Eiguchi, M. and Hirano, H.-Y.: A rapid change in fertility as caused by the nucleo-cytoplasmic interaction in rice. Internatl. Cong. Genet., Birmingham, August.
- 佐藤孝雄, 村上 聡, 柏木賢一, 松本 崇, 森本幸生, 月原富武, 鎌田勝彦, 永井宏樹, 嶋本伸雄: 一本鎖 DNA 結合蛋白質の X 線結晶構造解析. 日本分子生物学会, 幕張, 12 月.
- Sato, Y. I.: Roles of evergreen forest trees and genetic diversity for sustainability of agroecosystems. 7th Intern. Congr. SABRAO, Taipei, November.
- 佐藤洋一郎, 中村郁郎, 野口由美子: 米国产長粒稲品種は *indica*? 日本育種学会第 84 回講演会, 札幌, 10 月.

- 佐藤洋一郎, 佐藤雅志, 森島啓子, 中村郁郎: メコン流域野生稻—*indica* と *japonica*—, 日本育種学会第83回講演会, 東京, 4月.
- 澤本和延, 谷村禎一, 小早川義尚, 林茂生, 岡野栄之, 御子柴克彦: strawberry 遺伝子産物による細胞分化・パターン形成の制御. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 瀬田香織, 岩間美奈子, 高木敏光, 水本清久: センダイウイルス(HVJ)の転写機構—HVJ感染および非感染HeLa細胞に存在する転写促進因子の比較—. 第41回日本ウイルス学会総会, 札幌, 10月.
- 瀬田香織, 岩間美奈子, 高木敏光, 水本清久: センダイウイルス(HVJ)の転写機構—HVJ感染細胞特異的因子の解析—. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- 瀬野悍二: 増殖必須遺伝子と組織特異的遺伝子の発現機構. 第46回日本細胞生物学会大会, 前橋, 10月.
- 瀬野悍二, Sudha, T., 金田澄子, 山尾文明: 細胞周期G2停止型マウス細胞ユビキチン活性化酵素変異株における核小体領域の染色体異常. 第52回日本癌学会総会, 仙台, 10月.
- 柴垣芳夫, 水本清久: 酵母mRNA キャッピング酵素の構造と機能: 挿入変異体の活性に及ぼす影響. 第66回日本生化学会大会, 東京, 10月.
- 柴垣芳夫, 水本清久: 酵母mRNA キャッピング酵素の構造と機能: 挿入変異体を用いた機能部位の解析. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Simamoto, N.: Visualization of single molecules of RNA polymerase sliding along DNA. FASEB Summer Conference on Control of Transcription Initiation in Prokaryotes, Satons River, Vermont, USA, July.
- Shimamoto, N., Kabata, H., Kurosawa, O. and Washizu, M.: Visualization of *E. coli* RNA polymerase and its motion on T7 DNA dielectrophoretically manipulated. The Second Asian Conference on Transcription, Cheju, Korea, January.
- 嶋本伸雄, 寺田博之: 新しい転写複合体, Moribund Complex: フェージ T3, T7 におけるなまけものの伸長複合体. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Shimizu, H.: Commitment of an i-cell to a particular type of nematocyte takes place earlier than the terminal cell cycle. 5th International Workshop on Hydroid Development. Gnenzburg, Germany, September.
- 城石俊彦: 染色体をつなぎかえる. 大学と科学シンポジウム, 大阪, 1月.
- 城石俊彦, 嵯峨井知子, 水野健一, 吉野正康, 森脇和郎: マウス MHC 遺伝子の進化と組換えのホットスポット. 第16回日本分子生物学会, 幕張, 12月.
- Shiroishi, T., Sagai, T. and Moriwaki, K.: Sexual difference of meiotic recombination

at the mouse MHC hotspot. Workshop on "Meiotic recombination and genetic interference" at 17th International Congress of Genetics, Birmingham, August.

城石俊彦, 嵯峨井知子, 森脇和郎: マウス第17染色体における雄特異的組換え抑制. 日本遺伝学会第65回大会, 三島, 10月.

Shiroishi, T., Sagai, T. and Moriwaki, K.: Sexual difference of meiotic recombination at the hotspot in the mouse major histocompatibility complex (MHC). The Seventh International Mouse Genome Conference, Hamamatsu, November.

孫冠誠, 広瀬進, 上田均: カイコの転写因子 BmFTZ-F1 の昆虫ホルモンによる発現誘導. 第26回日本発生生物学会, 福岡, 5月.

孫冠誠, 広瀬進, 上田均: ホルモンによる BmFTZ-F1 mRNA の発現調節. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.

スダ, T., 辻秀雄, 松田洋一, 金田澄子, 永井由貴子, 山尾文明, 瀬野悍二: 核小体解離のユビキチンストレスによる遺伝的制御. 第46回日本細胞生物学会, 前橋, 10月.

Sugaya, K., Fukagawa, T., Ando, A., Inoko, H., Matsumoto, K. and Ikemura, T.: Three genes (receptor gene for AGE, homeobox-containing gene PBX, and int-3 related Notch-family gene) found in the HLA class III region near the border to the class II on 6p21.3. Human Genome Mapping Workshop 93, Kobe, November.

菅谷公彦, 深川竜郎, 安藤麻子, 猪子英俊, 松本健一, 池村淑道: 新たに MHC 領域に見い出された遺伝子群 (Notch 様遺伝子, Homeobox 遺伝子, AGE に対するレセプター遺伝子). 日本遺伝学会第65回大会, 三島, 9月.

菅谷公彦, 深川竜郎, 安藤麻子, 猪子英俊, 松本健一, 池村淑道: ヒト MHC クラス III 領域に見いだしたマウス int-3 のヒトホモログ Notch 様遺伝子, Homeobox 遺伝子, AGE に対するレセプター遺伝子. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.

Sugino, H., Hirotsune, S., Okazaki, Y., Shibata, H., Imoto, H., Sasaki, N., Hirose, K., Okuizumi, H., Muramatsu, M., Fujiyama, O. and Hayashizaki, Y.: Spot mapping on restriction landmark genomic scanning profile using sorted chromosome DNA. HGM93, Kobe, November.

Suyama, A., Hagiya, M., Ito, T., Fujiyama, A., Oyama, A. and Takagi, T.: Contig Maker: software tool for contig map construction. Genome Informatics Workshop IV, Yokohama, December.

Tabara, H. and Kohara, Y.: Search for localized maternal mRNAs in early embryos of *C. elegans*. The 1993 Meeting on *C. elegans*, Madison, USA, June.

- 館田英典, 飯塚 勝: SINE 配列の進化についての集団遺伝学的研究. 第 65 回日本遺伝学会, 三島, 9 月.
- Tajima, F.: Simple methods for testing the molecular evolutionary clock hypothesis. Institute of Molecular Evolutionary Genetics Seminar, Pennsylvania State University, University Park, PA, U.S.A, June.
- 田嶋文生: DNA 多型の統計分析. 日本遺伝学会第 65 回大会, シンポジウム「中立説の 25 周年」, 三島, 9 月.
- 高木敏光, 瀬田香織, 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルス (HVJ) の転写機構—転写開始複合体形成に関する宿主因子—. 第 41 回日本ウイルス学会, 札幌, 10 月.
- 高木敏光, 瀬田香織, 岩間道子, 水本清久: センダイウイルス (HVJ) の転写機構—転写開始複合体形成反応の解析. 第 66 回日本生化学会大会, 東京, 10 月.
- Takahashi, K., Hattori, T., Nakanishi, T., Fujita, N., Ishihama, A. and Taniguchi, S.: Two FNR-binding sites related to repressive effect on *in vitro* transcription of *E. coli fnr* and *narX* genes. The 2nd Asian Conf. Transcription (ACT-II), Korea, January.
- 高畑尚之: 分子系統樹と種の系統樹の関係. ワークショップ「分子系統進化学の諸問題」, 東京, 1 月.
- Takahata, N.: Advantage and disadvantage in the vertebrate immune system. Molecular Evolution and Bioinformatics, Mishima, Japan, April.
- 高畑尚之: ミトコンドリア DNA, 自己・非自己識別分子・Mhc と人類の進化. 日本医科大学, 東京, 4 月.
- Takahata, N.: Conflict between Mhc-restricted self and nonself. Max-Planck-Institut für Biologie Abteilung Immyrogenetik, Seminar, Tübingen, Germany, May.
- Takahata, N.: Advantages and disadvantages in the vertebrate immune system. Evolution of the Major Histocompatibility Complex: Causes and Effects, Cambridge, UK, July.
- Takahata, N.: Genealogy, Evolutionary Mechanisms, and the History of Organisms. XV. International Botanical Congress, Yokohama, August.
- Takahata, N.: Polymorphism at Mhc loci and isolation by the immune system in vertebrates. Recent developments in population genetics, Toronto, Canada, August.
- 高畑尚之: 中立説発展の歴史. 日本遺伝学会第 65 回大会シンポジウム「中立説 25 周年」, 三島, 9 月.
- 高畑尚之: 分子人類学. 日本人類遺伝学会第 38 回大会シンポジウム「人類遺伝学の新

しい潮流—分子遺伝学の立場から—, 東京, 10月.

高畑尚之: 自己・非自己識別 Mhc と自然選択. 第23回日本免疫学会, 仙台, 11月.

高畑尚之: 生殖様式と有害突然変異の蓄積. 第32回ガンマーフィールドシンポジウム, 水戸, 11月.

Takahata, N.: Molecular Descent and Human Evolution. IIAS Workshop on The Origin and Past of *Homo sapiens* as Viewed from DNA—Theoretical Approaches. International Institute for Advanced Studies, Kyoto, December.

田中博, 任鳳蓉, 福田典夫, 北上始, 五條堀孝: MDL 帰納学習法による分子進化系統樹. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.

田中寛, 藤田信之, 石浜明, 高橋秀夫: 大腸菌増殖定常期における主要シグマ因子  $\sigma^{38}$  (*rpoS* 遺伝子産物) の特異性. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.

田中寛, 高柳裕子, 藤田信之, 石浜明, 高橋秀夫: 大腸菌 *rpoS* の RNA ポリメラーゼシグマ因子としての機能. 日本農芸化学会 1993 年度大会, 仙台, 3月.

Tanaka, K., Takayanagi, Y., Fujita, N., Ishihama, A. and Takahashi, H.: *In vitro* specificity of the *rpoS* gene product ( $\sigma^{32}$ ) of *Escherichia coli* as an RNA polymerase sigma factor. The 2nd FASEB Conf. on "Control of Transcription Initiation in Prokaryotes", Saxton River, USA, July.

陳文炳, 中村郁郎, 佐藤洋一郎, 中井弘和: *indica* は単一交配起源? 日本育種学会第83回講演会, 東京, 4月.

陳文炳, 佐藤洋一郎, 中村郁郎, 中井弘和: PCR 法による植物遺体の種の判定. 日本育種学会第84回講演会, 札幌, 10月.

Tomizawa, J.: Evolution of functional RNA structures. Yakult International Symposium "RNA Structure and Function", 東京, 5月.

Toyoda, T. and Ishihama, A.: *In vitro* replication of influenza virus RNA. The 9th Internatl. Cong. Virology, Glasgow, UK, August.

豊田哲也, 石浜明: インフルエンザウイルス感染 MDCK 細胞を用いた試験管内ゲノム複製系の確立と性状. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.

豊田哲也, 小林麻己人, 石浜明: インフルエンザウイルス転写・複製装置: 感染細胞 RNP とウイルス粒子 RNP の比較. 第41回日本ウイルス学会総会, 札幌, 10月.

豊田哲也, 中田進, 水本清久, 石浜明: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子解剖. I. サブユニットマッチング. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.

津久田寛子, 柴垣芳夫, 水本清久: 分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) の

- mRNA キャッピング酵素. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- Tateno, Y.: DNA Data Bank for Research in Major Histocompatibility Complex. Asia-Oceania Workshop on Major Histocompatibility Complex, Perth, April.
- Tateno, Y.: Activities of DNA Data Bank of Japan in the past year. Sixth International DNA Data Banks Collaborative Meeting, Bethesda, June.
- Tateno, Y.: DNA Data Bank and Evolution of Genes Taipei, October.
- Tateno, Y.: Current status of DNA Data Bank of Japan. Seventh International DNA Data Bank Advisory Meeting, Bethesda, March.
- 上田 均, 広瀬 進: FTZ-F1 による塩基配列の認識. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- Ueda, H., Sun, G.-C., Murata, T. and Hirose, S.: Developmental regulation of transcription factor FTZ-F1 in *Drosophila* and *Bombyx mori*., Taniguchi Symposium, Sapporo, February.
- 鶴飼 英樹, 西村 昭子: 細胞周期を制御する遺伝子. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- Wada, K., Wada, Y., Tanaka, S., Doi, H., Nakamura, Y., Sugaya, K., Fukagawa, T. and Ikemura, T.: A sensitive and efficient homology search method to find protein-coding regions using protein-coding region DNA database. Genome Informatics Workshop IV, Yokohama, November.
- 鷺津 正夫, 荒井 一郎, 阿保 克巳, 黒沢 修, 嶋本 伸雄: 表面修飾基盤への DNA の部分特異的固定. 日本生物物理学会, 名古屋, 9 月.
- 山口 由美, 五條 堀 孝: HIV の抗原部位の宿主内変化と系統進化の関係. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 山尾 文明, 永井由貴子, 金田 澄子, 瀬野 惇二: 細胞周期 S 期進行に必須のユビキチン経路. 第 46 回日本細胞生物学会大会, 前橋, 10 月.
- 安田 秀世, 大場 義樹: 細胞周期における cdk の発現と RB の磷酸化. 第 52 回日本癌学会総会, 仙台, 10 月.
- 安田 秀世, 大場 義樹, 畑 信 吾: ライス R-2 キナーゼは cdc2 キナーゼ活性化酸素 (CAK) である. 第 16 回日本分子生物学会年会, 幕張, 12 月.
- 米澤 勝衛: 植物改良における生物工学的手法の利用と研究課題. 第 4 回京都産学ジョイント・イベント, 京都, 9 月.
- 米澤 勝衛: 植物種保全の意義と研究課題. 第 6 回石川サイエンスフォーラム, 金沢, 11 月.
- Yonezawa, K., Ishii, T., Nomura, T. and Morishima, H.: Strategies for maintaining plant genetic resource entries with minimum loss of allelic diversity. 7 th Internatl. Congr. SABRAO, Taipei, November.

- 米澤勝衛, 野村哲郎: 構造化されているリザーブ系統群からのコア系統の抽出方法について. 日本育種学会第83回講演会, 東京, 4月.
- 米澤勝衛, 野村哲郎, 森島啓子: 植物の集団内に環境パターンを反映した遺伝構造を発達させる2,3条件について. 日本育種学会第84回講演会, 札幌, 10月.
- Yoshikawa, H., Fujiyama, A., Nagai, H., Saeki, R. and Matsubara, K.: Detection and mapping of chromosome specific restriction DNA fragments on a two-dimensional gel electrophoresis profile by the restriction landmark genomic scanning. HGM93, Kobe, November.
- 吉川浩英, 永井尚生, 佐伯理恵子, 松原謙一, 藤山秋佐夫: 染色体特異的NotI end-fragmentの2次元展開. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Yoshino, M., Sagai, T., Lindahl, K. F., Toyoda, Y., Shiroishi, T., Moriwaki, K.: No dosage effect of recombinational hotspots in the mouse MHC. 7th International Mouse Genome Conference Hamamatsu, November.
- 吉野正康, 嵯峨井知子, 城石俊彦, 森脇和郎, 豊田裕: ホットスポットでの組換え頻度と塩基配列の同一性. 第88回日本畜産学会大会, 藤沢, 3月.
- 吉野正康, 嵯峨井知子, 城石俊彦, 森脇和郎: マウスMHC領域内での組換えを促進する遺伝因子の量的効果. 第8回遺伝的組換えとその制御ワークショップ, 函南, 9月.
- 吉野正康, 嵯峨井知子, 城石俊彦, 森脇和郎: マウスMHC領域内での組換えを促進する遺伝因子の量的効果. II. 日本遺伝子学会第65回大会, 三島, 9月.
- 吉野正康, 嵯峨井知子, 城石俊彦, 森脇和郎: 哺乳動物における相同染色体間での組換え頻度と塩基配列の同一性の比較. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.
- Zou, C., Fujita, N., Igarashi, K., Kumar, A., Hayward, R. S. and Ishihama, A.: Transcription activation mechanisms: Response of *Escherichia coli* RNA Polymerase to cAMP receptor protein (CRP). Shanghai Inst. Biochem. Conf., Shanghai, August.
- Zou, C., Fujita, N., Kumar, A., Hayward, R. S. and Ishihama, A.: Mapping of two cAMP-receptor-protein contact sites on *Escherichia coli* RNA polymerase. The 2nd Asian Conf. Transcription (ACT-II), Korea, January.
- 郷 潮, 藤田信之, 加藤昭夫, 石浜明: 大腸菌CRPによるRNAポリメラーゼ活性化機構:  $\alpha$ サブユニットの一分子のみがcAMP-CRPに応答する. 第16回日本分子生物学会年会, 幕張, 12月.

## C. その他の研究活動

## 1) 海外における活動

氏 名	内 容	渡 航 先	期 間
石 浜 明	「アジア転写会議」出席、講演及び研究交流	大 韓 民 国	5. 1.12~ 5. 1.16
廣 瀬 進	「アジア転写会議」出席、講演及び研究交流並びに韓国蚕業試験場において講演及び研究交流	大 韓 民 国	5. 1.12~ 5. 1.18
嶋本伸雄	「アジア転写会議」出席、講演及び研究交流並びに韓国先端科学技術研究所において研究交流	大 韓 民 国	5. 1.12~ 5. 1.20
森山悦子	ショウジョウバエ核遺伝子の分子進化学的研究	アメリカ合衆国	5. 2. 7~ 6. 3.31
清水 裕	ヒドラ形態形成機構の細胞生物学的解析	アメリカ合衆国	5. 2. 8~ 5. 7.31
松本健一	細胞外マトリックス・テネイシン様産物の同定及び解析	スイス	5. 2. 8~ 5. 9.14
池尾一穂	DNA データバンクの運営・拡充に関する研究調査	アメリカ合衆国	5. 2.24~ 5. 3.10
杉山 勉	ヒドラの細胞接着分子の共同研究	アメリカ合衆国	5. 3. 1~ 5. 3.26
石 浜 明	「RNA ポリメラーゼの分子解剖」に関する国際共同研究	連 合 王 国	5. 3. 4~ 5. 3.12
山岸正裕	「RNA ポリメラーゼの分子解剖」に関する国際共同研究	連 合 王 国	5. 3. 6~ 5. 3.18
館野義男	1993年 CODATA 国際会議への出席	ド イ ツ	5. 3. 7~ 5. 3.16
五條堀 孝	大量遺伝情報解析における研究打合せ	オーストラリア	5. 3.17~ 5. 3.22
佐野芳雄	中国産野生イネの遺伝的分化に関する日中共同研究	中華人民共和国	5. 3.17~ 5. 3.20
高野敏行	キイロショウジョウバエを用いた分子集団遺伝学的研究	アメリカ合衆国	5. 3.25~ 6. 3.13
林 茂 生	ドロソフィラミーティングに参加、発表及びソーク研究所において研究連絡	アメリカ合衆国	5. 3.31~ 5. 4. 7
五條堀 孝	ユネスコ主催の国際シンポジウム「二重らせんからヒトゲノムまで：分子遺伝学の40年」に出席・招待講演	フ ラ ン ス	5. 4.19~ 5. 4.25
館野義男	第4回アジアオセアニア組織適合性委員会出席	オーストラリア	5. 4.21~ 5. 5. 1
森島啓子	アマゾンの植物資源に関する生態遺伝学的調査	ブ ラ ジ ル	5. 5.26~ 5. 6.17
桂 勲	第9回国際 C. elegans 学会出席・発表及びコロンビア大学等において研究連絡	アメリカ合衆国	5. 5.31~ 5. 6.10

氏 名	内 容	渡 航 先	期 間
石原 健	第9回国際 C. elegans 学会出席・発表及び ジョンズ・ホプキンス大学等において研究 連絡	アメリカ合衆国	5. 5. 31～ 5. 6. 12
安達佳樹	第9回国際 C. elegans 学会出席・発表及び N・I・H において研究連絡	アメリカ合衆国	5. 5. 31～ 5. 6. 11
田嶋文生	ペンシルバニア州立大学において分子集団 遺伝学及び分子進化に関する共同研究	アメリカ合衆国	5. 6. 1～ 5. 8. 2
後藤英夫	マウスの精子形成を制御する遺伝子に関する 分子遺伝学的研究	アメリカ合衆国	5. 6. 1～ 7. 5. 31
廣瀬 進	ワールドスプリングハーバーシンポジウム に出席・発表	アメリカ合衆国	5. 6. 2～ 5. 6. 11
小原雄治	国際線虫会議に出席・発表及び線虫ゲノム 計画に関する打合せ	アメリカ合衆国	5. 6. 2～ 5. 6. 9
五條堀 孝	第6回 DNA データバンク実務者国際会議 出席	アメリカ合衆国	5. 6. 9～ 5. 6. 14
齊藤成也	第6回 DNA データバンク実務者国際会議 出席	アメリカ合衆国	5. 6. 9～ 5. 6. 20
舘野義男	第6回 DNA データバンク実務者国際会議 出席	アメリカ合衆国	5. 6. 9～ 5. 6. 16
鶴川義弘	第6回 DNA データバンク実務者国際会議 出席	アメリカ合衆国	5. 6. 9～ 5. 6. 18
池尾一穂	第6回 DNA データバンク実務者国際会議 出席	アメリカ合衆国	5. 6. 9～ 5. 6. 18
瀬野悍二	FASEB 夏期会議「ユビキチンと蛋白質分解」 に出席及び研究発表並びにユタ大学等 において研究連絡	アメリカ合衆国	5. 6. 19～ 5. 7. 3
山尾文明	ユビキチンと蛋白質分解に関する学会出 席・発表及びエール大学等において研究連 絡	アメリカ合衆国	5. 6. 19～ 5. 7. 1
堀内賢介	フェージ増殖に関する共同研究	アメリカ合衆国	5. 7. 1～ 5. 7. 20
定家義人	第7回国際バシルス会議出席・発表及び パスツール研究所において研究連絡	フ ラ ン ス	5. 7. 15～ 5. 7. 28
嶋本伸雄	FASEB 会議「原核生物の転写開始制御」 出席・発表及び国立癌研究所等において転 写終結への SSB の関与のための打合せ	アメリカ合衆国	5. 7. 16～ 5. 8. 1
石浜 明	アメリカ実験生物学協会 (FASEB) 主催 「原核生物における転写開始制御」会議出 席・発表	アメリカ合衆国	5. 7. 21～ 5. 7. 31
實来 聰	共同学術研究「タイにおけるヒト遺伝学の 研究」及び「周産期医学特にヒト遺伝学に 関する研究」	タ イ ・ インドネシア	5. 7. 25～ 5. 8. 8
中辻憲夫	第12回国際発生生物学学会出席・発表	イ タ リ ア ・ オーストリア	5. 8. 5～ 5. 8. 14
豊田哲也	第9回国際ウイルス学会出席及びハー バード大学等で研究打合せ	連 合 王 国 ・ アメリカ合衆国	5. 8. 6～ 5. 8. 21

氏 名	内 容	渡 航 先	期 間
石 浜 明	日本学術振興会国際共同研究「RNA ポリメラーゼの分子解剖」	連 合 王 国	5. 8. 7~ 5. 8. 24
今 井 弘 民	ロンドン自然史博物館にてアリ類標本の分類同定及び第17回国際遺伝学会大会出席・発表	連 合 王 国	5. 8. 11~ 5. 8. 25
中 島 衡	第17回国際遺伝学会議に出席・発表	連 合 王 国	5. 8. 13~ 5. 8. 23
城 石 俊 彦	第17回国際遺伝学会議に出席・発表	連 合 王 国	5. 8. 13~ 5. 8. 24
森 協 和 郎	第17回国際遺伝学会議に出席・発表	連 合 王 国	5. 8. 14~ 5. 8. 24
寶 来 聰	第17回国際遺伝学会議に出席・発表	連 合 王 国	5. 8. 14~ 5. 8. 23
今 村 孝	第17回国際遺伝学会議に出席・発表	連 合 王 国	5. 8. 15~ 5. 8. 24
佐 野 芳 雄	第17回国際遺伝学会議に出席・発表	連 合 王 国	5. 8. 15~ 5. 8. 25
藤山秋佐夫	第3回アミノ酸、プベチドと誘導体に関する国際会議出席・発表及び研究連絡	オーストリア・ 連 合 王 国 ド イ ツ	5. 8. 22~ 5. 9. 5
五 條 堀 孝	「Human Genome Variation」に関する第4回国際ワークショップに出席・講演	イ タ リ ア	5. 9. 7~ 5. 9. 14
清 水 裕	カリフォルニア大学でヒドラの形態形成機構の共同研究及び第5回ヒドラ発生に関する国際ワークショップ出席・発表	アメリカ合衆国 ・ド イ ツ	5. 9. 17~ 5. 10. 8
杉 山 勉	ヒドラ発生における細胞接着分子の役割の共同研究	ド イ ツ	5. 9. 18~ 5. 10. 3
藤 沢 敏 孝	ヒドラ発生における細胞接着分子の役割の共同研究	ド イ ツ	5. 9. 18~ 5. 10. 6
服 田 昌 之	ヒドラ発生における細胞接着分子の役割の共同研究	ド イ ツ	5. 9. 18~ 5. 10. 3
五 條 堀 孝	生命情報科学に関する共同研究の打合せ	アメリカ合衆国	5. 9. 20~ 5. 9. 30
佐 野 芳 雄	中国産野生イネの遺伝的分化に関する日中共同研究	中 華 人 民 共 和 国	5. 10. 8~ 5. 10. 19
五 條 堀 孝	中国科学院中央研究院動物研究所においてDNA データベースに関する調査研究	台 湾	5. 10. 19~ 5. 10. 22
舘 野 義 男	中国科学院中央研究院動物研究所においてDNA データベースに関する調査研究	台 湾	5. 10. 19~ 5. 10. 22
佐 藤 洋 一 郎	第7回アジア大洋州育種学会及びWSAA国際シンポジウムに出席・講演	台 湾	5. 11. 15~ 5. 11. 21
森 協 和 郎	日米科学技術協力事業「実験動物科学」学術交流会議出席	アメリカ合衆国	5. 11. 15~ 5. 11. 26
森 島 啓 子	第7回アジア大洋州育種学会国際会議に出席及び研究発表	台 湾	5. 11. 15~ 5. 11. 21

氏 名	内 容	渡 航 先	期 間
佐藤洋一郎	熱帯アジアにおける稲遺伝資源の生態遺伝学的調査 (第4次)	タ イ ・ ラ オ ス	5.11.26～ 5.12.7
宮下信泉	中国産野生ハッカネズミ及びイネの遺伝的分化に関する日中共同研究	中華人民共和国	5.11.30～ 5.12.15
森脇和郎	中国産野生ハッカネズミ及びイネの遺伝的分化に関する日中共同研究	中華人民共和国	5.12.2～ 5.12.12
石浜 明	ヨーロッパ科学財団ワークショップ「ストレス誘導翻訳後蛋白修飾」における講演及び研究交流	フ ラ ン ス ・ イ ス ラ エ ル	5.12.3～ 5.12.12
五條堀 孝	「DNA 配列の数学的解析」に関する国際シンポジウム出席及び発表並びに研究連絡	連 合 王 国	5.12.7～ 5.12.14
舘野義男	欧州生物情報研究所 (EBI) において大量遺伝情報処理に関する研究打合せ	連 合 王 国	5.12.9～ 5.12.14
堀内賢介	ファージ複製に関する共同研究	アメリカ合衆国	5.12.27～ 6.1.5

2) ほかの機関における講義

氏 名	機 関 名	期 間	担 当 科 目
鶴川義弘	総合研究大学院大学	5.2.22～5.3.31	学術情報ネットワークに関する調査研究
石浜 明	東京大学応用微生物研究所	5.4.1～6.3.31	遺伝情報の転写制御機構に関する研究
堀内賢介	〃	〃	分子遺伝学に関する研究
今村 孝	浜松医科大学	5.4.1～6.3.31	人類遺伝学
今村 孝	東京医科歯科大学	5.4.1～6.3.31	人類遺伝学
中辻憲夫	浜松医科大学	5.4.1～6.3.31	生理学
中辻憲夫	東北大学理学部	5.4.1～6.3.31	発生・遺伝学特選科目 I 生物学特別講義 IIIA
桂 勲	東京大学教養学部	5.4.1～5.9.30	特殊講義 ix 相関理化学特論 VI
田嶋文生	九州大学理学部 (大学院理学研究科)	5.4.1～6.3.31	生物学特別講義 II
小原雄治	京都大学ウイルス研究所	5.4.1～6.3.31	ゲノム解析
嶋本伸雄	徳島大学工学部	5.4.1～6.3.31	生物学特別講義 I
定家義人	浜松医科大学	5.4.1～6.3.31	放射線医学
中辻憲夫	鳥取大学医学部	5.4.12～6.3.31	細胞工学
五條堀 孝	〃	〃	〃
森脇和郎	名古屋大学医学部	5.6.1～6.3.31	実験動物遺伝学
太田朋子	秋田大学教育学部	5.10.1～6.3.31	人類遺伝学

氏名	機関名	期間	担当科目
村上昭雄	東京農工大学農学部	5.10. 1~6. 3.31	家蚕発生学特論
斎藤成也	東京大学教養学部	5.10. 1~6. 3.31	システム科学特別講義 I
藤山秋佐夫	北海道大学薬学部	5.10. 1~6. 3.31	薬学概論
定家義人	東京大学医学部	5.10. 1~6. 3.31	遺伝病学 人類遺伝学実習
五條堀 孝	神戸大学理学部	5.10. 16~6. 3.31	生物進化論
石浜 明	お茶の水女子大学理学部	6. 1. 1~6. 3.31	生物化学特別講義

## VI. 共同研究事業

### A. 共同研究

- (1) 定常期大腸菌 RNA ポリメラーゼの主要シグマ因子  $\sigma^{38}$  (rpoS 遺伝子産物) の研究  
田中 寛 (東京大学), 増田 進 (同), 福田康広 (同), 林 邦彦 (同), 石浜 明 (遺伝研), 藤田信之 (同)
- (2) 単純ヘルペスウイルス I 型を用いたウイルスベクターの開発  
小山 一 (徳島大学), 五十嵐和彦 (東北大学), 石浜 明 (遺伝研)
- (3) ウイルス感染に伴う宿主細胞分子の修飾機構  
永田恭介 (東京工業大学), 石浜 明 (遺伝研)
- (4) 大腸菌の増殖段階移行に伴う RNA ポリメラーゼとリボソームの動態の研究  
和田 明 (京都大学), 石浜 明 (遺伝研), 藤田信之 (同), 山岸正裕 (同)
- (5) ポリアミンによる大腸菌遺伝子発現調節  
五十嵐一衛 (千葉大学), 柏木敬子 (同), 石浜 明 (遺伝研)
- (6) QB フェージ RNA 複製酵素宿主因子 (HF-1) の宿主細胞内機能の研究  
井口義夫 (帝京大学), 梶谷正行 (同), 石浜 明 (遺伝研)
- (7) プロテアソームとユビキチンによる細胞周期制御機構の研究  
田中啓二 (徳島大学), 田村具博 (同), 山尾文明 (遺伝研)
- (8) DNA 複製期細胞核微細構造形成に関与するタンパク質の研究  
矢倉達夫 (関西学院大学), 高須賀禎浩 (同), 浅田真一 (同), 山尾文明 (遺伝研), 瀬野悍二 (同)
- (9) 野生マウスを用いた補体系 H 因子遺伝子の gene introgression の解析  
坂井俊之助 (金沢大学), 原田良信 (放射線医学総合研究所), 森脇和郎 (遺伝研), 城石俊彦 (同), 宮下信泉 (同)
- (10) 中国産野生ハツカネズミ亜種における遺伝的分化および形態分類に関する研究  
土屋公幸 (宮崎医科大学), 森脇和郎 (遺伝研), 宮下信泉 (同)
- (11) アジア産ハツカネズミ野生集団における尿・唾液・涙液タンパク遺伝子の多型と分布  
松島芳文 (埼玉県立がんセンター), 森脇和郎 (遺伝研), 宮下信泉 (同)
- (12) 染色体進化とテロメア多重化に関する分子細胞遺伝学的研究  
平井啓久 (京都大学), 山本雅敏 (京都工芸繊維大学), 今井弘民 (遺伝研)
- (13) 減数分裂機構の分子遺伝学および細胞遺伝学的研究  
和田政保 (動物繁殖研究所), 松田洋一 (放射線医学総合研究所), 今井弘民 (遺伝研), 森脇和郎 (同)

- (14) 種分化の理論的・実験的研究  
渡辺隆夫 (京都工芸繊維大学), 高畑尚之 (総合研究大学院大学), 今井弘民 (遺伝研)
- (15) インスリン依存性糖尿病 (IDDM) の遺伝学的解析  
前田正人 (社会保険三島病院), 若菜茂晴 (実験動物中央研究所), 城石俊彦 (遺伝研), 森脇和郎 (同)
- (16) プラスミドの伝達複製の研究  
大坪栄一 (東京大学), 大坪久子 (同), 堀内賢介 (遺伝研), 東谷篤志 (同)
- (17) DNA・蛋白質結合領域に関する高次構造の視覚化  
廣川秀夫 (上智大学), 堀内賢介 (遺伝研), 東谷篤志 (同)
- (18) 大腸菌プラスミド, フェージの DNA 複製開始における宿主蛋白質の機能  
山口和男 (金沢大学), 杉浦重樹 (同), 大塚 学 (福井医科大学), 安田成一 (遺伝研), 堀内賢介 (同)
- (19) ヒドラの組織構築の走査型電子顕微鏡による解析  
岩永敏彦 (新潟大学), 岩永ひろみ (同), 村手源英 (同), 杉山 勉 (遺伝研), 藤沢敏孝 (同)
- (20) ヒドラ解離細胞再集合体を用いた体軸方向決定機構の研究  
前田美香 (理化学研究所), 田代英夫 (同), 内田理之, (同) 塚原保夫 (東北大学), 澤田康次 (同), 川島久佳 (同), 杉山 勉 (遺伝研)
- (21) ヒドラにおける位置依存的細胞分化機構の研究—上皮細胞と神経細胞の相互依存関係の解明—  
小早川義尚 (九州大学), 坂口雅彦 (同), 小泉 修 (福岡女子大学), 美濃部純子 (同), 杉山 勉 (遺伝研)
- (22) ヒドラの生理活性物質の単離と機能解析  
宗岡洋二郎 (広島大学), 高橋俊雄 (同), 藤沢敏孝 (遺伝研)
- (23) ヒドラの形態形成に関与する遺伝子の解析  
塩川光一郎 (東京大学), 大川 毅 (同), 藤沢敏孝 (遺伝研)
- (24) 無脊椎動物におけるホメオボックスを持つ遺伝子の分離と解析  
黒沢良和 (藤田保健衛生大学), 内藤守啓 (同), 清宮麻希子 (同) 藤沢敏孝 (遺伝研)
- (25) LEC ラットにおける肝炎・肝癌発症機構の解明  
寺田邦彦 (秋田大学), 廣瀬 進 (遺伝研)
- (26) フィブロインの H 鎖、L 鎖遺伝子の同調的発現機構の解析  
水野重樹 (東北大学), 原田昌彦 (同), 廣瀬 進 (遺伝研)
- (27) 動物種の成長様式についての遺伝学的および生理学的比較研究  
吉田高志 (国立予防衛生研究所), 後藤信男 (動物繁殖研究所), 海老原史樹文 (名古屋大学), 小林哲也 (埼玉大学), 高田啓介 (信州大学), 村上昭雄 (遺伝研)

- (28) 昆虫における老化指標の確立と寿命を規定する遺伝子の探索  
米村 勇(東京医科歯科大学), 本山十三生(麻布大学), 島田 順(東京農工大学)  
柳平担徳(信州大学), 村上昭雄(遺伝研)
- (29) 画像解析によるカイコの繭の測定とその品種分化に関する研究  
中田 徹(北海道大学), 村上昭雄(遺伝研)
- (30) 植物個体の遺伝子型分布図を解析するための統計的手法の研究  
宮下直彦(京都大学), 徳永 徹(久留米大学附属中学), 田嶋文生(遺伝研)
- (31) 染色体バンド構造と遺伝子塩基配列との関係の解析  
猪子英俊(東海大学), 安藤麻子(同), 中村保一(山梨県総合農業試験場), 田仲可  
昌(筑波大学), 皮 閩(同), 池村淑道(遺伝研), 松本健一(同)
- (32) 高等動物クロマチン構造と染色体 GC 含量分布との関係の解析  
三田和英(放射線医学総合研究所), 沼田幸子(同), 根井 充(同), 江藤一洋(東  
京医科歯科大学), 山下典子(同), 二宮洋一郎(同), 井関洋子(同), 泉 龍太郎  
(宇宙環境利用推進センター), 池村淑道(遺伝研), 松本健一(同)
- (33) 高等動物の S 期内 DNA 複製スイッチ部位の解析  
奥村克純(三重大学), 小平美江子(放射線影響研究所), 和田健之介(中京大学)  
金谷重彦(山形大学), 池村淑道(遺伝研), 松本健一(同)
- (34) 種の分化と遺伝子の分化に関する数理的解析  
植田信太郎(東京大学), 太田博樹(同), 斎藤成也(遺伝研), 五條堀 孝(同)
- (35) 造血幹細胞の増殖および単球系細胞への分化における遺伝子発現  
仁保善之(九州大学), 原田実根(同), 岡村精一(同), 中野修治(同), 大塚 毅  
(同) 今村 孝(遺伝研), 中島 衡(同)
- (36) 急性骨髄単球性白血病の遺伝子解析  
藤田 繁(愛媛大学), 柳澤浩介(同), 今村 孝(遺伝研), 中島 衡(同)
- (37) ソーティングによって分離した染色体の RLGS 法による解析  
松原謙一(大阪大学), 吉川浩英(同), 藤山秋佐夫(遺伝研)
- (38) マルチ DNA プローブ法によるゲノム DNA ライブラリーの整列  
陶山 明(東京大学), 藤山秋佐夫(遺伝研), 小原雄治(同)
- (39) オセアニアのヒト集団のミトコンドリア DNA の変異と他の遺伝特性との関連の解  
析  
大塚柳太郎(東京大学), 中澤 港(同), 小谷真吾(同), 大橋 順(東京大学),  
寶来 聡(遺伝研)
- (40) 過剰染色体症候群の発症に関する細胞ならびに分子遺伝学的解析  
中村康寛(聖マリア病院), 佐藤悦子(同), 中島 衡(遺伝研)
- (41) 高等植物におけるアルコール脱水素酵素の分子進化学的研究  
矢原徹一(東京大学), 森島啓子(遺伝研)
- (42) イネの花の発生過程の遺伝学的解析

- 長戸康郎 (東京大学), 三好正浩 (同), 松村英生 (同), 洪 淳寛 (同), 北野英巳 (愛知教育大学), 佐野芳雄 (遺伝研), 平野博之 (同)
- (43) 高等植物の waxy 座遺伝子と転移因子の分子遺伝学的解析  
野田和彦 (横浜市立大学), 川上直人 (同), 秋濱友也 (明治大学), 国枝素司 (同)  
佐野芳雄 (遺伝研), 平野博之 (同)
- (44) イネの分化と地理的分布に関する生態遺伝学的研究  
佐藤雅志 (東北大学), 島本義也 (北海道大学), 山岸 博 (京都産業大学), 佐藤洋一郎 (遺伝研), 森島啓子 (同)
- (45) 高等植物の発生・分化を調節する突然変異・遺伝子の研究  
米田好文 (東京大学), 後藤弘爾 (同), 塚谷裕一 (同), 内藤 哲 (北海道大学), 武田 穰 (名古屋大学), 平野博之 (遺伝研), 佐野芳雄 (同)
- (46) 中枢神経系ニューロンの移動に関する研究  
永田 功 (東京都神経科学総合研究所), 中辻憲夫 (遺伝研)
- (47) シトクロ P-450cam オペロン・リプレッサー (Cam リプレッサー) は DNA 上をスライドするか?  
荒牧弘憲 (第一薬科大学), 嶋本伸雄 (遺伝研)
- (48) 電気力学的分子マニピュレーションを用いた 1 分子ダイナミクスの研究  
鷺津正夫 (成蹊大学), 黒沢 修 (同), 荒井一郎 (同), 嶋本伸雄 (遺伝研)
- (49) 一本鎖 DNA 結合蛋白質 (SSB) および基質複合体の高分解能 X 線解析  
月原富武 (徳島大学), 森本幸生 (同), 佐藤孝雄 (同), 村上 聡 (同), 富崎孝司 (同), 藪内 剛 (同), 嶋本伸雄 (遺伝研)
- (50) 大腸菌一本鎖 DNA 結合タンパク質 (SSB) の機能ドメインの構造解析  
清水光弘 (東京薬科大学), 神藤平三郎 (同), 杵渕 隆 (同), 嶋本伸雄 (遺伝研)
- (51) ショウジョウバエ strawberry 遺伝子の機能解析  
岡野栄之 (東京大学), 岡部正隆 (同), 澤本和延 (同), 林 茂生 (遺伝研), 廣瀬進 (同)
- (52) チロシナーゼ遺伝子調節領域の系統解析と機能予測  
山本博章 (東北大学), 三浦裕仁 (同), 佐藤 滋 (同), 五條堀 孝 (遺伝研), 斎藤成也 (同), 池尾一穂 (同)
- (53) 新しい細胞外機能を担うプロテアーゼ遺伝子の分子進化的研究  
高橋 敬 (島根医科大学), 今西 規 (東京大学), 五條堀 孝 (遺伝研), 池尾一穂 (同)
- (54) 次世代の遺伝子データベースシステムの研究  
牧之内顕文 (九州大学), 有川正俊 (同), 鶴川義弘 (農業生物資源研究所), 五條堀 孝 (遺伝研)
- (55) Hp 遺伝子の近傍における高血圧遺伝子の探索  
小嶋俊一 (国立東静岡病院), 五條堀 孝 (遺伝研)

- (56) DNA データベースの生命情報科学的研究  
鶴川義弘 (農業生物資源研究所), 五條堀 孝 (遺伝研), 館野義男 (同)

## B. 研究会

- (1) 細胞増殖制御の分子機構 (平成 5 年 12 月 3 日~4 日)  
研究代表者 花岡文雄 (理化学研究所), 参加者 20 人
- (2) ユビキチン・システムと細胞周期 (平成 6 年 2 月 25 日~26 日)  
研究代表者 田中啓二 (徳島大学), 参加者 11 人
- (3) 哺乳類に特有な遺伝機構 (平成 6 年 1 月 13 日~14 日)  
研究代表者 高木伸夫 (北海道大学), 参加者 18 人
- (4) 染色体研究の現状と展望—新しい手法による動物・植物染色体研究の統合 (平成 6 年 1 月 5 日~6 日)  
研究代表者 中山繁樹 (農業生物資源研究所), 参加者 15 人
- (5) 日本産アリ類系統分類カラー画像データベース構築 (平成 5 年 6 月 19 日~20 日)  
研究代表者 今井弘民 (遺伝研), 参加者 11 人
- (6) ヒドラの発生生物学 (平成 5 年 11 月 25 日~26 日)  
研究代表者 小泉 修 (福岡女子大学), 参加者 20 人
- (7) 造血幹細胞増殖分化の機構の学際的研究 (平成 6 年 2 月 26 日)  
研究代表者 仁保喜之 (九州大学), 参加者 20 人
- (8) Evolutionary Dynamics in Cultivated and Wild Plants (平成 5 年 9 月 4 日~5 日)  
研究代表者 福田一郎 (東京女子大学), 参加者 17 人
- (9) 地球環境危機と遺伝育種学 (平成 5 年 12 月 20 日~21 日)  
研究代表者 中井弘和 (静岡大学), 参加者 19 人
- (10) 日本における主要作物の起源と伝播 (平成 6 年 1 月 13 日~14 日)  
研究代表者 小西猛朗 (九州大学), 参加者 15 人
- (11) 地球環境の変動と植物生態遺伝学 (平成 5 年 12 月 21 日~22 日)  
研究代表者 島本義也 (北海道大学), 参加者 20 人
- (12) 生命情報科学の視点からみた遺伝子の進化 (平成 6 年 3 月 17 日~18 日)  
研究代表者 五條堀 孝 (遺伝研), 参加者 20 人
- (13) 枯草菌の分子遺伝学と菌株及び DNA の系統保存に関する研究会 (平成 5 年 10 月 8 日~9 日)  
研究代表者 定家義人 (遺伝研), 参加者 20 人
- (14) 生殖系列細胞の発生機構と発生工学 (平成 5 年 12 月 6 日~7 日)  
研究代表者 中辻憲夫 (遺伝研), 参加者 12 人

### C. 民間等との共同研究

大量 DNA データの分子進化学的解析と遺伝子機能領域同定法の研究開発

五條堀 孝 (遺伝研), 池村淑道 (同), 館野義男 (同), 鶴川義弘 (同), 池尾一穂 (同),  
河合正人 (富士通), 川西祐一 (同)

大量遺伝情報処理の研究開発

五條堀 孝 (遺伝研), 館野義男 (同), 鶴川義弘 (同), 池尾一穂 (同), 小野越夫 (富  
士通研究所)

## VII. 研究材料・研究情報の収集と保存

### I. 研究材料の収集保存

#### A. イネ属系統 (*Oryza*) (植物保存研究室)

##### (1) 野生種および栽培種

昭和 32 年ロックフェラー財団の援助の下に開始された「栽培稲の起原の研究」以来、積極的に熱帯各国から収集を続け、野生種については世界最大の収集となっている。これらは遺伝資源として保存され変異の研究に利用されるが、その一部は多数の形質について遺伝特性が調査されている。

種 名	分 布	系統数
<b>栽培種</b>		
<i>O. sativa</i> L.	全世界	4,664
<i>O. glaberrima</i> STEUD.	西アフリカ	301
<b>栽培型近縁野生種</b>		
<i>O. perennis</i> MOENCH	全世界	619
<i>O. breviligulata</i> CHEV. et ROEHR.	西アフリカ	115
<b>遠縁野生種</b>		
<i>O. officinalis</i> WALL.	南アジア	95
<i>O. minuta</i> PRESL	"	36
<i>O. punctata</i> KOTSCHY	アフリカ	20
<i>O. eichingeri</i> PETER	東アフリカ	15
<i>O. latifolia</i> DESV.	中南米	27
<i>O. alta</i> SWALLEN	南 米	7
<i>O. grandiglumis</i> PROD.	"	7
<i>O. australiensis</i> DOMIN	北オーストラリア	8
<i>O. brachyantha</i> CHEV. et ROEHR.	西アフリカ	10
<i>O. ridleyi</i> HOOK.	南アジア	8
<i>O. longiglumis</i> JANSEN	ニューギニア	16
<i>O. meyeriana</i> BAILL.	南アジア	20
<i>O. tisseranti</i> CHEV.	西アフリカ	2
<i>O. perrieri</i> CAMUS	マダガスカル	1

##### (2) 同遺伝質系統

台中 65 号の遺伝背景をもち種々の特定遺伝子を含む 19 系統を保存している。これらは 7 回以上の戻し交雑のち選抜されたもので、含まれる遺伝子は次の通りである。標識遺伝子: *wx*, *Rc*, *lg*, *g*, *nl*, *bc*, *gl*, *la*, *Ph*, *d*<sub>1</sub> および *d*<sub>2</sub>, 早生遺伝子: *E*<sup>a</sup>, *E*<sup>b</sup> および *m*, および *F*<sub>1</sub> 不稔性に関する 4 遺伝子。

## B. コムギとその近縁種（植物保存研究室）

### (1) 野生および原始的栽培系統

京都大学の研究者により中近東その他世界各地から収集された多数の系統は京都大学植物生殖質研究施設に保存されているが、その中ゲノム構造などが確定され重要と考えられる 146 系統を本研究所に重複保存している。その内訳は次の通りである。

種名	ゲノム式	系統数
<b>Triticum 属</b>		
<i>T. aegiloides</i> BAL.	AA	3
<i>T. monococcum</i> L.	"	3
<i>T. urartu</i> THUMAN.	"	1
<i>T. dicoccoides</i> KÖRN.	AABB	3
<i>T. dicoccum</i> SCHÜL.	"	4
<i>T. durum</i> DESF.	"	4
<i>T. orientale</i> PERC.	"	1
<i>T. persicum</i> VAV.	"	3
<i>T. turgidum</i> L.	"	2
<i>T. pyramidale</i> PERC.	"	1
<i>T. polonicum</i> L.	"	1
<i>T. timopheevi</i> ZHUK.	AAGG	2
<i>T. araraticum</i> JAKUBZ.	"	1
<i>T. spelta</i> L.	AABBDD	3
<i>T. aestivum</i> L.	"	8
<i>T. compactum</i> HOST	"	4
<i>T. sphaerococcum</i> PERC.	"	1
<i>T. macha</i> DEK. et MEN.	"	1
Synthesized hexaploids	"	7
<b>Aegilops 属</b>		
<i>Ae. umbellulata</i> ZHUK.	C <sup>a</sup> C <sup>a</sup>	3
<i>Ae. ovata</i> L.	C <sup>a</sup> C <sup>a</sup> M <sup>o</sup> M <sup>o</sup>	6
<i>Ae. triaristata</i> WILLD	C <sup>a</sup> C <sup>a</sup> M <sup>i</sup> M <sup>i</sup>	7
<i>Ae. columnaris</i> ZHUK.	C <sup>a</sup> C <sup>a</sup> M <sup>c</sup> M <sup>c</sup>	2
<i>Ae. biuncialis</i> VIS.	C <sup>a</sup> C <sup>a</sup> M <sup>b</sup> M <sup>b</sup>	1
<i>Ae. variabilis</i> EIG	C <sup>a</sup> C <sup>a</sup> S <sup>b</sup> S <sup>b</sup>	7
<i>Ae. triuncialis</i> L.	C <sup>a</sup> C <sup>a</sup> CC	6
<i>Ae. caudata</i> L.	CC	1
<i>Ae. cylindrica</i> HOST	CCDD	3
<i>Ae. comosa</i> SIBTH. et SM.	MM	3
<i>Ae. uniaristata</i> VIS.	M <sup>a</sup> M <sup>a</sup>	3
<i>Ae. mutica</i> BOISS.	MtMt	1

<i>Ae. speltooides</i> TAUSH	SS	3
<i>Ae. iongissima</i> SCHW. et MUSCH.	S <sup>1</sup> S <sup>1</sup>	3
<i>Ae. bicornis</i> (Forsk.) JAUB. et SP.	S <sup>b</sup> S <sup>b</sup>	2
<i>Ae. squarrosa</i> L.	DD	7
<i>Ae. crassa</i> BOISS.	DDM <sup>cr</sup> M <sup>cr</sup>	2
<i>Ae. ventricosa</i> TAUSCH.	DDM <sup>v</sup> M <sup>v</sup>	6

この他に *Hordeum jubatum* L., *H. pussillum* NUTT., *H. murinum* L., *H. gussoneanum* PARL., *H. spontaneum* KOCH, *H. hexasticum* KOCH, *Secale cereale* L., および *Haynaldia villosa* SCHUR. に属する 30 系統を保存に加えている。

## (2) 二倍体コムギの突然変異系統

*T. monococcum* var. *flavescens* の 1 系統から放射線によって誘発された葉緑素異常および形態的変異体約 200 系統を保存している。その大部分は単純劣性遺伝子をもっている。

## C. アサガオ (*Pharbitis nil*)

アサガオ系統の収集保存は故竹中要博士によって創設間もなく始められ、昭和 41 年同博士の没後も引続き保存を継続してきている。現在保存中の系統数は 550 を越し、その中に含まれる主要な遺伝子は次の通りである。

花型遺伝子型: *fe* (獅子咲), *cp'* (台咲き), *cd* (捻梅咲), *py* (乱菊咲), *cs* (石畳咲), *wr* (縮咲), *s* (桔梗咲), *ct* (渦咲), *m* (立田咲), *pt* (八重咲), *dp* (牡丹咲), *p* (孔雀咲),

葉型遺伝子型: *co* (丸葉), *Gb* (芋葉), *dl* (笹葉), *m* (立田葉), *ac* (南天葉), *fe* (獅子葉), *ct* (渦葉), *B, b* (林風葉, (優性, 劣性)), *py* (乱菊葉), *sr* (鼻葉), *dg* (蜻蛉葉), *cp* (縮緬葉), *m'* (柳葉), *co<sup>h</sup>* (ヘデラセア葉), *p* (孔雀葉), *bv* (はだぬぎ), *ar* (錨), *re* (洲浜葉),

花模様遺伝子型: *Sa* (刷毛目紋), *sp* (吹掛紋), *Mr* (覆輪), *Bz* (吹雪), *Ry* (車紋), *su-Mr* (覆輪抑圧), *su-tu* (花筒色抑圧), *fd* (暈), *dt* (斑点花), *Ln* (立縷), *st* (条斑)。

その他の遺伝子型: *du* (木立), *dh* (矮状), *f* (帯化), *v* (斑入), *ca-cb* (白種子), *br* (褐色種子), *ca'* (象牙色種子), *y<sup>m</sup>* (松島), *cu* (夫婦咲き), *ue* (枝垂れ), *Cy* (黄色地), *su-Cy* (黄色地抑圧), *cm* (打込み), *pg* (小大), *re+dg+bv* (鯉葉), *re+dg+Gb* (戎葉), *sr+re+dg* (寿老葉), *co+re+dg* (寿老葉), *co+re+Gb* (葵葉), *re+dg+B* (雁葉)。

## D. サクラ (*Prunus* spp.)

サクラの品種は故竹中要博士が「染井吉野」の起原などの研究のため収集したものを中心に現在保存中の系統数は 250 余である。その内貴重なものは済州島産のヤマザクラ *P. yedoensis* Matsumura var. *undiflora* Koehne の他、自然変異株である船原吉野、鞍馬桜、八重大島、染井紅などをはじめ、人工交配によって選抜された天城吉野、伊豆吉野などがある。また木の花、気多の白菊桜、仙台屋、千原桜など園芸品種として貴重なものが多数含まれている。品種名は年報 29 号等に記載されているので省略する。

## E. 淡水ヒドラ (*Hydra*)

### A) 野生型

(1) *Hydra magnipapillata* (日本産チクビヒドラ) 29

- |                                            |           |
|--------------------------------------------|-----------|
| (2) <i>H. attenuata</i> (ヨーロッパ産)           | 2         |
| (3) <i>H. carnea</i> ( " )                 | 2         |
| (4) <i>H. viridis</i> ( " )                | 1         |
| (5) <i>Pelmatohydra robusta</i> (日本産エヒドラ)  | 4         |
| (6) 種不明 (オーストラリア産)                         | 1         |
| <b>B) 突然変異型 (<i>H. magnipapillata</i>)</b> | <b>36</b> |
- (1) Mini (mini-1, -2, -3, -4). Small body size with high budding rate.
  - (2) Maxi (maxi-1, -2). Large body size.
  - (3) L4. Large body size with low budding rate.
  - (4) Multi-head (mh-1, -2, -3). Secondary hypostomes are formed all along the body length (abnormal budding zone?).
  - (5) Twisted column (ts). Extended peduncle forms twisted column structure.
  - (6) Holotrichous isorhiza minus (nem-3, -10).
  - (7) Holotrichous isorhiza deformed (nem-1, -14, -15).
  - (8) Male sterile (ms-1, -2). Non-motile sperms.
  - (9) Female sterile (def 1-12, 1-13). Eggs not fertilized.
  - (10) Embryo lethal (def 1-14 (♂), 1-15 (♀)). Fertilized eggs produced between them do not hatch.
  - (11) Regeneration-deficient (reg-1, -9, -16, -19, def 2-3, 2-4).
  - (12) Non-feeding strain (ts) (nf-1). Produced by loss of interstitial cells by high temperature treatment (23°C) of parental strain sf-1.
  - (13) Non-feeding strain (nf-2, -3, -21). Produced by occasional spontaneous loss of interstitial cells from parental strains (sf-2, -3, -21).
  - (14) Non-feeding strain (nf-17). Normal in cell composition and can capture brine shrimp but can not inject.
  - (15) Body tentacles (nf-11). Tentacles move down from hypostome to body column during growth.
  - (16) Pinched budding zone (E4). Budding zone becomes very narrow in width when buds are formed.
  - (17) Supernumerary tentacles (E6). 10-13 tentacles per hypostome.
  - (18) Budding deficient (ts). Very low budding at 23°C.
- |                     |           |
|---------------------|-----------|
| <b>C) 細胞系譜キメラ系統</b> | <b>38</b> |
|---------------------|-----------|

## **F. ショウジョウバエ (*Drosophila*) (33種・1286系統・3集団)**

(詳しくは年報41号参照)

### **I. キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) 814系統, 3集団**

#### **A) 野生型系統 (205)**

- 1) 純系 (2)
- 2) 標準系統 (9)
- 3) 地理的系統 (18)

- 4) iso-female 系統 (176)
  - B) 突然変異系統 (609)**
    - 1) X 染色体 (199)
    - 2) 第 2 染色体 (42)
    - 3) 第 3 染色体 (41)
    - 4) 第 4 染色体 (3)
    - 5) 混合染色体 (324)
  - C) 実験集団 (3)**
- 2. オナジショウジョウバエ (*D. simulans*) 287 系統**
- A) 野生型系統 (191)**
    - 1) 純 系 (3)
    - 2) 地理的系統 (38)
    - 3) iso-female 系統 (150)
  - B) 突然変異系統 (96)**
    - 1) X 染色体 (40)
    - 2) 第 2 染色体 (18)
    - 3) 第 3 染色体 (18)
    - 4) 第 4 染色体 (1)
    - 5) 混合染色体 (19)
- 3. モーリヤスショウジョウバエ (*D. mauritiana*) 63 系統**
- A) 野生型系統 (57)**
    - 1) 純 系 (2)
    - 2) iso-female 系統 (55)
  - B) 突然変異系統 (6)**
- 4. セーシェルショウジョウバエ (*D. sechellia*) 17 系統**
- A) 野生型系統 (17)**
    - 1) 純 系 (2)
    - 2) iso-female 系統 (15)
- 5. 他種 (*Other species*) 29 種, 105 系統**
- G. コナマダラメイガ (*Ephestia kuniella* kügn)**
- NCR (wild)
  - b/b
  - ml/ml
  - a/a

## H. カイコ (*Bombyx mori* L.)

### 1. 標準型

#### 1) 基準系統 (蚕糸学会提案)

系統名	地域品種	化性	眠性	遺伝的特性
赤熟	日本	1	4	+ <sup>p</sup>
大草	日本	2	4	+ <sup>p</sup>
諸桂	中国	1	4	p
江浙	中国	2	4	p
欧16号(旧)	欧州	1	4	+ <sup>p</sup> (yellow coc.)
韓3眠	韓国	1	3	+ <sup>p</sup>
カンボージュ	東南ア	多	4	p (yellow coc.)

#### 2) 実験用の標準(野生)型系統

C-108	中国	2	4	p
C-108(旧)	中国	2	4	p
ZeC-108	中国	2	4	p 同上 Y染色体を Ze で標識
青熟	日本	2	4	+ <sup>p</sup>
Ze青熟	日本	2	4	+ <sup>p</sup> 同上 Y染色体を Ze で標識
金色	日本	2	4	p (yellow coc.)
J-106	日本	2	4	+ <sup>p</sup>
J-115	日本	2	4	+ <sup>p</sup>
日本錦	日本	2	4	+ <sup>p</sup>
小石丸	日本	2	4	+ <sup>p</sup>
C-145	中国	2	4	p
大造	中国	2	4	+ <sup>p</sup>
アスコリ	欧州	1	4	p: Ze (yellow coc.)
漢川	中国	1	4	p (yellow coc.)
浙江	中国	1	4	p
緋紅	中国	1	4	p (yellow coc.)
C-2	中国	1	4	p
C-4	中国	1	4	p
3眠白	中国	1	3	+ <sup>p</sup>
欧7号3眠	欧州	1	3	p
黄波	中国	1	3	p (yellow coc.)
沔陽	中国	1	3	p (yellow coc.)
朝陽	中国	1	3	+ <sup>p</sup>
濟陽	中国	1	3	+ <sup>p</sup>

長城	中国	1	3	+ <sup>p</sup> (green coc.)
山東3眼	中国	1	3	p
qrt-3眼	突然変異体		3	
X-875 (灰色卵)	"	(合成)		

3) カイコとクワコの雑種系統

<i>B. mori</i> × <i>B. mandarina</i>	日本 (北海道, 北大)
<i>B. mori</i> × <i>B. mandarina</i>	日本 (本州, つくば)

2. 突然変異系統

2.1 遺伝子突然変異 (1部染色体異常を含む)

1) 神経・内分泌に関するもの

遺伝子組成	遺伝的特性
<i>spli</i> (Soft and pliable)	
<i>pnd</i> ( <i>p</i> <sup>s</sup> / <i>+p</i> )	[環境条件に不感応]
<i>pnd</i> ( <i>re</i> ; <i>ch</i> )	[環境条件に不感応]
<i>npnd</i> (D) (7 lines 保持)	[環境条件に敏感に反応 (適応能強し)]
沢J	[臭覚・味覚・触覚が鈍感]

2) 成長速度または老化に関するもの

<i>Slg</i> (slow growing)
<i>sdi</i> (short duration of imaginal lifetime)
<i>pre</i> (Sex-linked precocious)

3) 形態形成に関するもの

<i>msA</i> (+ <sup>p</sup> ) (Akuzawa's multistars)
<i>E</i> <sup>KP</sup> (Supernumerary legs)

4) 卵形態・形成機能に関するもの

<i>elp</i> (ellipsoid egg)	
<i>Ge</i> ( <i>pe re</i> )/T (Y; 3) <i>Ze</i> (Giant egg)	
<i>sp</i> (Spindle egg)	
玉沢小卵	[Chromosome aberration]

5) 卵色に関するもの

<i>b</i> <sup>2</sup> (Brown egg-2)
<i>bw</i> <sup>3</sup> (Brown egg-3)
<i>w</i> <sup>1</sup> (White egg-1)
<i>w</i> <sup>1</sup> (大正白) (White egg-1)

$w^2$  原田 (White egg-2)

$w^2$  (ch) (White egg-2)

$w^3/T$  (Y; 2) +  $p$  (white egg-3)

$och$  (other) [Egg color of diapause eggs derived from non-diapause lines]

### 6) 幼虫体色・斑紋に関するもの

$L$  ( $lem$ ) (Multilunars with  $lem$ )

$rb$  ( $Ng$ ) (Red haemolymph)

$p^{Ss-1}$  (Y) (Sable marking pattern)

$so$  (Sooty)

### 7) 幼虫体形に関するもの

$nb$  (Narrow breast)

$st$  (Stony)

### 8) 致死突然変異

伴性劣性型〔性(X)染色体の生物的アプローチの素材〕

系統記号	座 位
1-s (m-2)	X-15.0
1-s (m-3)	X-16.4
1-s (m-4)	X- 7.8
1-s (m-5)	X-21.5
1-s (m-6)	X-23.5
1-s (m-7)	X-12.0
1-s (m-8)	X- 5.9 あるいは 37.1
1-s (m-9)	X-33.9
1-s (m-10)	X- 5.6 あるいは 37.4
1-s (m-11)	X-35.2
1-s (m-12)	X-13.0
1-s (m-13)	X- 1.6
1-s (m-14)	X-32.4
1-s (m-16)	X-28.2
1-s (m-18)	X-15.0 あるいは 28.0
1-s (m-19)	X- 2.8 あるいは 40.2
1-s (m-20)	X- 2.8 あるいは 34.6
1-s (m-21)	X- 8.4 あるいは 38.7
1-s (m-23)	X-47.8
1-s (m-24)	X-14.7 あるいは 28.3

(座位未検定ラインが 20 数系統有り)

9) 常染色体型

*pel* (White lethal egg)  
*lne* (Non-ecdycial lethal)

10) 放射線感受性

UV<sup>R</sup> [アスコリン由来]  
 UV<sup>R</sup>. X (γ)<sup>R</sup> [漢川由来]  
 UV<sup>R</sup>. X (γ)<sup>S</sup> [金色由来]  
 UV<sup>S</sup> [浙江由来]  
 UV<sup>R</sup> [緋紅由来]

11) 異常生殖 (発生)

*par*<sup>-</sup> [Reduction of parthenogenicity]  
*mo* (*pe*; *oc*) [Mosaics (double fertilization)]  
*mo* (*pe*; *ok*) [ " ]

12) 走光性 (幼虫期)

*pe ok* (Y)/T (Y; 3) *Ze* [正の走光性]  
*nb* [正の走光性]  
*pe re*/T (Y; 3) *Ze* [負の走光性]  
*st* [負の走光性]

13) その他

*bp* (Black pupa)  
*Ng* (*rb*) (No glue egg)  
 DNV-1 [ウイルス抵抗性]

2.2 染色体突然変異

1) 転座

T (Y; 2)

染色体講成	遺伝的特性
T (Y; 2) <i>p</i> <sup>M</sup>	[+ <i>p</i> ~ <i>p</i> <sup>M</sup> への自然突然変異; <i>p</i> -allele の不安定性顕著]
T (Y; 2)+ <i>p</i> · <i>p</i> <sup>Sa(1)</sup>	
T (Y; 2) <i>y</i>	
T (Y; 3)	
T (Y; 3) <i>Ze</i> ; Y Y; 3) <i>Ze</i>	[雄の致死性; Y 染色体の第3染色体への転座 (?)]

T (Y; 5)

T (Y; 5) +  $p_e$  (1) [第5染色体 +  $p_e$ 部分が T (Y; 3) Ze に転座した系統]T (Y; 5) +  $p_e$  (2)T (Y; 5) +  $p_e + o_k + o_c$ T (Y; 5) +  $p_e$  (～) [不安定転座]

T (Y; 10)

T (Y; 10) +  $w_2$  [Tazima's W-translocation]

T (X; 5)

T (X; 5) +  $p_e$  (1) [性染色体(X)と第5染色体の組換え実験から作製]T (X; 5) +  $p_e$  (2) "T (X; 5) +  $p_e$  (3) "T (X; 5) +  $p_e$  (4) "T (X; 5) +  $p_e$  (5) "T (X; 5) +  $p_e$  (6) "

T (X; Y)

T (X; Y) ±  $p_e$  (1) [*sch* と 転座 +  $p_e$  との距離は 4.2]T (X; Y) ±  $p_e$  (2) [ " 2.3]T (X; Y) ±  $p_e$  (3) [ " 8.3]T (X; Y) ±  $p_e$  (4) [ " 13.3]T (X; Y) ±  $p_e$  (5) [ " 0.6]T (X; Y) ±  $p_e$  (6) [ " 7.8]T (X; Y) ±  $p_e$  (7) [ " 9.6]T (X; Y) ±  $p_e$  (8) [ " 3.5]T (X; Y) ±  $p_e$  (9) [ " 0.5]T (X; Y) ±  $p_e$  (10) [ " 0.0]T (X; Y) ±  $p_e$  (11) [ " 5.3]T (X; Y) ±  $p_e$  (12) [ " 3.4]T (X; Y) ±  $p_e$  (13) [ " 2.2]T (X; Y) ±  $p_e$  (14) [ " 3.1]T (X; Y) ±  $p_e$  (15) [ " 8.3]T (X; Y) ±  $p_e$  (16) [ " 6.3]T (X; Y) ±  $p_e$  (17) [ " 6.6]T (X; Y) ±  $p_e$  (18) [ " 26.7]T (X; Y) ±  $p_e$  (19) [ " 0.0]T (X; Y) ±  $p_e$  (20) [ " 2.3]

T (5; Y)

T (5; Y) Ze (Y染色体に転座していた Ze 部分が第5染色体に転座した系統)

相互転座

recT (Y; 5)+pe; Ze (橋本 T (Y; 3) を基本に Y染色体と第5染色体間の典型的な相互転座系統)

二重転座

- T<sub>2</sub> ((T<sub>1</sub> (Y; 3) Ze); 5)+pe (1) [Y染色体に Ze と +pe との2重標識系統]
- T<sub>2</sub> ((T<sub>1</sub> (Y; 3) Ze); 5)+pe (2) [ " " ]
- T<sub>2</sub> ((T<sub>1</sub> (T; 3) Ze); 5)+pe (3) [ " " ]
- T<sub>2</sub> ((T<sub>1</sub> (Y; 2)+p·pSa); X)+<sup>od</sup> (4) [Y染色体に +p·p<sup>Sa</sup> と +pe との2重標識系統]

常染色体間転座

T (6; 14) E<sup>kp</sup> と U を所有

2) 重複

Dp (2)+p·p<sup>So</sup>+<sup>oal</sup>

3) トリソミー

+<sup>p</sup>/p<sup>M</sup>/p<sup>S</sup>

T (Y; 5) (Murakami's partial trisomy)

3. テスター系統

1) X (1) 染色体

遺伝子組成	遺伝的特徴
od (p)	[2重劣性]
sch (pe)	[2重劣性]
sch; od	[2重劣性]
os; e (pe)	[3重劣性]
os; e (pe)/T (Y; 3) Ze	[3重劣性]
os; e (re)/T (Y; 3) Ze	[3重劣性]
sch; od (pe)	[3重劣性]
sch; od (pe)/T (Y; 3) Ze	[3重劣性]
2) 第2染色体	
oal (p)	[2重劣性]
3) 第5染色体	

pe (宇田 pe) [単一劣性]

$re(p^+)$	(単一劣性)
$pe; ok$	(2重劣性)
$pe; ok/T(Y; 3) Ze$	(2重劣性)
$pe; ok(Y)$	(2重劣性)
$pe; re$	(2重劣性)
$re; re/T(Y; 3) Ze$	(2重劣性)
$re(ch)$	(2重劣性)
$re(p)$	(2重劣性)
$pe; ok; re$	(3重劣性)
$pe; re(ch)/T(Y; 3) Ze$	(3重劣性)
$pe; re; oc/T(Y; 3) Ze$	(3重劣性)
$pe; oc(lem)$	(3重劣性)
$pe; oc(sch)/T(Y; 5) +pe$	(3重劣性)
$ok; re(ch)$	(3重劣性)
$pe; re(w2; ch)/T(Y; 3) Ze$	(4重劣性)

#### 4) 発生(生殖)異常の検出系

---

$pe; re/T(Y; 2) p^{So} \cdot +p$	(2重劣性)
$w2; ch/T(Y; 2) p^{So} \cdot +p$	(2重劣性)
$p; w2; ch; mln; so$	(5重劣性)

#### 4. その他

##### 第5染色体に特異的な不安定系統

---

MV <sup>INSTA-1</sup>	(高モザイク・高組かえ型)
MV <sup>INSTA-2</sup>	(低モザイク型)
MV <sup>INSTA-3</sup>	(1型と2型の中間)

## I. ネズミ

昭和26年に北大理学部より吉田俊秀前細胞遺伝部長によって、ラットおよびマウス約10系統が移され、旧細胞遺伝部におけるネズミの系統保存がはじめられた。その後外国より輸入した系統や、海外学術調査で採集した野生ネズミが加わって、規模が大きくなった。昭和50年より遺伝実験生物保存研究施設が発足し、近交系マウス・ラット系統およびテラトーマ高発系マウス系統の維持が始まった。昭和59年に遺伝研が国立大学共同利用機関へ移行されたのに伴い、遺伝実験生物保存研究センターとして改組され、同時に設置された哺乳動物保存研究室において、これらの系統維持業務が行われている。基準系、突然変異系およびH-2コンジュニクマウスの系統維持は、「がん特別研究班」の援助も得て、この研究室で行われている。また、昭和60年度から「免疫遺伝学研究用マウス系統維持事業費」が認められた。マウスおよびラットの野生系統、野生マウス由来のH-2遺伝子複合体を導入したコンジュニク系統および染色体組換え系は、細胞遺伝研究部門の第1ネズミ飼育舎で維持されているが、これらの系統のうちの一部は帝王切開法および受精卵移植法によりSPF化され、センターのネズミ附属棟に移されている。昭和57年よりマウス受精卵および精子の凍結保存事業が開始された。

1. 近交系マウス (*Mus musculus domesticus*) (32 系統)

実験用近交系マウスの基準系統として、下記の系統を H-2 コンジュニック系統、その他のコンジュニック系統、染色体変異を持つ系統、突然変異遺伝子を保有している系統、野生由来の系統およびラット系統とともにバリアを設けた飼育室内で維持管理している。飼育室内は全新鮮空気方式による空調装置により温度 22~26℃ に保たれており、また、微生物汚染を防ぐためラミナフロー型飼育棚を使用している。系統名、由来、兄妹交配の世代数、毛色遺伝子および H-2 ハプロタイプは次の通りである。

\*、SPF 化以降の世代数。世代数は 1993 年 12 月 1 日現在のもの。

129/SvJ	Jax→Ms (1990, F?), F?+8 (SPF)
A/WySnJ	Jax→Ms (1984, F186), F186+41, aa, bb, cc, H-2 <sup>a</sup> (SPF)
A2G/Ola	Ola→Ms (1988, F?), F?+27 (SPF)
AKR/J	Jax→Ms (1992, F?), F?+6, aa, BB, cc, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
AU/SsJ	Jax→Ms (1991, F93), F93+12, aa, BB, CC, Hbb <sup>h</sup> (SPF)
BALB/cAnN	NIH→Ms (1984, F178), F178+41, cc, ミエローマ高発系, H-2 <sup>d</sup> (SPF)
BALB/cByJ	Jax→Ms (1987, F173), F173+26, cc, H-2 <sup>d</sup> (SPF)
BALB/cJ	Jax→Ms (1986, F156), F156+27, cc, H-2 <sup>d</sup> (SPF)
BALB/cUcsdeB6C3F1	Os→Ms (1978, F?), F?+44+19*, cc, H-2 <sup>d</sup> (SPF)
C3H/HeJ	Jax→Ms (1984, F182), F182+34, AA, BB, CC, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
C57BL/10SnJ	Jax→Ms (1985, F26+3), F29+28, aa, BB, CC, H-2 <sup>b</sup> (SPF)
C57BL/6ByJ	Jax→Ms (1986, F132), F132+30, aa, BB, CC, H-2 <sup>b</sup> (SPF)
C57BL/6J	Jax→Ms (1984, F152), F152+36, aa, BB, CC, H-2 <sup>b</sup> (SPF)
C57BR/cdJ	Jax→Ms (1987, F?), F?+20, aa, bb, CC, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
C57L/J	Jax→Ms (1984, F161), F161+33, aa, bb, lln, CC, H-2 <sup>b</sup> (SPF)
C58/J	Jax→Ms (1985, F200), F200+27, aa, BB, CC, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
CBA/J	Jax→Ms (1984, F194), F194+34, AA, BB, CC, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
CBA/CaHN	NIH→Ms (1984, F65), F65+40, AA, BB, CC, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
CE/J	Jax→Ms (1987, F102), F102+22, A <sup>w</sup> A <sup>w</sup> , C <sup>c</sup> C <sup>c</sup> (SPF)
DBA/1J	Jax→Ms (1982, F112), F112+48, aa, bb, CC, dd, H-2 <sup>a</sup> (SPF)
GR/A	Aichi Cancer Center Inst.→Ms (1981, F87), F87+53 (CV)
ICG	Montpellier Univ.→Ms (1989, F23)→Slc (1989, F23)→Ms (1989, F24), F24+8, p <sup>isr</sup> p <sup>isr</sup> (SPF)
IF1/MsfB6C3F1	Ms (1993, F?+19), F?+19+1* (SPF)
NZB/BINJ	Jax→Ms (1988, F134), F134+19, aa, BB, CC (SPF)
P/J	Jax→Ms (1987, F161), F161+20, sese, pp (SPF)
PL/J	Jax→Ms (1987, F137), F137+27, cc (SPF)
PT/7af	Os→Ms (1986, F26), F26+34, aa, bb, pc <sup>h</sup> /pc <sup>h</sup> , dse/dse, ss (SPF)
RFM/MsNrs	Nat. Inst. Radiol. Sci.→Ms (1987, F65), F65+30, aa, cc, H-2 <sup>l</sup> (SPF)
RIIIS/J	Jax→Ms (1985, F63), F63+30, cc (SPF)
SJL/J	Jax→Ms (1982, F95), F95+50, AA, BB, cc, pp, H-2 <sup>s</sup> (SPF)
SM/J	Jax→Ms (1982, F106), F106+37, A <sup>w</sup> a or aa, BB, CC, H-2 <sup>a</sup> (SPF)
SWR/J	Jax→Ms (1984, F150), F150+38, AA, BB, cc, H-2 <sup>a</sup> (SPF)

## 2. H-2 コンジュニック系マウス (23 系統)

主として免疫遺伝学研究に用いるために、以下に挙げる H-2 コンジュニック系統を維持している。これらの系統は、主要な H-2 抗原特異性に対する抗血清を作製することができる組合せでそろえてある。

\*、SPF 化以降の世代数。

### B10 系 (12 系統)

- H-2<sup>a</sup> B10. A/SgSnJ: Jax→Ms (1985, F28), F28+31 (SPF)  
 H-2<sup>d</sup> B10. D2/nSnJ: Jax→Ms (1983, F22), F22+39 (SPF)  
 H-2<sup>f</sup> B10. M/Sn: Jax→Ms (1990, F84), F84+14 (SPF)  
 H-2<sup>g</sup> B10. HTG/2Cy: Jax→Ms (1982, N16F19), N16F19+40 (SPF)  
 H-2<sup>g2</sup> B10. GdfBALB/cAnN: C. S. David→Ms (1984, F?), F?+29+3\* (SPF)  
 H-2<sup>h2</sup> B10. A (2R)/SgSnJ: Jax→Ms (1982, F?), F?+47 (SPF)  
 H-2<sup>h4</sup> B10. A(4R)/Ola: Ola→Ms (1982, F3), F3+48 (SPF)  
 H-2<sup>h5</sup> B10. A(5R)/SgSnJ: Jax→Ms (1982, F20), F20+47 (SPF)  
 H-2<sup>k</sup> B10. BR/SgSnJ: Jax→Ms (1984, F26), F26+41 (SPF)  
 H-2<sup>o</sup> B10. G/Ola: Ola→Ms (1985, F?), F?+34 (SPF)  
 H-2<sup>s</sup> B10. S/Ola: Ola→Ms (1985, F?), F?+28 (SPF)  
 H-2<sup>l</sup> B10. AQR/Ola: Ola→Ms (1982, F?), F?+48 (SPF)

### A 系 (6 系統)

- H-2<sup>d</sup> A. AL/Ola: Ola→Ms (1982, F?), F?+42 (SPF)  
 H-2<sup>b</sup> A. BY/SnJ: Jax→Ms (1982, F20), F20+41 (SPF)  
 H-2<sup>f</sup> A. CA/Sn: Jax→Ms (1982, F23), F23+48 (SPF)  
 H-2<sup>s</sup> A. SW/Sn: Jax→Ms (1982, F20), F20+47 (SPF)  
 H-2<sup>l</sup> A. TL/SfDvEg: Jax→Ms (1984, F?), F?+42 (SPF)  
 H-2<sup>l2</sup> A. TH/SfDvEg: Jax→Ms (1984, F?), F?+39 (SPF)

### C3H 系 (3 系統)

- H-2<sup>b</sup> C3H. SW/SnJ: Jax→Ms (1982, F22), F22+43 (SPF)  
 H-2<sup>o</sup> C3H.OL/NeB6C3F1: NIH→Ms (1981, F?), F?+25+18\* (SPF)  
 H-2<sup>o2</sup> C3H.OH/N: NIH→Ms (1981, F?)→Jic→Ms (1985, F?), F?+43 (SPF)

### BALB/c 系 (2 系統)

- H-2<sup>b</sup> BALB.B/Ola: Ola→Ms (1981, F?)→Jic→Ms (1985, F?), F?+37 (SPF)  
 H-2<sup>k</sup> BALB.K/Ola: Ola→Ms (1982, F?), F?+45 (SPF)

## 3. 野生ハツカネズミの H-2 染色体を導入した B10 コンジュニック系 (7 系統\*)

系統名	H-2 ハプロタイプ	交配世代数	H-2 遺伝子の由来	育成開始 時期
兄妹交配によって維持している系統 (第 1 ネズミ飼育舎)				
B10. MOL-MSM	<i>wm5</i>	N12F34	Mol. Msm	1979
B10. MOL-YNG	<i>wm9</i>	N13F31N1F19	Mol. Yng	1976
遺伝実験生物保存研究センターで SPF として維持している系統				
B10. MOL-TEN1	<i>wm1</i>	N12F16+46**	Mol. Ten1	1976

B10. MOL-TEN2eB6C3F1	<i>wm2</i>	N10F36+20**	Mol.Ten2	1976
B10. MOL-SGR	<i>wm7</i>	F1N10F15+48**	Mol. Sgr	1976
B10. CAS-QZNeB6C3F1	<i>wc1</i>	N12F30+17**	Cas. Qzn	1978
戻し交配によって育成中の系統				
B10. Cas-Tch	<i>wc2</i>	N40	Cas. Tch	1979

\*, 研究途上の系統であり, 一般への分譲はまだ行っていない。

\*\*, SPF 化以降の世代数。

#### 4. B10. MOL-H-2 コンジェニック系由来の H-2 染色体組換え系 (22 系統\*)

両親の H-2 ハプロ タイプ	系統名/旧称	世代数	組換え体 ハプロ タイプ	H-2 領域の構成と組換え点				
				K	A	E	S	D
兄妹交配によって維持している系統 (第 1 ネズミ飼育舎)								
<i>a/wm7</i>	B10. A(R201)/(R101)	N4F56	<i>aw1</i>	k	w	w	w	w
<i>a/wm7</i>	B10. A(R202)/(R102)	N4F55	<i>aw2</i>	k	k	k	d	w
<i>a/wm7</i>	B10. A(R203)/(R103)	N3F46	<i>aw3</i>	k	k	k	w	w
<i>a/wm7</i>	B10. A(R204)/(R104)	N4F46	<i>aw4</i>	w	k	k	d	d
<i>a/wm7</i>	B10. A(R206)/(R106)	N4F48	<i>aw6</i>	w	k	k	d	d
<i>a/wm7</i>	B10. A(R207)/(R107)	N4F50	<i>aw7</i>	w	k	k	d	d
<i>a/wm7</i>	B10. A(R208)/(R108)	N4F35	<i>aw8</i>	k	k	k	d	w
<i>a/wm7</i>	B10. A(R209)/(R109)	N4F46	<i>aw9</i>	w	k	k	d	d
<i>a/wm7</i>	B10. A(R211)/(R111)	N4F40	<i>aw11</i>	k	k	k	w	w
<i>a/wm7</i>	B10. A(R212)/(R112)	N3F42	<i>aw12</i>	w	w	w	d	d
<i>a/wm7</i>	B10. A(R213)/(R113)	N4F42	<i>aw13</i>	w	w	w	d	d
<i>a/wm7</i>	B10. A(R214)/(R114)	N3F41	<i>aw14</i>	w	k	k	d	d
<i>a/wm7</i>	B10. A(R217)/(R117)	N4F47	<i>aw17</i>	w	w	w	d	d
<i>a/wm7</i>	B10. A(R218)	N12+N12	<i>aw18**</i>	w	w	w	d	d
<i>b/wm7</i>	B10(R231)/(R401)	N3F42	<i>bw1</i>	b	w	w	w	w
<i>b/wm7</i>	B10(R233)/(R403)	N4F39	<i>bw3</i>	b	w	w	w	w
<i>b/wm7</i>	B10(R236)/(R406)	N3F42	<i>bw6</i>	b	w	w	w	w
<i>b/wm7</i>	B10(R237)/(R407)	N3F38	<i>bw7</i>	w	b	b	b	b
<i>b/wm7</i>	B10(R239)/(R409)	N3F37	<i>bw9</i>	w	b	b	b	b
遺伝実験生物保存研究センターで SPF として維持している系統								
<i>a/wm7</i>	B10. A(R201)/MsfB6C3F1	N4F54+2***	<i>aw1</i>	k	w	w	w	w
<i>a/WM7</i>	B10. A(R209)/MsfB6C3F1	N4F43+3***	<i>aw9</i>	w	k	k	d	d
<i>b/wm7</i>	B10(R233)/MsfB6C3F1	N4F36+2***	<i>bw3</i>	b	w	w	w	w

\*, 研究途上の系統であり, 一般への分譲はまだ行っていない。

\*\*, まだホモ個体が得られていない。

\*\*\*, SPF 化以降の世代数

#### 5. その他のコンジェニック系マウス (1 系統) \*, SPF 化以降の世代数

BALB/c-*Hbb*<sup>b</sup> Ms 由来 (1993), N5F2N1F2+2\* wild-derived *Hbb*<sup>b</sup> haplotype (SPF)

### 6. 染色体変異を持つ系統 (3 系統) \*, SPF 化以降の世代数

B10. SMY-YdoteB6C3F1	MRC→Ms (1989, N10), N10F1+N15* (SPF)
C57BL/10Sn-Y <sup>del</sup>	Ms (1990, B10. BR-Y <sup>del</sup> より C57BL/10Sn に戻し交配), N12 (SPF)
Rb (10. 11) 8Bnr	Jax→Ms (1991, F51), F51+11 (SPF)

### 7. その他の突然変異遺伝子を保有している系統 (6 系統)

C3HeB/FeJ-E <sup>no</sup> /E <sup>no</sup> Xt <sup>l</sup> /+	Jax→Ms (1993, N10F12), N10F12+3, Extra toes-J (Xt <sup>l</sup> ) (SPF)
C57BL/6J-Tr/Re	Jax→Ms (1991, N42), N40+4, trembler (Tr), rex (Re) (SPF)
C57BL/6J-sg+ +/+dse	Jax→Ms (1990, NE9F21), NE9F21+11, staggerer (sg) (SPF)
HRS/J	Jax→Ms (1984, F75), F75+29, hrhr (SPF)
TSJ/Le b/b Ts/+	Jax→Ms (1993, F90), F90+1, Tail-short (Ts) (SPF)
WB/ReJ-W	Jax→Ms (1987, F?), F?+27, aa, BB, CC, dominant spotting (W), H-2 <sup>i</sup> (SPF)

### 8. 系統維持している近交系ラット (*Rattus norvegicus*) (1 系統)

WM/Ms (別名 Wister/Ms): 1944 年に東大農学部 (増井) より北大理 (牧野) へ。1951 年に F8 で遺伝研へ。毛色遺伝子は, *aacchh*. F81 で SPF 化 (実中研 fW/Jcl). F97 で遺伝研へ。現在 F97+26.

### 9. 野生ハツカネズミ由来の系統 (25 系統)

種, 亜種名および系統名	採集地, 由来および時期	世代数	SPF 化の時期
兄妹交配によって維持している系統 (第 1 ネズミ飼育舎)			
<i>Mus musculus molossinus</i>			
MSM	三島 (静岡県) 1978 年 4 月	F49	(CV)
<i>Mus musculus domesticus</i>			
M. DOM-PGN2	Pegion (カナダ) 1979 年 9 月	F35	(CV)
<i>Mus musculus musculus</i>			
M. MUS-NJL	Northern Jutland (デンマーク) 1980 年 9 月	F44	(CV)
<i>Mus musculus castaneus</i>			
M. CAS-HMI	和美 (台湾) 1986 年 6 月	F23	(CV)
M. Cas-Mal	マレーシア 1987 年 2 月	F16	(CV)
<i>Mus musculus bactrianus</i>			
M. Bac-Iran	Mashhad (イラン) 1985 年 2 月	F17	(CV)
M. Bac-Nsh2	Now Shahr (イラン) 1990 年 11 月	F5	(CV)
M. Bac-kjo	Kujour (イラン) 1990 年 11 月	F4	(CV)
M. Bac-Avz3	Ahvaz (イラン) 1991 年 4 月	F11	(CV)
M. Bac-Gms	Garmsar (イラン) 1991 年 8 月	F8	(CV)
<i>Mus musculus subsp. species</i>			
M. Sub-Bjn4	北京 (中国) 1980 年 11 月	F6	(CV)
M. SUB-SHH1	上海 (中国) 1981 年 5 月	F22	(CV)
M. SUB-CHD	成都 (中国) 1981 年 5 月	F27	(CV)
<i>Mus spicilegus</i>			
ZBN	ブルガリア 1984 年 4 月	F13	(CV)

*Mus spretus*

SEG フランス, モンペリエ大学より 1989年 7月 G25+F8G3 (CV)

遺伝実験生物保存研究センターで SPF として維持している系統

*Mus musculus molossinus*

MSM/MsfB6C3F1 三島 (静岡県) 1978年 4月 F46+2\* 1993年  
MOM 瑞穂区 (愛知県名古屋市) 1972年 4月 F29+?+13

*Mus musculus brevisrostris*

BFM/2MsfB6C3F1 Montpellier (フランス) 1976年 G15F40+3\* 1993年

*Mus musculus musculus*

BLG2/MsfB6C3F1 Toshevo (ブルガリア) 1980年 F3+41+4\* 1993年

*Mus musculus castaneus*

HMI/MsfB6C3F1 和美 (台湾) 1986年 6月 F21+1\* 1993年  
MAL/MsfB6C3F1 マレーシア 1987年 2月 F11+1\* 1993年  
CASA/Rk Jax→Ms (1989, F12) 1971年 F12+7  
CAST/Ei Jax→Ms (1989, F43) 1971年 F43+11

*Mus musculus subspecies*

KJR/MsfB6C3F1 Kojuri 島 (韓国) 1984年 9月 F31+3\* 1993年  
SWN/MsfB6C3F1 水原 (韓国) 1984年 9月 F22+2\* 1993年

\* SPF 化以降の世代数

10. 凍結胚を保存しているマウス系統 (1991年以降に胚凍結を行った系統)

系統名	由来	凍結胚世代数
OH-2 コンジュニック系 (B10系) (24系統)		
B10. 129 (6M)/Snf1CR	Jax→Ms (1977, F52)	F52+54~56N1 (*1)
B10. A/SgSnJ	Jax→Ms (1985, F28)	F28+21~25N1 (*1)
B10. A (2R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F?)	F?+40~44N1 (*1)
B10. A (4R)/Ola	Ola→Ms (1982, F3)	F3+40N1 (*1)
B10. A (5R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F20)	F20+39~40N1 (*1)
B10. AKM/Ola	Ola→Ms (1983, F?)	F?+34~36N1 (*1)
B10. AQR/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F?+41~43N1 (*1)
B10. BR/SgSnJ	Jax→Ms (1984, F26)	F26+33~34N1 (*1)
B10. D2/nSnJ	Jax→Ms (1983, F22)	F22+31~33N1 (*1)
B10. DA (80NS)/Sn	JAX→Ms (1987, F?)	F?+17~18N1 (*1)
B10. G/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+28~29N1 (*1)
B10. GD	C. S. David→Ms (1984, F?)	F?+24~25, F?+24~25N1 (*1)
B10. HTG/2Cy	Jax→Ms (1982, N16F19)	N16F19+34~35N1 (*1)
B10. HTT/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+27~28N1 (*1)
B10. M/Sn	Jax→Ms (1990, F84)	F84+8+2~4, F?, F84+7N1 (*1)
B10. PL (73NS)/Sn	Jax→Ms (1982, F17)	F17+39~41N1 (*1)
B10. RIII (71NS)/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F?+44~47N1 (*1)
B10. S/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+21~22N1 (*1)
B10. S (7R)/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+28, F?, F?+24~27N1 (*1)

B10. S (9R)/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+28~30N1 (*1)
B10. SM (70NS)/Sn	Jax→Ms (1983, F22)	F22+32~33N1 (*1)
B10. T (6R)/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+28~31N1 (*1)
B10. WB (69NS)/Sn	Jax→Ms (1982, F19)	F19+38~39N1 (*1)
B10. Y/Sn	Jax→Ms (1987, F?)	F?+19~20N1 (*1)

○野生ハッカネズミのH-2染色体を導入したB10コンジュニック系(16系統)

B10. BAC1	Ms	F?, N8F6N1F2~4N1(*1)
B10. CAS-QZNeB6C3F1	Ms	N12F30+9~11N1 (*1)
B10. CAS-TCH/+	Ms	F37~38N1 (*1)
B10. DOM-PGN	Ms	N12F2~3N1 (*1)
B10. MOL-ANJeB6C3F1	Ms	N11F41+11N1 (*1)
B10. MOL-MSM	Ms	N12F28~29, N12F26~28N1 (*1)
B10. MOL-NSB	Ms	N12F13N1F6N1F3N1 (*1)
B10. MOL-OHM	Ms	N12F11+33~34N1 (*1)
B10. MOL-OKBeB6C3F1	Ms	N12F44+12N1 (*1)
B10. MOL-SGR	Ms	F?, F1N12F15+38~39N1 (*1)
B10. MOL-TEN1	Ms	N12F16+37N1 (*1)
B10. MOL-TEN2eB6C3F1	Ms	N10F36+13~15N1 (*1)
B10. MOL-YNG	Ms	N13F31N1F9, N13F31N1F8~9N1 (*1)
B10. SHH2	Ms	N8F10~12, N8F9~11N1 (*1)
B10. SHH3	Ms	N8F13~14, F?, N8F10~13N1 (*1)
B10. CAS3/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?N1 (*1)

○B10. MOL-H-2 コンジュニック由来のH-2染色体組換体 (39系統)

B10. A (R201)	Ms	N4F47~48N1 (*1)
B10. A (R202)	Ms	N4F44~47N1 (*1)
B10. A (R203)	Ms	N3F36~38N1 (*1)
B10. A (R204)	Ms	N4F37~39N1 (*1)
B10. A (R206)	Ms	N4F37~38N1 (*1)
B10. A (R207)	Ms	N4F43N1 (*1)
B10. A (R208)	Ms	N4F29~30N1 (*1)
B10. A (R209)	Ms	N4F34+1~2N1, N4F39N1 (*1)
B10. A (R211)	Ms	N4F36~37N1 (*1)
B10. A (R212)	Ms	N3F2~3N1 (*1)
B10. A (R213)	Ms	N4F35~37N1 (*1)
B10. A (R214)	Ms	N3F35N1 (*1)

B10. A (R217)	Ms	N4F38N1 (*1)
B10. A (R221)	Ms	F26~29N1 (*1)
B10. A (R223)	Ms	F25N1 (*1)
B10. A (R224)	Ms	F28N1 (*1)
B10. A (R228)	Ms	F15~18N1 (*1)
B10. A (R241)	Ms	N4F35N1 (*1)
B10. A (R251)	Ms	N3F37~40N1 (*1)
B10. A (R261)	Ms	N3F24~27N1 (*1)
B10. A (R262)	Ms	N3F26~30N1 (*1)
B10. BR (R220)	Ms	N8~9 (*1)
B10. CAS4 (R28)/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?+1N1 (*1)
B10. SH1 (R17)	Kfl→Ms (1985, F?)	F?+N7F14~15, F?+N7F13~14N1 (*1)
B10 (R226)	Ms	N10~12 (*1)
B10 (R231)	Ms	N3F32~36N1 (*1)
B10 (R233)	Ms	N4F32~33N1 (*1)
B10 (R236)	Ms	N3F34~41N1 (*1)
B10 (R237)	Ms	N3F31~32N1 (*1)
B10 (R239)	Ms	N3F31~32N1 (*1)
B10 (R263)	Ms	N1F1N1F2+18~19N1 (*1)
B6. CAS3 (R23)/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?
B6. CAS3 (R7)/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?
B10. CAS3 (R8)/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?
C57BL/10SnSlc- <i>H-2<sup>aw18</sup>/H-2<sup>b</sup></i>	Ms	N15+7(*1)
as55	Ms	F26~28
as61	Ms	F17
AS75	Ms	F12
as8	Ms	F25~27
○ <i>H-2</i> コンジュニク (A系) (2系統)		
A. AL/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F?+41~43
A. CA/Sn	Jax→Ms (1982, F23)	F23+45~48
○ <i>H-2</i> コンジュニク (C3H系) (3系統)		
C3H. JK/Sn	Jax→Ms (1982, F22)	F22+51~52
C3H. NB/Sn	Jsx→Ms (1982, F18)	F18+55~56, F?
C3H. OL/NeB6C3F1	NIH→Ms (1981, F?)	F?+25+17
○その他のコンジュニク系 (15系統)		
B6- <i>Ly-2<sup>c</sup></i> , -3 <sup>a</sup>	Ms	N12F13~14
BALB/ <i>c-Aph-1<sup>b</sup></i>	Nga→Ms (1985, F?)	F?+7~8, F?+7N1 (*2)

BALB/ <i>c-Aph-1<sup>b</sup></i> , <i>Aph-2<sup>b</sup></i>	Nga→Ms (1985, F?)	F? <sup>+</sup> 8~9, F? <sup>+</sup> 8~9N1 (*2)
BALB/ <i>c-Aph-1<sup>c</sup></i>	Ms	F? <sup>+</sup> 9~10, F? <sup>+</sup> 8~9N1 (*2)
BALB/ <i>c-Aph-2<sup>b</sup></i>	Ms	F? <sup>+</sup> 5~6
BALB/ <i>c-Aph-3</i>	Ms	F? <sup>+</sup> 7~8, F? <sup>+</sup> 5~7N1 (*2)
BALB/ <i>c-H. 2</i>	Ms	F? <sup>+</sup> 8~10N1 (*2)
BALB/ <i>c-H. 3</i>	Ms	F? <sup>+</sup> 7, F? <sup>+</sup> 6~7N1 (*2)
B6. BFM	Ms	N5 (*3)
B6. BGR	Ms	N5 (*3)
B6. CAST	Ms	N5 (*3)
B6. MAL	Ms	N5 (*3)
B6. MSM	Ms	N5 (*3)
B6. PGN	Ms	N5 (*3)
B6. SJL	Ms	N5 (*3)
○染色体変異を持つ系統 (6 系統)		
B10. SMY-Y <sup>doe</sup> eB6C3F1	Ms	N10F1+N10~14 (*1)
B10. SMY-conteB6C3F1	MRC→Ms (1989, N10)	N10F1+N13~14, F? (*1)
C57BL/10Sn-Y <sup>del</sup>	Ms	N8~12 (*1)
Rb (9, 15)/Ms	Ms	N8F21, F?
Rb (10, 11)8Bnr	Jax→Ms (1991, F51)	F51+11
Rb(11, 14)1Dn	Jax→Ms (1991, F?)	F? <sup>+</sup> 4
○突然変異遺伝子を保有している系統 (12 系統)		
B10. A (4R)/Ola (mut)	Ms	F3+37+M+3N1 (*1)
B10. PL (73NS)/Sn-s/o	Jax→Ms (1982, F17)	F24+M+NE2F1N1 (*1)
B10- <i>ape</i> B6C3F1	Ms	F? NE6F8+1NE3F1N1 (*1)
B10- <i>Po</i>	Ms	N3F17N1 (*1)
B10- <i>Poe</i> B6C3F1	Ms	F55NE3F12+11~12N1 (*1)
C. OGS-Ap	Ms	N13F3N1F5N10 (*2)
C57BL/10-rim2/rim2	Ms	F20~24N1 (*1)
C57BL/10-Rim3/+	Ms	N15 (*1)
C57BL/10-Rim4/+	Ms	N7 (*1)
C57BL/10-Rim5/Rim5	Ms	N8 (*1)
C. URM	Ms	N4+7~8N1 (*2)
HRS/J	Jax→Ms (1984, F75)	F75+29
WB/ReJ-W	Jax→Ms (1987, F?)	F? <sup>+</sup> 27~28
○その他の系統 (24 系統)		
129/J	Jax→Ms (1992, F126)	F126+2~8
129/SvJ	Jax→Ms (1990, F?)	F? <sup>+</sup> 6~7
A/WySjNj	Jax→Ms (1984, F186)	F186+37~41

AKR/J	Jax→Ms (1992, F?)	F?+3~7
AU/SsJ	Jax→Ms (1991, F93)	F93+11
BALB/cAnN	NIH→Ms (1984, F178)	F178+38~41
C57BL/6J	Jax→Ms (1984, F152)	F152+33~34
C57BL/10SnJ	Jax→Ms (1985, F26+3)	F29+24~28
C58/J	Jax→Ms (1985, F200)	F200+26~27
CBA/CaHN	NIH→Ms (1984, F65)	F65+38~40
CBA/J	Jax→Ms (1984, F194)	F194+33~34
CBA/StMseB6C3F1	Ms→Nga (1965, F34) →Ms (1978, F75)	F75+44+16~18
CE/J	Jax→Ms (1987, F102)	F102+21~23
DBA/1J	Jax→Ms (1982, F112)	F112+48
DBA/2J	Jax→Ms (1984, F151)	F151+35~39
DM/Shi	Shi→Ms (1983, F108)	F108+42~44
JF	As→Ms (1987, F?)	F?+14~15
MA/MyJ	Jax→Ms (1983, F?)	F?+36~39
NZB/BINJ	Jax→Ms (1988, F134)	F134+20
PL/J	Jax→Ms (1987, F137)	F137+27
SJL/J	Jax→Ms (1982, F95)	F95+46~50
SM/J	Jax→Ms (1982, F106)	F106+36
SWR/J	Jax→Ms (1984, F150)	F150+36~39
京都 D20+		F?, N2F7N1 (*1)

## ○野生ハツカネズミ類 (23系統)

BFM/2Ms	Montpellier (フランス)	F15+42~43
CASA/Rk	Jax→Ms (1989, F12)	F?
CAST/Ei	Jax→Ms (1989, F43)	F43+9~10
M. Bac-Avz3	Ahvaz (イラン)	F?
M. Bac-Gms	Garmsar (イラン)	F?
M. Bac-Iran	Mashhad (イラン)	F12
M. Bac-Kjo	Kujour (イラン)	F3~4
M. Bac-Nsh2	NowShahr (イラン)	F?
M. Cas-Hmi	和美 (台湾)	F?
M. Cas-Mal	マレーシア	F?+9~11
M. DOM-PGN2	Pegion (カナダ)	F?
M. Dom-Pgn3	M.DOM-PGN1×PGN2	F?
M. Mol-Unu	内之浦 (鹿児島県)	F?
M. MUS-BLG2	Toshevo (ブルガリア)	F3+34~35
M. MUS-NJL	Northern Jutland (デンマーク)	F?

M. SUB-CHD	成都 (中国)	F?
M. SUB-KJR1	Kojuri 島 (韓国)	F?
M. SUB-SWN1	水原 (韓国)	F18~19,F23
M. SUB-SWN2	水原 (韓国)	F?
M. SUB-SWN3	水原 (韓国)	F?
MSM	三島 (静岡県)	F37~41
MOM	瑞穂区 (愛知県名古屋市)	F29+?+11~13
ZBN	ブルガリア	F9

○トランスジェニック系統 (8 系統)

Tg (17MMUCyp21) 1Ms	Ms	
Tg (0MMUCyp21) 2Ms	Ms	
Tg (0MMUCyp21) 3Ms	Ms	G1F2, N2F3~4
Tg (YHSPCyp21) 5Ms	Ms	N12 (*1)
Tg (17MMUCyp21) 6Ms	Ms	N1F3N2F3, N1F3N1 (*1)
Tg (0MMUCyp21) 7Ms	Ms	
Tg (0MMUCyp21) 8Ms	Ms	
Tg (0MMUCyp21) 9Ms	Ms	

(\*1) C57BL/10SnSlc との heterozygote

(\*2) BALB/cCrSlc との heterozygote

(\*3) C57BL/6Jcl との heterozygote

## J. 細菌とそのファージ

### 保存株の概要

*Escherichia coli* (大腸菌): 15,000 株

- (1) 1353 の標識遺伝子を含む各種突然変異株 (栄養要求性, 薬剤抵抗性, ファージ抵抗性, 放射線感受性, その他): 7,000 株
- (2) トランスポゾン挿入変異株 (染色体地図のほぼ 1 分毎に, Tn 10, Tn10 kan, Tn5 で標識されている): 473 株
  - a) 遺伝的背景の異なる株 (1983-1987 年の Journals に掲載された株のコレクション) 203 株
  - b) 遺伝的背景が野生型の株 (Singer *et al.*, 1989. *Microbiol. Rev.*, 53, 1-24 に掲載された kit): 190 株
  - c) Hfr 株の kit: 80 株
- (3) クラーク・カーボンの pLC コレクション\* (合成 ColE1 ハイブリッド・プラスミド 2,000 種を含む大腸菌のジーン・バンク. Clarke & Carbon. 1976. *Cell*, 9, 91-99): 2,000 株
 

\* Nishimura, A.: Correlation of a subset of the pLC-plasmids to the physical map of *Escherichia coli* K-12. *Microbiol. Rev.*, 56, 137-151, 1992.
- (4) 広田の大腸菌温度感受性変異株のコレクション: 約 5,000 株
 

DNA 複製欠損変異株 115 株

RNA 合成欠損変異株	100 株
ムレイン生合成欠損変異株	55 株
細胞分裂欠損変異株**	353 株
染色体分配欠損変異株**	45 株
膜蛋白欠損変異株	22 株
ソボソーム蛋白変異株	79 株
未同定欠損変異株	約 3,800 株

\*\* Nishimura, A. *et al.*, Mapping of a whole set of cell division genes in *Escherichia coli* K-12. In "Control of growth and division" (A. Ishihama, H. Yoshikawa eds.) pp. 205-223, Springer-Verlag/Tokyo, 1991.

(5) *Escherichia coli* のファージ: T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>4</sub>GT7, T<sub>5</sub>, T<sub>6</sub>, T<sub>7</sub>, P1·kc, P1·vir, Mu, λpapa, λvir, λgt·λC, λcb2, λcI<sub>857</sub>·S7, λTn5, λTn10, φX174wild, φX174am3, f1, MS2, Qβ, その他

#### その他

*Bacillus subtilis* (枯草菌): 200 株

*Salmonella typhimurium* (ネズミチフス菌): 1370 株

### K. クローニングベクターコレクション

微生物遺伝研究部門では大腸菌を宿主とするクローニングベクターの収集と配布の事業を行っている。現在のところ、約 200 種類のプラスミドベクターを精製した DNA として保存しておりこれらは分譲が可能である。内訳は汎用ベクター 55 種、発現ベクター 66 種、プロモータクローニングベクター 17 種、遺伝子融合ベクター 10 種、その他直接選択用ベクター、高コピーベクター、低コピーベクター、翻訳シグナル用ベクター、複製 ts ベクター等数種づつである。郵便かファックスでの問い合わせには応じているが電話での問い合わせには応じていない。

連絡先: 〒411 静岡県三島市谷田 1, 111 国立遺伝学研究所微生物遺伝研究部門  
クローニングベクターコレクション (担当 安田成一)

FAX: 0559-75-6240

## II. 遺伝情報の収集保存

現在 DDBJ で利用可能な核酸および蛋白質データベースは以下のようである。

#### DNA 塩基配列データ:

DDBJ	16 版 (01/94)	154,626 エントリー	165,017,628 塩基
EMBL	37 版 (12/93)	146,576 エントリー	15,817,400 塩基
GenBank	81 版 (02/94)	162,946 エントリー	173,261,500 塩基

#### タンパク質アミノ酸配列データ:

PIR	39 版 (12/93)	64,760 エントリー	19,009,043 塩基
SWISSPROT	27 版 (10/93)	3,329 エントリー	11,484,420 塩基

コドン使用頻度データベース: (GenBank 69.0 版に対応)

以下は各データベースの簡単な収集内容である.

DDBJ Release 16.0 (1994年1月発行)

グループ	エントリー数	塩基数
バクテリア	13,849	25,034,665
E S T	26,342	8,261,261
無脊椎動物	9,948	16,501,409
哺乳類	5,013	5,692,998
オルガネラ	5,816	7,786,511
バクテリオファージ	5,281	1,831,626
植物	929	1,360,621
植霊長類	18,876	25,998,860
R N A	30,306	28,501,699
ゲック歯類	3,493	2,113,084
人工合成	19,094	21,523,271
無注釈	1,662	2,403,050
ウイルス	1,447	1,360,260
ウイイルス	14,239	18,817,048
脊椎動物	6,062	6,769,521

## VIII. 行 事

### 研究所の一般公開

毎年科学技術週間における行事の一環として行われる研究所の一般公開は、4月10日(土)に行われた。各研究部門等の展示、学術講演、学術映画の上映等を行い、9時30分から16時30分までの間に約3,000名の見学者が来所した。

### 公開講演会の開催

国立科学博物館と共催で、一般を対象とした遺伝学公開講演会を次のとおり開催した。

日 時 平成5年10月30日(土) 13:30~16:30

場 所 国立科学博物館新宿分館(新宿区百人町)

共 催 国立科学博物館

後 援 遺伝学普及会

講 演

繊維状ファージ——その複製機構と遺伝子工学への寄与

細胞遺伝研究系教授

理学博士 堀 内 賢 介

#### 【要 旨】

繊維状ファージのゲノムは6000塩基余りから成る一本鎖環状のDNAで、自然界に見られる最も小さなゲノムの一つである。このファージは大腸菌に感染して増殖するが、その際宿主菌を殺さず、増殖しつつある感染菌から次々に放出されて増える点で、ユニークなファージである。

かつて、このファージの制限と修飾に関する研究は制限酵素の発見に重要な役割を果たしたが、その後も、一本鎖DNAをもつこと、およびファージ粒子に組み込まれるDNAの長さが規定されていないという特徴から、クローニングベクターとして広く用いられるようになった。更に、そのDNAの複製機構の研究から、一本鎖DNAの生成に必要な因子が明らかになり、またその複製開始領域が複製の開始と終結の両方のシグナルをもつことが明らかになった。その結果、繊維状ファージとプラスミドの両方の複製機能を併せ持ったファージミドと呼ばれるベクターがつけられ、またその複製開始領域を利用して長いDNAから任意の部分を取り出すシステムが開発された。更にそれらの発展として、近年、遺伝子のライブラリーのみならず蛋白質のライブラリーを、このファージの系をベクターとして構築することが可能になってきた。

ファージの複製機構を対象とするよう基礎的研究が、当初は予期していなかった技術的革新をもたらす点について、繊維状ファージの場合を通して概観してみたい。

## 遺伝子の進化から見た人間性の諸相

集団遺伝研究系助教授

Ph.D. 斎藤成也

## 【要旨】

遺伝子の本体である DNA は、親から子へと伝えられるときに、まれに突然変異を起こしながら、自己複製を行ってゆく。したがって、2 個の遺伝子の由来を遡ってゆけば、いずれは共通の祖先遺伝子にたどりつく。これは、血縁関係にある親戚のあいだではもちろんのこと、あかの他人の遺伝子と比べても同じことが言える。さらには、人間以外の生物とも、世代をどんどん遡ってゆけば、必ず祖先遺伝子にたどりつく。このように、遺伝子に連続性があるという点から見れば、人間の誕生は、久遠の生物進化の一局面にすぎない。では、この遺伝子の進化を調べることによって、人間の持つ性質をどのくらい理解することができるだろうか。

これまでさかんに研究が行われてきたのは、人間と猿との進化的関係である。人間にもっとも近い生物がチンパンジーであり、人間とはおよそ 6 百万年前に分かれたことがわかっている。しかし、他の生物から人間をわかし、人間たらしめる遺伝子は、まだよく知られていない。一方、人間の中の個人差に、遺伝子の違いに基づくものがあることはかなり研究されている。これらについて、遺伝子の進化の観点から論じる。また、人類集団間の遺伝的差異についても、現生人類の起源問題と関連づけて論じる。

## IX. 庶務

### A. 沿革

昭和15年8月、京城で開催された日本遺伝学会第13回大会において、国立遺伝学研究所設立決議案が満場一致で可決された。翌16年4月に日本学術振興会内に設けられた第4特別委員会（遺伝）がこれに協力して、研究所実現の努力を続けた。昭和22年5月、日本遺伝学会は、財団法人遺伝学研究所を設立し、側面的に国立機関設置の促進に努めた。これらの努力が実を結び、昭和24年6月1日、文部省設置法が施行されて、ここに待望10年の国立遺伝学研究所が誕生した。

最初は、第1（形質遺伝）、第2（細胞遺伝）、第3（生理遺伝）の3研究部をもって発足し、事務所を文部省内に置いた。昭和24年9月、敷地として静岡県三島市富士産業株式会社所有の土地77,773平方メートルを買収するとともに、同社の建物4,452平方メートルを借り受け、12月1日研究所を現在の地に移した。昭和35、37、38年度には、従前の木造の本館を鉄筋コンクリート3階建に改築する工事が逐次進められ、昭和42年度において全館が完成した。また研究部門の構成も、昭和27年度に形質遺伝部、細胞遺伝部、生理遺伝部と改組され、さらに昭和28年度に生化学遺伝部、29年度に応用遺伝部、30年度に変異遺伝部、35年度に人類遺伝部、37年度に微生物遺伝部、39年度に集団遺伝部及び44年度に分子遺伝部が増設されて10部門となり、また50年度には遺伝実験生物保存研究施設が新設された。

昭和59年4月12日、国立学校設置法の改正により、文部省所轄機関から、大学共同利用機関へ改組・転換された。これに伴って、従来から設置されていた10研究部は、研究対象のレベルに応じて分子・細胞・個体・集団の4研究系およびこれらにまたがる総合遺伝研究系の5つに区分され、昭和59年度はその中の3つの研究系に客員研究部門が設けられ、また、共同利用の核となるべき附属施設として、既存の遺伝実験生物保存研究センターの拡充がはかられ、加えて、遺伝情報研究センターが新設された。

昭和60年には、2つの研究系の客員研究部門が設けられ、遺伝情報研究センターに合成研究室、遺伝情報分析研究室が新設された。

昭和63年には、放射線・アイソトープセンターが設けられ、遺伝情報研究センターに遺伝子ライブラリー研究室が新設された。

同年、7つの大学共同利用機関を母体とする総合研究大学院大学開学に伴い、生命科学研究科の遺伝学専攻を担当することになった。

平成3年には、寄附研究部門として大量遺伝情報研究部門が設けられた。

平成5年には、遺伝実験生物保存研究センターに発生工学研究室が新設された。

### B. 組織（機構と職員）

#### ○国立学校設置法（抄）

（昭和24年5月31日法律第150号）最終改正 平成3年4月2日 法律第23号

## 国立学校設置法

### 第1章 総則

(設置及び所轄)

第1条 この法律により、国立学校を設置する。

2 国立学校は、文部大臣の所轄に属する。

(国立学校)

第2条 この法律で、「国立学校」とは、学校教育法(昭和22年法律第26号)第1条に定める学校で国が設置するものをいい、第3章の3から第3章の5までに定める機関を含むものとする。

2 国立の小学校、中学校、高等学校、盲学校、聾学校、養護学校及び幼稚園は、この法律に特別の定めをするもののほか、政令で定めるところにより、国立大学若しくは国立大学の学部又は国立短期大学に附属して設置するものとする。

### 第3章の3 大学共同利用機関

(大学共同利用機関)

第9条の2 大学における学術研究の発展その他政令で定める目的に資するため、大学の共同利用の機関として、政令で定めるところにより、研究所その他の機関(以下「大学共同利用機関」という。)を置く。

2 大学共同利用機関は、大学の教員その他の者で当該大学共同利用機関の目的たる研究その他の事項と同一の事項に従事するものの利用に供するものとする。

3 大学共同利用機関は、大学の要請に応じ、大学院における教育その他の大学における教育に協力することができる。

### 第4章 職及び職員

(国立学校の職)

第10条 各国立学校に置かれる職の種類は、文部省令で定める。

(国立学校に置かれる職員の任免等)

第11条 国立学校に置かれる職員の任免、懲戒その他人事管理に関する事項については、国家公務員法(昭和22年法律第120号)及び教育公務員特例法の定めるところによる。

### 第5章 雑則

(命令への委任)

第13条 この法律又は他の法律に別段の定めのあるものを除くほか、国立学校の位置並びに組織及び運営の細目については、文部省令で定める。

## ○国立学校設置法施行令(抄)

(昭和59年6月28日政令第230号)最終改正 平成3年4月12日

### 国立学校設置法施行令

(大学共同利用機関)

第5条 法第9条の2第1項の政令で定める目的は、大学における学術情報の流通の促進、資料の公開等一般公衆に対する教育活動の推進及び大学における教育の発展とする。

第6条 大学における学術研究の発展に資するための法第9条の2に定める大学共同利用機関(以下単に「大学共同利用機関」という。)として、次の表の上欄に掲げる機関を置き、当該機関の目的は、それぞれ同表の下欄に定めるところとする。

大学共同利用機関の名称	目的
高エネルギー物理学研究所	高エネルギー陽子加速器による素粒子に関する実験的研究及びこれに関連する研究
国文学研究資料館	国文学に関する文献その他の資料の調査研究、収集、整理及び保存
国立極地研究所	極地に関する科学の総合研究及び極地観測
宇宙科学研究所	宇宙物理学及び宇宙工学の学理及びその応用の研究
国立遺伝学研究所	遺伝学に関する総合研究
統計数理研究所	統計に関する数理及びその応用の研究
国際日本文化研究センター	日本文化に関する国際的及び学際的な総合研究並びに世界の日本研究者に対する研究協力
国立天文台	天文学及びこれに関連する分野の研究・天象観測並びに暦書編製、中央標準時の決定及び現示並びに時計の検定に関する事務
核融合科学研究所	核融合プラズマに関する学理及びその応用の研究

## ○国立学校設置法施行規則(抄)

(昭和39年4月1日文部省令第11号)最終改正 平成3年10月1日

## 国立学校設置法施行規則

## 第4章 大学共同利用機関

(位置)

第46条 大学共同利用機関の位置は、次の表に掲げるとおりとする。

大学共同利用機関の名称	位置	大学共同利用機関の名称	位置
高エネルギー物理学研究所	茨城県	国立天文台	東京都
国文学研究資料館	東京都	核融合科学研究所	愛知県
国立極地研究所	東京都	岡崎国立共同研究機構	愛知県
宇宙科学研究所	神奈川県	学術情報センター	東京都
国立遺伝学研究所	静岡県	国立民族学博物館	大阪府
統計数理研究所	東京都	国立歴史民族博物館	千葉県
国際日本文化研究センター	京都府	放送教育開発センター	千葉県

(組織及び運営等)

第47条 大学共同利用機関に置かれる職の種類並びに大学共同利用機関の組織及び運営の細目については、大学共同利用機関組織運営規則(昭和52年文部省令第12号)の定めるところによる。

## ○大学共同利用機関組織運営規則(抄)

(昭和52年4月18日文部省令第12号)最終改正 平成2年6月8日

## 大学共同利用機関組織運営規則

### 第1章 総則

(機関の長等)

第1条 国立大学共同利用機関(以下「機関」という。)に、次の各号に掲げる区分に応じ、それぞれ当該各号に掲げる職員を置く。

- 一 岡崎国立共同研究機構 機構長
- 二 高エネルギー物理学研究所, 国立極地研究所, 宇宙科学研究所, 国立遺伝学研究所, 統計数理研究所, 国際日本文化研究センター, 核融合科学研究所, 岡崎国立共同研究機構に置かれる分子科学研究所, 基礎生物学研究所及び生理学研究所, 学術情報センター並びに放送教育開発センター 所長
- 三 国文学研究資料館, 国立民族学博物館及び国立歴史民族博物館 館長
- 四 国立天文台 台長

2 機構長は、岡崎国立共同研究機構の業務を掌理する。

3 所長, 館長又は台長は、それぞれ所務, 館務又は台務を掌理する。

(職員の種類)

第2条 前条に掲げるもののほか、機関に次の職員を置く。

- 一 教授
- 二 助教授
- 三 助手
- 四 事務職員
- 五 技術職員

2 機関に、前項に掲げるもののほか、講師(非常勤の者に限る。以下同じ。)を置くことができる。

3 教授は、研究に従事し、及び国立大学その他の大学の大学院における教育に協力するための学生の研究指導(以下「研究指導」という。)を行う。

4 助教授は、教授の職務を助ける。

5 講師は、教授又は助教授に準ずる職務に従事する。

6 助手は、教授及び助教授の職務を助ける。

7 事務職員は、庶務, 会計等の事務に従事する。

8 技術職員は、技術に関する職務に従事する。

(外国人研究員)

第3条 機関の長は、国家公務員法(昭和22年法律第120号)第2条第7項に規定する勤務の契約により、外国人を研究に従事させることができる。

2 前項の規定の実施に関し必要な事項については、別に文部大臣が定める。

(評議員会)

第4条 機関(岡崎国立共同研究機構(以下本章において「機構」という。)に置かれる研究所を含む。以下この条において同じ。)に、それぞれ評議員会を置く。

2 評議員会は、それぞれ当該機関の事業計画その他の管理運営に関する重要事項について、当該機関の長に助言する。

3 評議員は、評議員20人以内(機構にあっては、15人以内とする。)で組織し、評議員は、左各号に掲げる者(機構にあっては、機構に置かれる各研究所の評議員とする。)のうちから、文部大臣が任命する。

- 一 国立大学の学長
  - 二 公立又は私立の大学の学長
  - 三 その他学識経験のある者
- 4 評議員の任期は、2年とし、その欠員が生じた場合の補欠の評議員の任期は、前任者の残任期間とする。
- 5 評議員は、非常勤とする。
- 6 評議員会の運営に関し必要な事項は、別に文部大臣が定める。  
(運営協議員会)
- 第5条 機関(機構にあっては、機構に置かれる研究所とする。以下この条において同じ。)に、それぞれ運営協議員会を置く。
- 2 運営協議員会は、それぞれ当該機関の共同研究計画に関する事項(国立極地研究所にあっては、極地観測の実施とする。)その他の機関の運営に関する重要事項で当該機関の長が必要と認めるものについて、当該機関の長の諮問に応じる。
- 3 運営協議員会は、運営協議員21人以内で組織し、運営協議員は、当該機関の職員及び当該機関の目的たる研究と同一の研究に従事する左の各号に掲げる者のうちから、文部大臣が任命する。
- 一 国立大学の教員
  - 二 公立又は私立の大学の教員
  - 三 前二号に掲げる者以外の者
- 4 運営協議員の任期は、2年とし、その欠員が生じた場合の補欠の運営協議員の任期は、前任者の残任期間とする。
- 5 運営協議員は、非常勤とする。
- 6 運営協議員会の運営に関し必要な事項は、別に文部大臣が定める。  
(客員教授等)
- 第6条 機関の長は、常時勤務の者以外の職員で当該機関の研究に従事する者又は第3条第1項の規定により研究に従事する外国人のうち、適当と認められる者に対しては、客員教授又は客員助教授を称せしめることができる。
- 2 前項の規定に関し必要な事項については、別に文部大臣が定める。  
(名誉教授)
- 第6条の2 機関は、当該機関に機関の長(機構に置かれる研究所の長を含む。)、教授又は助教授として勤務した者であって、当該機関の目的達成上特に功績のあった者に対し、当該機関の定めるところにより、名誉教授の称号を授与することができる。
- 第5章の2 国立遺伝学研究所**  
(企画調整主幹)
- 第25条の4 国立遺伝学研究所に企画調整主幹1人を置き、教授を以て充てる。
- 2 企画調整主幹は、所長の命を受け、国立遺伝学研究所の行う研究に係る事業の企画及び実施について総合調整する。  
(内部組織)
- 第25条の4の2 国立遺伝学研究所に、管理部及び次の5研究系並びに技術課を置く。
- 一 分子遺伝研究系
  - 二 細胞遺伝研究系

- 三 個体遺伝研究系
- 四 集団遺伝研究系
- 五 総合遺伝研究系

2 前項に掲げるもののほか、国立遺伝学研究所に研究施設を置く。

(管理部)

第25条の5 管理部においては、庶務、会計及び施設等に関する事務を処理する。

- 2 管理部に、その所掌事務を分掌させるため、文部大臣が別に定めるところにより、課を置く。
- 3 管理部及びこれに置かれる課に、それぞれ部長及び課長を置き、事務職員をもって充てる。
- 4 部長は所長の命を受け、部の事務を掌理する。
- 5 課長は、上司の命を受け、課の事務を処理する。

(研究系及び研究部門)

第25条の6 別表第5の2の上欄に掲げる研究系に、それぞれ同表の下欄に掲げる研究部門を置く。

- 2 各研究系に研究主幹を置き、教授をもって充てる。
- 3 研究主幹は、所長の命を受け、当該研究系における研究及び研究指導に関し、総括し、及び調整する。

(技術課)

第25条の7 技術課においては、技術に関する専門的業務を処理する。

- 2 技術課に、課長を置き、技術職員をもって充てる。
- 3 課長は、所長の命を受け、課の事務を処理する。

(研究施設)

第25条の8 研究施設の名称は、別表第5の3に掲げるとおりとする。

- 2 研究施設に長を置き、教授又は助教授をもって充てる。
- 3 前項の長は、当該研究施設の業務を処理する。

別表第5の2(第25条の6関係)

国立遺伝学研究所の研究部門

研究系の名称	左欄の研究系に置く研究部門
分子遺伝	分子遺伝 変異遺伝 *核酸化学
細胞遺伝	細胞遺伝 微生物遺伝 *細胞質遺伝
個体遺伝	発生遺伝 形質遺伝 *生理遺伝
集団遺伝	集団遺伝 進化遺伝 *理論遺伝
総合遺伝	人類遺伝 育種遺伝 *応用遺伝

別表第5の3(第25条の8関係)

国立遺伝学研究所の研究施設

名	称
遺伝実験生物保存研究センター	
遺伝情報研究センター	
放射線・アイソトープセンター	
実験圃場	

### ○大学共同利用機関の内部組織に関する訓令(抄)

(昭和52年4月18日文部省訓令第8号)最終改正 平成2年6月7日

#### 大学共同利用機関の内部組織に関する訓令

(管理部等に置かれる部、課及び室)

第1条 大学共同利用機関(以下「機関」という。)の管理部等に置かれる部、課及び室は、次の表に掲げるとおりとする。

機関の名称	部等の名称	課又は室の名称
国立遺伝学研究所	管理部	庶務課 会計課

2 前項に規定する部(管理局に置かれる部に限る。)課及び室の所掌事務に関しては、その機関の長が定め、文部大臣に報告しなければならない。

### ○大学共同利用機関の評議員会及び運営協議委員会の運営に関する規程(抄)

(昭和52年5月2日文部大臣裁定)最終改正 平成元年6月28日

(趣旨)

第1 大学共同利用機関(岡崎国立共同研究機構に置かれる研究所を含む。以下「機関」という。)に置かれる評議員会及び運営協議委員会(以下「評議員会等」という。)の運営については、この規程の定めるところによる。

(会長及び副会長)

第2 評議員会等に会長及び副会長各1人を置く。

2 評議員会の会長及び副会長は、それぞれ評議員が互選する。

3 運営協議委員会の会長は、運営協議員のうち当該機関の職員にある者のうちから、副会長は、運営協議員のうち当該機関の職員以外の者のうちから、それぞれ運営協議委員会において選出する。

4 会長は、それぞれ評議員会等の会務を総理する。

5 副会長は、それぞれの会長を補佐し、会長に事故があるときはその職務を代理し、会長が欠けたときはその職務を行う。

(招集)

第3 評議員会等は、当該機関の長の求めに応じ、会長がこれを招集する。

(議事)

第4 評議員会等は、それぞれ評議員及び運営協議員の過半数の過半数の出席がなければ、議事を開き

議決をすることができない。

- 2 評議員会等の議事は、それぞれ出席した評議員及び運営協議員の過半数をもって決し、可否同数のときは、会長の決するところによる。

## ○大学共同利用機関の長等の選考基準（抄）

（昭和52年5月2日文部大臣裁定）最終改正 平成元年6月28日

（趣旨）

- 第1 大学共同利用機関（以下「機関」という。）の長（岡崎国立共同研究機構に置かれる研究所の長を含む。以下同じ。）の採用並びに教授、助教授及び助手の採用及び昇任の選考の基準は、これに定めるところによる。

（機関の長の選考基準）

- 第2 機関の長となることができる者は、次の各号の一に該当する者で、人格が高潔で学識がすぐれ、かつ、教育行政に関し識見を有する者とする。
- 一 博士の学位（外国において授与されたこれに相当する学位を含む。）を有する者で、研究教育上の指導能力があると認められる者
  - 二 研究上の業績が前号の者に準ずると認められるもので、研究教育上の指導能力があると認められる者
  - 三 機関又は大学（旧大学令（大正7年勅令第388号）による大学を含む。以下同じ。）において教授の経歴のある者
  - 四 学術行政に関し、高い識見を有すると認められる者

（教授の選考基準）

- 第3 教授となることのできる者は、次の各号の一に該当する者とする。
- 一 博士の学位（外国において授与されたこれに相当する学位を含む。）を有する者
  - 二 研究上の業績が前号の者に準ずると認められる者
  - 三 機関又は大学において教授の経歴のある者
  - 四 機関又は大学において助教授の経歴があり、研究教育上の業績があると認められる者
  - 五 研究所、試験所、調査所等に10年以上在職し、研究上の業績があると認められる者

（助教授の選考基準）

- 第4 助教授となることのできる者は、次の各号の一に該当するものとする。
- 一 第3に規定する教授となることのできる者
  - 二 機関又は大学において助教授又は講師の経歴がある者
  - 三 機関又は大学において3年以上助手又はこれに準ずる職員としての経歴があり、研究教育上の能力があると認められる者
  - 四 修士の学位を有する者で、研究教育上の能力があると認められる者
  - 五 研究所、試験所、調査所等に5年以上在職し、研究上の業績があると認められる者

（助手の選考基準）

- 第5 助手となることのできる者は、次の各号の一に該当する者とする
- 一 学士の称号を有する者
  - 二 前号の者に準ずる能力があると認められる者

## ○人事に関する権限の委任等に関する規程（抄）

（昭和 32 年 7 月 22 日文部省訓令）最終改正 平成 3 年 4 月 10 日

## 人事に関する権限の委任等に関する規程

（趣旨）

第 1 条 任命権、選考の権限その他人事に関する権限の委任等については、法令又は別に定めるもののほか、この規程の定めるところによる。

（任命権）

## 第 3 条

5 文部大臣は、次の各号に掲げる官職を除き、大学共同利用機関の長に当該機関に属する官職についての任命権を委任する。

- 一 大学共同利用機関の長、所長（岡崎国立共同研究機構に置かれる研究所の長に限る.）、副所長、企画調整官、企画調整主幹、実験企画調整室長、研究総主幹、研究調整主幹、対外協力室長、研究主幹、資料主幹及び教授
- 二 大学共同利用機関の局長、部長、次長、課長、室長（行政職俸給表（一）適用者に限る.）、専門官、研究協力専門官及び課長補佐
- 三 大学共同利用機関の評議員及び運営協議員
- 四 大学共同利用機関に附属する施設の長及び室長
- 五 大学共同利用機関の創設準備室の室長、次長及び主幹

10 前各項各号に掲げる官職と同等以上の官職で文部大臣の指定するものについての任命権は、前各項の規定にかかわらず、委任しない。

11 教育公務員特例法施行令（昭和 24 年政令第 6 号）第 3 条の 2 第 3 項第 1 号の規定中「任命権者」とあるのは、教育公務員特例法（昭和 24 年法律第 1 号）第 8 条を準用する場合にあっては、第 5 項から第 7 項までの規定にかかわらず、文部大臣をいうものとする。

## ○教育公務員特例法（抄）

（昭和 24 年 1 月 12 日法律第 1 号）最終改正 平成 3 年 4 月 2 日

## 教育公務員特例法

## 第 1 章 総則

（この法律の趣旨）

第 1 条 この法律は、教育を通じて国民全体に奉仕する教育公務員の職務とその責任の特殊性に基き、教育公務員の任免、分限、懲戒、服務及び研修について規定する。

## 第 2 章 任免、分限、懲戒及び服務

## 第 1 節 大学の学長、教員及び部局長

（採用及び昇任の方法）

第 4 条 学長及び部局長の採用並びに教員の採用及び昇任は、選考によるものとし、その選考は、大学管理機関が行う。

2 前項の選考は、学長については、人格が高潔で、学識がすぐれ、且つ、教育行政に関し識見を有する者について、大学管理機関の定める基準により、学部長については、当該学部の教授会の議に基き、教員及び学部長以外の部局長については、大学管理機関の定める基準により、行わなければならない。

## (休職の期間)

第7条 学長、教員及び部局長の休職の期間は、心身の故障のため長期の休養を要する場合の休職においては、個々の場合について、大学管理機関が定める。

## (任期及び停年)

第8条 学長及び部局長の任期については、大学管理機関が定める。

2 教員の停年については、大学管理機関が定める。

## (服務)

第11条 国立大学の学長、教員及び部局長の服務について、国家公務員法(昭和22年法律第120号)

第96条第1項の根本基準の実施に関し必要な事項は、同法第97条から第105条までに定めるものを除いては、大学管理機関が定める。

## (勤務成績の評定)

第12条 学長、教員及び部局長の勤務成績の評定及び評定の結果に応じた措置は、大学管理機関が行う。

2 前項の勤務成績の評定は、大学管理機関が定める基準により、行わなければならない。

## 第3章 研修

## (研修)

第19条 教育公務員は、その職責を遂行するために、絶えず研究と修養に努めなければならない。

2 教育公務員の任命権者は、教育公務員の研修について、それに要する施設、研修を奨励するための方途その他研修に関する計画を樹立し、その実施に努めなければならない。

## (研修の機会)

第20条 教育公務員には、研修を受ける機会が与えられなければならない。

2 教員は、授業に支障のない限り、本属長の承認を受けて、勤務場所を離れて研修を行うことができる。

3 教育公務員は、任命権者の定めるところにより、現職のままで、長期にわたる研修を受けることができる。

## 第4章 雑則

## (兼職及び他の事業等の従事)

第21条 教育公務員は、教育に関する他の職を兼ね、又は教育に関する他の事業若しくは事務に従事することが本務の遂行に支障がないと任命権者において認める場合には、給与を受け又は受けなくて、その職を兼ね、又はその事業若しくは事務に従事することができる。

2 前項の場合においては、国家公務員たる教育公務員にあっては国家公務員法第101条第1項の規定に基く命令又は同法第104条の規定による承認又は許可を要せず、地方公務員たる教育公務員にあっては地方公務員法第38条第2項の規程により人事委員会が定める許可の基準によることを要しない。

## (教育公務員以外の者に対するこの法律の準用)

第22条 国立又は公立の学校において教員の職務に準ずる職務を行う者、文部省に置かれる究施設、文化施設及び研究施設で政令で定めるもの並びに国立学校設置法(昭和24年法律第150号)第3章の3から第3章の5までに規定する機関の長(同法第3章の3に規定する機関に置かれる研究所で政令で定めるものの長を含む。)並びにその職員のうち専ら研究又は教育に従事する者並びに国立又は公立の専修学校又は各種学校の校長及び教員については、政令の定めるところにより、この法律の規定を準用する。

## ○教育公務員特例法施行令（抄）

（昭和24年1月12日政令第6号）最終改正 平成3年6月28日

## 教育公務員特例法施行令

第3条の2 法第22条の政令で定める研究施設、文化施設及び研修施設は、文部省組織令（昭和59年政令第227号）第71条第1項及び第108条に定める施設等機関とする。

2 法第22条の政令で定める研究所は、国立学校設置法施行令（昭和59年政令第230号）第7条第2項の表に掲げる研究所とする。

3 第1項の施設等機関並びに国立学校設置法（昭和24年法律第150号）第3章の3から第3章の5までに規定する機関の長（前項に規定する研究所の長を含む。以下この項において同じ。）並びにその職員のうち専ら研究又は教育に従事する者については、法第4条、第7条、第8条、第11条、第12条、第19条、第20条及び第21条中国立学校の学長及び教員に関する部分の規定を準用する。この場合において、これらの規定中「大学管理機関」とあるのは次の各号の区別に従って読み替え、これらの機関の長及びその職員をそれぞれ学長及び教員に準ずる者としてこれらの規定を準用するものとする。

一 法第4条第1項及び第8条については、「文部省令で定めるところにより任命権者」

二 法第4条第2項、第7条、第11条及び第12条については、「任命権者」

## 職員定数

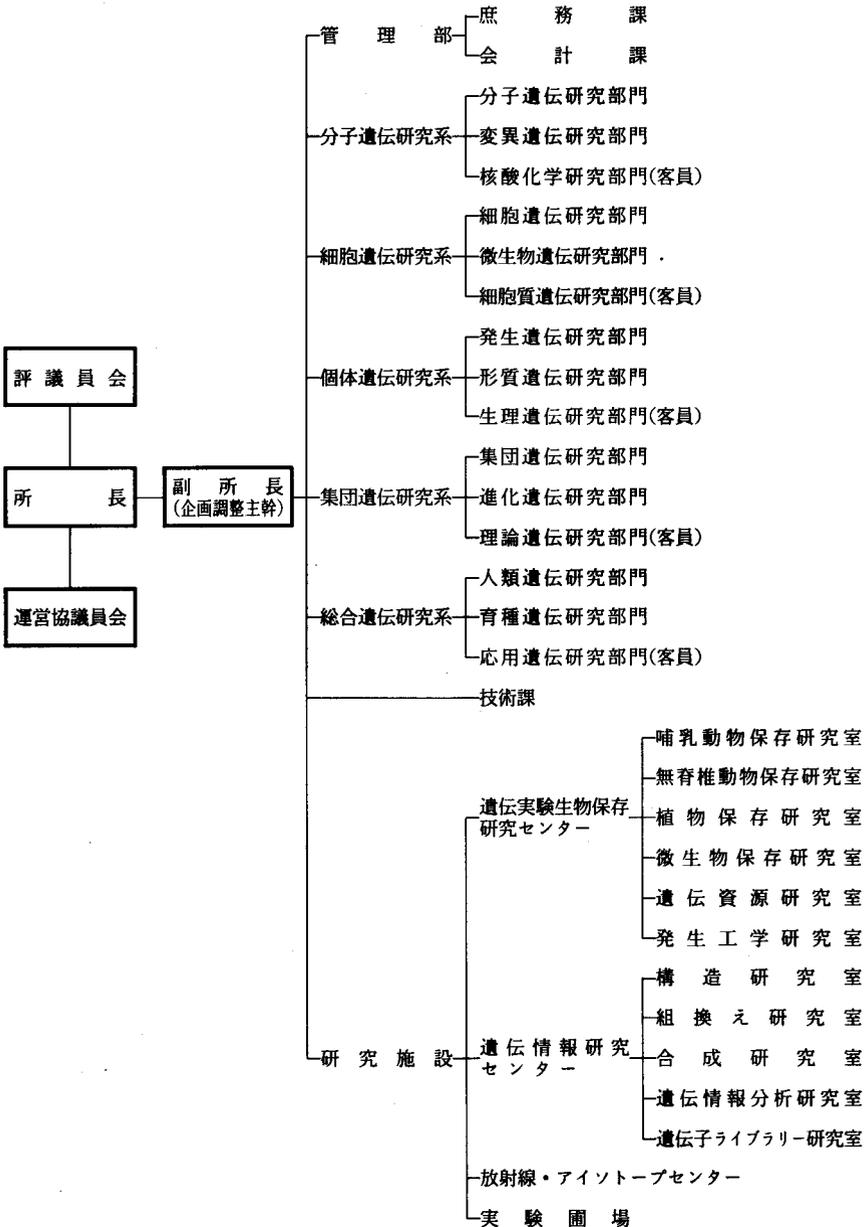
（平成5年12月31日現在）

区分	指定職	行政職（一）	教育職（一）	計
定員	2	42	65	109
現在員	2	42	55	99

## 所長

薬学博士 富澤純一

機構図 (平成5年12月31日現在)



## 国立遺伝学研究所評議員名簿

(会長、副会長のほかは50音順)

(平成5年12月31日現在)

現 職	氏 名	任命年月日	備 考
総合研究大学院大学長	長 倉 三 郎	平成4年6月28日	会 長
実験動物中央研究所長	野 村 達 次	"	副 会 長
早稲田大学人間科学部教授	飯 野 徹 雄	"	
岡崎国立共同研究機構長	井 口 洋 夫	平成5年4月1日	
国立環境研究所長	市 川 惇 信	平成4年6月28日	
京都女子大学家政学部教授	大 井 龍 夫	"	
日本学術振興会理事長	大 崎 仁	平成4年8月1日	
滋 賀 大 学 長	尾 上 久 雄	平成4年6月28日	
国立遺伝学研究所名誉教授	木 村 資 生	"	
東京都立大学名誉教授	佐 野 博 敏	"	
癌研究会癌研究所名誉研究所長	菅 野 晴 夫	"	
国立がんセンター名誉総長	杉 村 隆	"	
かずさDNA研究所副理事長	高 浪 満	"	
岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研究所長	竹 内 郁 夫	"	
広島大学名誉教授	田 中 隆 莊	"	
帝京大学薬学部長	野 島 庄 七	"	
東京大学文学部教授	濱 井 修	"	
近畿大学理工学部教授	山 縣 弘 忠	"	
H S P 研 究 所 長	由 良 隆	"	
東京女子医科大学長	吉 岡 守 正	"	

**国立遺伝学研究所運営協議員名簿**

所外（副会長のほかは50音順）

（平成5年12月31日現在）

官 職 名	氏 名	任命年月日	備 考
生命誌研究館特別研究員	大澤省三	平成4年6月20日	副 会 長
お茶の水女子大学教授（理学部）	石和貞男	〃	
筑波大学教授（生物科学系）	岡田益吉	〃	
クラスター・コア日本遺伝子研究所長	竹内拓司	〃	
京都大学教授（医学部）	武部啓	〃	
京都大学教授（農学部）	常脇恒一郎	〃	
東北大学教授（農学部）	日向康吉	〃	
東京女子大学教授（文理学部）	福田一郎	〃	
学習院大学生命分子科学研究所長	三浦謹一郎	〃	
奈良先端科学技術大学教授 （バイオサイエンス研究科）	吉川寛	〃	

所内（会長のほかは省令順）

官 職 名	氏 名	任命年月日	備 考
教授（細胞遺伝研究系）	森脇和郎	平成4年6月20日	会 長
教授（分子遺伝研究系）	石浜明	〃	
教授（分子遺伝研究系）	瀬野惇二	〃	
教授（細胞遺伝研究系）	堀内賢介	〃	
教授（個体遺伝研究系）	杉山勉	〃	
教授（集団遺伝研究系）	原田明子 （太田）	〃	
教授（集団遺伝研究系）	池村淑道	〃	
教授（総合遺伝研究系）	今村孝子	平成5年1月16日	
教授（総合遺伝研究系）	沖野啓子 （森島）	平成5年4月1日	
教授（遺伝実験生物保存研究センター）	中辻憲夫	平成4年6月20日	
教授（遺伝情報研究センター）	五條堀孝	〃	

## 平成5年度 系統保存委員会委員

(所外委員のみ記載)

官 職 名	氏 名
東京大学教授 (理学部)	岩 槻 邦 男
筑波大学教授 (生物科学系)	岡 田 益 吉
	笠 原 基 知 治
北海道大学教授 (農学部)	木 下 俊 郎
東京農業大学客員教授	斎 尾 乾 二 郎
京都大学教授 (農学部附属植物生殖質研究施設)	阪 本 寧 男
京都大学教授 (農学部)	常 脇 恒 一 郎
日本大学教授 (薬学部)	椿 啓 介
九州大学教授 (農学部)	土 井 良 宏
実験動物中央研究所長	野 村 達 次
熊本大学教授 (遺伝発生医学研究施設)	山 村 研 一
H S P 研究所長	由 良 隆
奈良先端科学技術大学院大学教授 (バイオサイエンス研究科)	吉 川 寛
京都工芸繊維大学教授 (繊維学部)	渡 辺 隆 夫

## 平成5年度 DNA データ研究利用委員会委員

(所外委員のみ記載)

官 職 名	氏 名
癌研究会癌研究所物理部長	伊 藤 彬
神戸大学教授 (理学部)	磯 野 克 己
帝京大学教授 (理工学部)	内 田 久 雄
京都女子大学教授 (家政学部)	大 井 龍 夫
京都大学教授 (化学研究所)	金 久 實
東京大学教授 (医科学研究所)	榊 佳 之
九州大学助教授 (理学部)	館 田 英 典
統計数理研究所教授 (予測制御研究系)	長 谷 川 政 美
名古屋大学教授 (理学部)	堀 寛
大阪大学教授 (細胞工学センター)	松 原 謙 一
京都大学教授 (理学部)	宮 田 隆

## 平成5年度 組換え DNA 実験安全委員会委員

(所外委員のみ記載)

官 職 名	氏 名
日本大学教授 (国際関係学部)	青 木 久 尚
日本大学教授 (国際関係学部)	岩 城 之 徳

研究職員

(平成5年12月31日現在)

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
所 長 副所長 企画調整主幹 (併)	文部教官 所 長	薬学博士	富 澤 純 一	元.10. 1
	文部教官 教 授	理学博士	森 脇 和 郎	( 4. 6. 8)

分子遺伝研究系 研究主幹(併) 石浜 明

分子遺伝研究部門	文部教官 教 授	理学博士	石 浜 明	59. 4. 12
	文部教官 助 手	理学博士	藤 田 信 之	59. 8. 1
	文部教官 助 手	理学博士	山 岸 正 裕	元. 9. 1
	文部教官 助 手	医学博士	豊 田 哲 也	4. 1. 16
変異遺伝研究部門	文部教官 教 授	理学博士	瀬 野 悞 二	63. 1. 1
	文部教官 助教授	理学博士	山 尾 文 明	元. 9. 1
	文部教官 助 手	薬学博士	金 田 澄 子	63. 9. 1
	文部教官 助 手	工学修士	岸 努	5. 4. 1
核酸化学客員研究部門	非常勤 講 師	理学博士	水 本 清 久	2. 4. 1
	非常勤 講 師	博士(工学)	北 上 始	5. 4. 1

細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 森脇和郎

細胞遺伝研究部門	文部教官 教 授	理学博士	森 脇 和 郎	34. 4. 1
	文部教官 助教授	理学博士	今 井 弘 民	42. 3. 2
	文部教官 助 手	農学博士	後 藤 英 夫	元. 7. 1
微生物遺伝研究部門	文部教官 教 授	理学博士	堀 内 賢 介	元. 9. 1
	文部教官 助教授	理学博士	安 田 成 一	51. 4. 1
	文部教官 助 手	理学博士	原 弘 志	59. 4. 12
	文部教官 助 手	理学博士	東 谷 篤 志	2. 3. 1
細胞質遺伝客員研究部門	文部教官 助教授	薬学博士	安 田 秀 世	3. 4. 1
	非常勤 講 師	理学博士	米 川 博 通	63. 4. 1

## 個体遺伝研究系 研究主幹(併) 杉山 勉

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
発生遺伝研究部門	文部教官 教授	Ph. D.	杉 山 勉	47. 9.12
	文部教官 助教授	Ph. D.	藤 澤 敏 孝	49. 4. 1
	文部教官 助 手	工学博士	清 水 裕	60. 6.16
	文部教官 助 手	修士(理学)	服 田 昌 之	4. 2. 1
形質遺伝研究部門	文部教官 教授	理学博士	廣 瀬 進	61. 6. 1
	文部教官 助教授	農学博士 理学博士	村 上 昭 雄	40.11.16
	文部教官 助 手	理学修士	湊 清	42. 5. 1
	文部教官 助 手	農学博士	山 田 正 明	40. 6. 1
生理遺伝客員研究部門	文部教官 教授	理学博士	半 田 宏	5. 4. 1
	非常勤講師	理学博士	小 泉 修	3. 4. 1

## 集団遺伝研究系 研究主幹(併) 原田(太田)朋子

集団遺伝研究部門	文部教官 教授	Ph. D. 理学博士	原 田 朋 子 (太田)	44. 4. 1
	文部教官 助教授	Ph. D.	田 嶋 文 生	元 8. 1
	文部教官 助 手	理学博士	高 野 敏 行	5. 3.16
進化遺伝研究部門	文部教官 教授	理学博士	池 村 淑 道	60. 4. 1
	文部教官 助教授	Ph. D.	斎 藤 成 也	3. 1.16
	文部教官 助 手	学術博士	森 山 悦 子	63.11.16
	文部教官 助 手	農学博士	松 本 健 一	63. 4. 1
理論遺伝客員研究部門	文部教官 教授	理学博士	高 畑 尚 之	4. 4. 1
	文部教官 助教授	理学博士	館 田 英 典	5. 4. 1

## 総合遺伝研究系 研究主幹(併) 今村 孝

人類遺伝研究部門	文部教官 教授	医学博士	今 村 孝	61. 4. 1
	文部教官 助教授	理学博士	藤 山 秋 佐 夫	62.12.16
	文部教官 助教授	医学博士	資 来 聰	57. 9. 1
	文部教官 助 手	医学博士	中 島 衡	61. 5. 1

部門別	官職名	学位	氏名	任用年月日
育種遺伝研究部門	文部教官 教授	農学博士	沖野啓子 (森島)	36. 4. 1
	文部教官 助教授	農学博士	佐野芳雄	50.11. 1
	文部教官 助手	農学博士	平岡洋一郎 (佐藤)	58. 3. 16
	文部教官 助手	農学博士	平野博之	63.12. 1
応用遺伝客員研究部門	文部教官 教授	医学博士	渡邊武	62. 4. 1
	非常勤講師	農学博士	米澤勝衛	63. 4. 1

## 研究施設

遺伝実験生物保存研究センター センター長(併) 沖野(森島)啓子

哺乳動物保存研究室	文部教官 助教授	理学博士	城石俊彦	59. 9. 16
	文部教官 助手	医学博士	宮下信泉	61. 7. 1
無脊椎動物保存研究室	文部教官 助手	農学博士	上田均	62.10. 1
	文部教官 助教授	農学博士	西村昭子	49. 5. 16
微生物保存研究室	文部教官 助手	農学修士	金丸研吾	5. 9. 1
	文部教官 助教授	Ph.D. 理学博士	館野義男	63. 4. 1
遺伝資源研究室	文部教官 教授	理学博士	中辻憲夫	3. 9. 1
発生工学研究室	文部教官 助手	理学博士	白吉安昭	3.12. 1

遺伝情報研究センター センター長(併) 瀬野悍二

構造研究室	文部教官 助教授	理学博士	嶋本伸雄	63. 7. 16
	文部教官 助手	理学博士	永井宏樹	4. 4. 1
組換え研究室	文部教官 教授	理学博士	桂勲	3.12. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	石原健	4. 4. 1
合成研究室	文部教官 助手	理学博士	林茂生	2. 7. 1
	文部教官 教授	理学博士	五條堀孝	58. 9. 1
遺伝情報分析研究室	文部教官 助手	博士(理学)	池尾一穂	4. 6. 1
	文部教官 助教授	理学博士	小原雄治	元. 3. 1
遺伝子ライブラリー研究室	文部教官 助手	理学博士	安達佳樹	4. 4. 1

放射線・アイソトープセンター センター長(併) 定家義人

	文部教官 助教授	理学博士	定家義人	43. 4. 1
--	----------	------	------	----------

実験圃場 圃場長(併) 佐野芳雄

	文部教官 助手	農学博士	中村 郁 郎	63. 7. 1
--	---------	------	--------	----------

## 名誉教授

氏 名	職 名	称号授与年月日
木 村 資 生	元国立遺伝学研究所教授	63. 7. 5
三 浦 謙 一 郎	学習院大学生命分子科学研究所長	63. 7. 5
松 永 英	前国立遺伝学研究所長	2. 2. 22
黒 田 行 昭	元国立遺伝学研究所教授	2. 7. 9

## 名誉所員

氏 名	職 名	称号授与年月日
酒 井 寛 一	元国立遺伝学研究所応用遺伝部長	48. 6. 1
森 脇 大 五 郎	元国立遺伝学研究所長	50. 3. 13
大 島 長 造	元国立遺伝学研究所生理遺伝部長	54. 4. 1
岡 彦 一	元国立遺伝学研究所応用遺伝部長	55. 4. 2
田 島 彌 太 郎	元国立遺伝学研究所長	58. 10. 4

## 事務職員 (管理部)

職 名	氏 名	任用年月日
管 理 部 長	海 老 原 昭	3. 4. 1
庶 務 課 長	宮 地 秀 夫	5. 4. 1
会 計 課 長	結 城 義 久	5. 4. 1
庶 務 課 課 長 補 佐	山 本 昭	4. 3. 1
会 計 課 課 長 補 佐	岩 城 英 一	37. 9. 1
庶 務 係 長	宮 原 和 臣	3. 4. 1
人 事 係 長	酒 井 清 人	61. 4. 1
研 究 協 力 係 長	堀 田 昭 久	3. 4. 1
共 同 研 究 係 長	山 本 勉	45. 4. 1
情 報 資 料 係 長	櫻 田 芳 男	3. 11. 1
管 財 係 長	佐 藤 隆 司	5. 4. 1
経 理 係 長	山 添 均	4. 4. 1
用 度 係 長	四ノ宮 立 男	3. 4. 1

職 名	氏 名	任 用 年 月 日
施 設 係 長	前 田 佳 宏	4. 4. 1
庶 務 主 任	鈴 木 和 代	32. 4. 1
秘 書 主 任	山 本 ず み 子	39. 9. 1
共 同 研 究 主 任	岩 田 英 子	48. 3. 1
経 理 主 任	岩 崎 久 治	49. 3. 1
用 度 主 任	梅 澤 三 郎	48. 4. 1
管 財 主 任	新 田 清 隆	5. 1. 1
庶 務 係 員(併)	佐 藤 良 和	4. 4. 10
人 事 係 員	長 澤 明 子	50. 3. 15
研 究 協 力 係 員	太 田 勝 広	5. 4. 1
用 度 係 員	渡 邊 晃	4. 4. 1
施 設 係 員	上 田 敏 史	4. 4. 1

## 技術職員 (技術課)

職 名	氏 名	任 用 年 月 日
技 術 課 長	三 田 旻 彦	35. 7. 20
動 物 班 班 長	原 田 和 昌	34. 4. 1
機 器 班 班 長	原 雅 子	30. 6. 2
動 物 班 第 一 技 術 係 長	深 瀬 与 惣 治	32. 8. 1
動 物 班 第 二 技 術 係 長	榑 原 勝 美	34. 6. 1
植 物・微 生 物 班 第 一 技 術 係 長	妹 尾 治 子	38. 1. 1
植 物・微 生 物 班 第 二 技 術 係 長	原 登 美 雄	46. 9. 1
機 器 班 第 一 技 術 係 長	谷 田 勝 教	63. 4. 1
機 器 班 第 二 技 術 係 長	井 出 正 美	32. 4. 1
動 物 班 第 一 技 術 係 員	杉 本 典 夫	37. 11. 1
動 物 班 第 二 技 術 係 員	山 本 博	3. 4. 1
植 物・微 生 物 班 第 一 技 術 係 員	永 口 貢	63. 4. 1
植 物・微 生 物 班 第 一 技 術 係 員	宮 林 登 志 江	2. 4. 1
植 物・微 生 物 班 第 二 技 術 係 員	芦 川 祐 毅	35. 4. 1
機 器 班 第 一 技 術 係 員	石 井 百 合 子	39. 7. 1
機 器 班 第 一 技 術 係 員	芦 川 東 三 夫	36. 4. 16

職 名	氏 名	任用年月日
機器班第二技術係員	境 雅 子	47.12.5
機器班第二技術係員	浦 崎 美佐子	5.4.1

## 退職者 転出者等

職 名	氏 名	在職期間	備 考
庶務課長	二宮 茂 男	平 4.4.1~ 平 5.6.30	米子工業高等専門学校 事務部長へ
会計課長	馬 淵 憲 治	平 3.4.1~ 平 5.3.31	埼玉大学経理部 経理課長へ
庶務課研究協力係長	大 平 洋	平 2.3.1~ 平 5.3.31	静岡大学庶務部 庶務課へ
庶務課研究協力係員	中 尾 聡	平 2.4.1~ 平 5.3.31	静岡大学厚生課へ
遺伝情報研究センター助手	鶴 川 義 弘	平 2.11.1~ 平 5.9.30	農林水産省農業生物 資源研究所遺伝資源 第二部 DNA 管理情報 科長へ
実験圃場助手	中 村 郁 郎	昭63.7.1~ 平 5.3.31	(財)岩手生物工学研究 センター遺伝子工学研 究部主席研究員へ

## 平成5年度外国人研究員

氏 名	所 属	研究課題	受入研究部門	研究期間
Thangirala Sudha	Vijaya 病院 インドダウン症研究会	染色体異常とユビキチン 代謝異常	変異遺伝研究部門	平 4.12.1~ 平 5.11.30
Chatterji Dipanker	インド細胞分子生物学 センター E 級研究員	RNA ポリメラーゼの機 能—構造相関と動態の解 析	分子遺伝研究部門	平 5.12.2~ 平 6.4.20

## 大学院学生 (特別研究学生)

氏 名	研究課題	所 属	受入期間
小清水右一	始原生殖細胞の分化・増殖機序の解析	大阪大学大学院 医学研究科 (博士課程)	平 5.4.1~ 平 6.3.31
川 上 穰	線虫 C. elegans の NaF 耐性突然変異体 の解析	東京大学大学院 理学系研究科 (博士課程)	平 5.4.1~ 平 6.3.31
王 文 樵	イシサンゴ類の発生及び分類学的研究	東京水産大学大学院 水産学研究科 (博士課程)	平 5.4.1~ 平 6.3.31
菱 田 竜 一	線虫における形態形成の分子機構の解明	京都大学大学院 理学研究科 (博士課程)	平 5.10.1~ 平 6.9.30

許 昭 俊	肝ガン発生機構の分子生物学的研究	大阪大学大学院 医学研究科 (博士課程)	平. 5. 10. 1~ 平. 6. 9. 30
八木克将	ショウジョウバエの遺伝子発現	名古屋大学大学院 理学研究科 (博士課程)	平. 5. 10. 1~ 平. 6. 9. 30

## 受託研究員

氏 名	所属会社名又は機関名	研 究 課 題	受入れ研究部門等	研究期間
浅野 幸康	株式会社 創薬技術研究所	ウイルス増殖の分子機構の研究	分子遺伝研究部門	平. 5. 4. 1~ 平. 6. 3. 31
石田 功	キリンビール株式会社 基盤技術研究所	分離したヒト染色体の一部を安定に保持し、発現するトランスジェニックマウスの作製法の確立	人類遺伝研究部門	平. 5. 4. 1~ 平. 6. 3. 31
川瀬栄八郎	明治乳業株式会社 ヘルスサイエンス研究所 所発生物学研究室	マウスの胚細胞を使った発生工学的研究	遺伝実験生物保存 研究センター 発生工学研究室	平. 5. 4. 1~ 平. 6. 3. 31
新井 理	帝人株式会社 システム技術研究所	生命情報データベース・システムに関する研究	遺伝情報研究センター 遺伝情報分析研究室	平. 5. 4. 1~ 平. 6. 3. 31
宮内 泰代	株式会社 東洋検査センター 臨床検査部	各種生体内物質の微量測定	放射線・アイソトープセンター	平. 5. 4. 1~ 平. 6. 3. 31

## C. 土地及び建物

(平成5年12月31日現在)

土地総面積	105,313 m <sup>2</sup>	
内訳	研究所敷地	96,069 m <sup>2</sup>
	宿舍敷地	9,244 m <sup>2</sup>
建物総面積(建面積)	11,364 m <sup>2</sup>	
	(延べ面積)	19,680 m <sup>2</sup>

## 建物内訳

区 分	構 造	面 積	
		建面積 (m <sup>2</sup> )	延べ面積 (m <sup>2</sup> )
本館	鉄筋コンクリート造り3階建	1,602	4,763
職員集会所	木造平屋建	82	82
自動車車庫	木造かわらぶき平屋建	52	52
公務員宿舎(21棟)	木造かわらぶき平屋建	1,250	1,250
放射線実験室	鉄筋平屋建一部地下室	392	535
自転車置場及び物置	木造平屋建	41	41
特別蚕室	ブロック造り一部地下	194	218
ボイラー室	鉄骨造り平屋建	97	97
研修室・腊葉庫	鉄筋コンクリート造り2階建 屋根鉄板葺	233	465
渡り廊下	鉄骨造り屋根防水モルタル塗	8	8
孵卵育雛舎	鉄筋コンクリート造り平屋建	290	290
ファイロン温室(2棟)	鉄骨造りファイロン張り平屋建	284	284
堆肥舎	鉄骨造り波型スレート葺平屋建	128	128
鶏糞処理小屋	ブロック造り平屋建	6	6
麦温室	鉄骨一部補強コンクリート ブロック造り平屋建	146	146
図書館	鉄筋コンクリート造り3階建	258	803
ネズミ飼育舎	鉄筋コンクリート造り平屋建	539	557
水源ポンプ小屋	鉄骨造り平屋建	5	5
内部照射実験棟 及び付属棟	鉄筋コンクリート造り平屋建	591	645
ベレット温室	鉄骨造り平屋建ガラス張	93	93
遺伝実験生物保存研究棟	鉄筋コンクリート造り2階建	370	739
機械棟	鉄骨造り平屋建	380	380
廃棄物保管庫	鉄筋コンクリート平屋建	46	46
ネズミ付属棟	〃	388	388

カイコ付属棟	鉄筋コンクリート平屋建	254	254
微生物付属棟	〃	263	263
排水処理棟	〃	56	56
組換えDNA実験棟	鉄筋コンクリート造り2階建	79	158
野生イネ温室	鉄骨平屋建 一部鉄筋コンクリート	185	185
動物飼育装置上屋	鉄骨平屋建	32	32
実験圃場管理棟	鉄筋コンクリート造り平屋建	407	407
焼却炉上屋	鉄骨造り波型スレート葺平屋建	22	22
遺伝情報研究センター棟	鉄筋コンクリート造り5階建	446	1,855
隔離温室	鉄筋コンクリート造り 及び鉄骨造り平屋建	300	300
水田温室	鉄筋コンクリート造り 及鉄骨造り平屋建	183	183
桑温室	鉄骨造り 及鉄筋コンクリート造り平屋建	305	305
RI実験棟	鉄筋コンクリート造り5階建	563	2,382
中央機械室	鉄筋コンクリート造り1階建	344	346
RIポンプ室	鉄筋コンクリート造り1階建	30	30
テニスコートシャワー室	鉄筋コンクリート造り平屋建	11	11
屋外便所	ブロック造り一部コンクリート	5	5
研究員宿泊施設	鉄筋コンクリート造り3階建	346	807
廃棄物保管庫	ブロック造り平屋建	58	58
計		11,364	19,680

## D. 予 算 (平成5年度当初予算)

人件費	729,984 (単位: 千円)
物件費	791,010
合計	1,520,994

## E. 奨学寄附金・受託研究費

平成5年度奨学寄附金受入

奨学寄附金 10,300千円

寄附者の名称、職業及び氏名 (法人の場合は、法人名、 主たる事務所の所在地及び代表者名)	寄附金歳入 納付額	寄附金の目的及び条件	備考
静岡県三島市谷田 1706 番地の 8 財団法人 遺伝学普及会 会長 近藤典生	円 25,000	石原健の研究助成	
神奈川県川崎市中原区上小田中1015番地 富士通株式会社 代表取締役 関澤 義	3,000,000	生命情報学と分子進化に関する研究及び研究発表の助成	
神奈川県横浜市金沢区福浦1丁目13番5 キリンビール株式会社 基盤技術研究所所長 高橋禮介	1,000,000	ヒト染色体分離に関する 藤山 秋佐夫への研究助成	
埼玉県大宮市土屋 1795-24 有限会社 古環境研究所 代表取締役 杉山真二	1,000,000	植物遺体の DNA 分析に関する研究助成	
北海道夕張郡長沼町東 5 線北 15 番地 (株) 北海道グリーンバイオ研究所 代表取締役 藤野貞雄	300,000	農学に関する研究助成	
静岡県焼津市大覚寺 655 コミュニティーホスピタル甲賀病院 院長 甲賀 新	500,000	人類遺伝学の研究助成	
福島市松川町字小家場 37 番地 株式会社 創薬技術研究所 取締役社長 森岡茂夫	1,000,000	インフルエンザウイルス増殖 機構の研究助成	
静岡県三島市谷田 1706 番地の 8 財団法人 遺伝学普及会 代表者 近藤典生	250,000	中島衛の研究助成	
静岡県磐田郡豊田町東原 700 日本たばこ産業株式会社 遺伝育種研究所所長 久保友明	1,500,000	佐藤洋一郎のイネ遺伝資源収 集調査に対する研究助成	
神奈川県川崎市中原区上小田中1015番地 株式会社 富士通研究所 代表取締役社長 大槻幹雄	1,000,000	遺伝子のコーティング領域の 推定に関する研究助成	
静岡県御殿場市駒門 1 丁目 135 番地 中外製薬(株)創薬開発研究所 所長 高頭迪明	500,000	ES 及び PGC 細胞の発生工学 に関する基礎的研究助成。	
合 計	10,300,000		

## 平成5年受託研究受入

受託研究費 33,177千円

受託研究課題	代表者・所属・氏名	受託研究期間	受託研究 依頼者	当該年度の 受入金額
イネ・ゲノムの効率的解析手法及び遺伝子分子地図の利用技術の開発	育種遺伝研究部門 助教授 佐野 芳雄	自平成5年8月13日 至平成6年3月20日	農業生物資源研究所	2,605,000
筋ジストロフィー及び関連疾患の成因と治療法開発に関する研究	人類遺伝研究部門 助教授 宝来 聰	自平成5年11月16日 至平成6年3月31日	国立精神・神経センター 武蔵病院	1,000,000
始原生殖細胞の操作技術の研究	哺乳動物保存研究室 教授 中辻 憲夫	自平成5年8月20日 至平成6年3月31日	明治乳業株式会社	9,849,000
特異的発現を示す遺伝子のスクリーニング法の開発	遺伝子ライブラリー研究室 助教授 小原 雄治	自平成5年9月22日 至平成6年2月28日	理化学研究所	2,266,000
転写における生体ナノ機構の実験系の開発	構造研究室 助教授 嶋本 伸雄	自平成5年10月20日 至平成6年3月20日	農業生物資源研究所	17,457,000
合 計				33,177,000

## F. 日 誌

2月24日	第36回運営協議委員会
3月11日	第20回評議員会
4月10日	一般公開
5月7日	第37回運営協議委員会
6月21日	第38回運営協議委員会
6月30日	第21回評議員会
9月21日	第39回運営協議委員会
10月30日	公開講演会

## 教授会議

1月12日	第169回	2月16日	第170回
3月24日	第171回	4月13日	第172回
4月27日	第173回	5月11日	第174回
5月25日	第175回	6月15日	第176回
7月13日	第177回	9月14日	第178回
9月28日	第179回	10月26日	第180回
11月9日	第181回	11月24日	第182回

## 外国からの主な来訪者

- 平成3年12月1日～ Thangirala Sudha, Down's Research Society, India  
 平成5年1月6日 Katuo Tokunaga, Zoological Institute, University of Basel, Switzerland
- 1月11日 Ashok Kumar, University of Edinburgh, U.K.  
 " Sankar Adhya, National Cancer Institute, NIH, U.S.A.  
 " Hermann Bujard, Universität Heidelberg, Germany  
 " Richard A. Young, Whitehead Institute, Nine Cambridge Center, U.S.A.
- 1月28日 Richard Yanagihara, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, NIH, U.S.A.
- 3月8日 Svante Pääbo, University of Munich and Zoological Museum in Munich, Germany  
 " Ranajit Chakraborty, University of Texas, U.S.A.
- 3月10日 Rainer Fuchs, European Molecular Biology Laboratory, Germany
- 3月18日 G. C. Kurland, Uppsala University, Sweden
- 3月31日 井上正順, University of Medicine and Dentistry of New Jersey, U.S.A.
- 5月8日～19日 Robert E. Glass, University of Nottingham, U.K.
- 5月20日～6月19日 Blair Lawley, University of Melbourne, Australia
- 5月26日 林 中茂, 国立嘉義農業專科學校, 台湾  
 " 李 成章, 国立中興大学農學院, 台湾  
 " 胡 懋麟, 国立嘉義農業專科學校, 台湾  
 " 劉 清榕, 国立台湾大学農學院農業推廣研究所, 台湾
- 6月10日～11日 Ju-Gyeng Kang, ソウル国立大学, 韓国
- 7月6日 鈴木 理, MRC Laboratory of Molecular Biology, U.K.
- 7月20日～22日 Bruce S. Weir, North Carolina State University, U.S.A.
- 7月21日～28日 Charles N. David, University of Munich, Germany  
 " Thomas Bosch, University of Munich, Germany
- 7月25日～30日 湯 陵華, 江蘇省農業科学院作物研究所, 中国
- 7月26日～30日 王 象坤, 北京農業大学, 中国
- 7月30日～8月1日 Robert A. Steen, Cornell University, U.S.A.
- 8月2日～5日 Jung-Hye Roe, ソウル国立大学, 韓国
- 8月6日～7日 Joe Inselburg, Dartmouth Medical School, U.S.A.

- 8月15日~11月14日 G. Subramanya, Mysore University, India  
 8月17日~9月9日 Chitrakon Songkran, Pathumthani Rice Research Center, Thailand
- 8月25日~27日 Deb Overath, University of Georgia, U.S.A.  
 8月27日~ Ashok Kumar, University of Edinburgh, U.K.  
 9月3日 Susumu Ohno, Beckman Research Institute of the City of Hope, U.S.A.
- 9月3日~8日 Mercy K. Uyenoyama, Duke University, U.S.A.  
 9月6日 Charles Thompson, University of Basel, Switzerland
- 9月6日~8日 根井正利, Pennsylvania State University, U.S.A.  
 9月7日~8日 M. A. Zargar, Banaras Hindu University, India  
 " T. K. Kundu, Indian Inst. Sci., India  
 " P. K. Burma, Indian Inst. Sci., India  
 " K. P. Gopinathan, Indian Inst. Sci., India  
 " Xue Wu, Shanghai Inst. Biochem., 中国  
 " Shin-Feng Tsai, Natl. Yang-Ming Med. College
- 9月7日~11日 D. C. Sy, University of Santo Tomas, Philippines  
 9月10日~11日 T. K. Kundu, Indian Inst. Sci., India  
 9月11日~14日 Kevin K. Murakami, University of Vermont, U.S.A.
- 9月27日~10月25日 Supan Fucharoen, Khon Kaen University, Thailand  
 10月4日 Tommaso Meo, Institut Pasteur, France  
 10月11日~17日 王鳳山, 天津市労働衛生職業病研究所, 中国  
 10月5日~ Dzhanibek M. Adyshev, Institute of Biochemistry and Physiology, Kyrgyz Academy of Sciences, Kyrgyz
- 10月29日~11月1日 Ian Tessrey, Freiburg University, Germany  
 " Martin Schwemmler, University of Freiburg, Germany
- 10月31日~11月3日 Peter Staeheli, University of Freiburg, Germany  
 11月9日 V. A. Zakian, Fred Hutchinson Cancer Research Institute, U.S.A.
- 11月16日~19日 Robin Lovell-Badge, National Institute for Medical Research, U.K.  
 11月18日 G. Yagil, The Weizmann Institute of Science, Israel
- 11月22日~26日 Boriboon Somrith, Department of Agriculture, Thailand  
 11月25日~26日 大熊芳明, The Rockefeller University, U.S.A.  
 12月1日~ Ritta H. Mikkola, Uppsala University, Sweden

- 12月1日～ Stefanie A. Margaron, University of Nottingham Medical School, U.K.
- 12月3日～ Dipankar Chatterji, Centre for Cellular and Molecular Biology, India
- 12月15日 Otto Ritter, German Cancer Research Institute, Germany
- 12月19日～21日 Mark Stoneking, University of Pennsylvania, U.S.A.
- 12月20日～21日 Ira Herskowitz, University of California, U.S.A.
- ” Flora Banuett, University of California, U.S.A.

## G. 諸 会

研究活動を促進するため、次の会合を行なう。

### 内部交流セミナー

研究所内における研究経過を討論する会で、盛夏の時期を除き毎週金曜日にかれる。

### Biological Symposia

- 第381回 1月6日 Molecular basis for the functional specificities of homeotic proteins (Katuo Tokunaga)
- 第382回 1月11日 1 Structure-function studies of RNA polymerase sigma subunits (Ashok KUMAR)  
2 How to tightly control transcription of a gene in E. coli and in mammalian cells (Hermann BUJARD)  
3 New components of the yeast RNA polymerase II transcription initiation complexes (Richard A. YOUNG)
- 第383回 1月28日 Insights into the peopling of Melanesia and Australasia from sequence and phylogenetic analysis of HTLV-I virus genes (Richard Yanagihara)
- 第384回 3月1日 中止
- 第385回 3月8日 The evolution of mammalian mitochondrial DNA (Svante Pääbo)
- 第386回 3月8日 Population dynamics of DNA fingerprinting patterns within and between populations (Ranajit Chakraborty)
- 第387回 3月10日 Databases of EMBL and tools for finding protein functions (Rainer Fuchs)
- 第388回 3月18日 Optimal growth in nature: The influence of bad times (G.C. Kurland)
- 第389回 3月31日 A molecular genetic approach to protein folding: An intramolecular chaperone (井上正順)

- 第390回 3月30日 Molecular biology of rice tungro virus: Approaches to control by non-conventional protection (Roger Hull)
- 第391回 5月13日 Genetic and immunological dissection fo RNA polymerase (Robart E. Glass)
- 第392回 6月16日 Tyr R mediated regulation of the tyr P gene (Blair Lawley)
- 第393回 7月6日 Rules underlying DNA recognition by  $\alpha$ -helices of transcription factors (鈴木 理)
- 第394回 7月21日 Population genetics issues in the forensic uses of DNA (Bruce S. Weir)
- 第395回 8月4日 The response of streptomyces coelicolor upon oxidative treatment (Jung-Hye Roe)
- 第396回 7月22日 Molecular analysis of head formation in Hydra (Thomas Bosch)
- 第397回 9月3日 Immortal genes: Several examples of interesting atavistic mutations (Susumu Ohno)
- 第398回 9月6日 Streptomyces-curators of obsolete metabolic pathways? (Charles Thompson)
- 第399回 9月8日 Estimation of origin times and substitution rates in multigene families (Marcy K. Uyenoyama)
- 第400回 10月4日 The TCR  $\beta$  chain: CDR without HVR? and constancy of its thymocyte repertoire in man (Tommaso Meo)
- 第401回 10月7日 中止
- 第402回 11月1日 Mx-proteins: interferon-induced GTP ases with antiviral activity (Peter Staeheli)
- 第403回 11月9日 Loss of a yeast telomere: Arrest, recovery, and chromosome loss (V. A. Zakian)
- 第404回 11月18日 Sry and the molecular genetics of mammalian sex determination (Robin Lovell-Badge)
- 第405回 11日18日 Paranemic states of DNA and their role in DNA unwinding (G. Yagil)
- 第406回 12月15日 IGD-genome information management system (Otto Ritter)
- 第407回 12月20日 1 Role of cel signalling and homeodomain proteins in the life cycle of the smut fungus Ustilago maydis (Flora Banuett)  
2 Control of the cell cycle and cell polarity in budding yeast (Ira Herskowitz)

## 三島遺伝談話会

- 第404回 1月27日 Protein-priming DNA replication を行うフェージ M2,  $\phi$ 29 の primer protein の解析 (岸 努)
- 第405回 2月17日 タンパク質の X 線結晶構造解析—その必要性と現状— (白木原康雄)
- 406回 2月4日 エンハンサートラップ法によるショウジョウバエ成虫原基におけるパターン形成機構 (極座標モデル) へのアプローチ (後藤 聡)
- 第407回 4月21日 マウス生殖細胞系列に発現する Zn-finger 蛋白質 (野瀬俊明)
- 第408回 4月20日 大腸菌及びラン藻における浸透圧応答の分子メカニズム (金丸研吾)
- 第409回 6月4日 ジーンターゲティングによる Wnt-3A 遺伝子の機能解析 (高田 慎治)
- 第410回 7月8日 ショウジョウバエ神経回路形成の分子機構—RP ニューロンの場合— (千葉 晶)
- 第411回 9月27日 アサガオの色素発現とトランスポゾン (飯田 滋)
- 第412回 11月19日 脊柱形成における胚組織間相互作用の分子遺伝学的解析 (今井賢治)
- 第413回 11月25日 真核生物の RNA ポリメラーゼ II による転写開始の際に転写基本因子 TFIIE が果たす制御的役割について (大熊芳明)
- 第414回 12月13日 フォークヘッド遺伝子ファミリーによるマウスの体軸と中枢神経系発生の分子機構 (佐々木 洋)

## H. 栄 誉

集団遺伝研究系助教授田嶋文生は、DNA 多型に関する統計学的研究により、平成 5 年 9 月 18 日、日本遺伝学会奨励賞を受賞した。

I. 図書及び出版

図書委員長（1993年度） 池 村 淑 道  
 図書委員（ ” ） 沖 野 啓 子・中 辻 憲 夫・今 井 弘 民  
 山 田 正 明・東 谷 篤 志・山 岸 正 裕  
 中 島 衛

1) 蔵 書 数

和 書	3,014 冊	製本雑誌を含む
洋 書	15,698 冊	”
計	18,712 冊	

2) 1993年図書増加冊数

和 書	118 冊	製本雑誌を含む
洋 書	179 冊	”
計	297 冊	

3) 雑 誌

	購 入	寄 増	計	備 考
和 文	27 種	25 種	52 種	
欧 文	139 種	7 種	146 種	国内欧文誌含む
計	166 種	32 種	198 種	

4) 出 版

書 名	ページ数	発行数	配 布 先
国立遺伝学研究所 年報第 43 号	215	700 部	国内研究機関, 大学, 試験場ほか
Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. No. 43	122	800 部	内外研究機関, 大学, 試験場ほか

付

財団法人遺伝学普及会

歴 史

昭和 24 年 6 月 1 日に文部省所轄機関として国立遺伝学研究所が設立されたのを契機に、昭和 25 年 11 月、遺伝学に関する知識の普及とその応用を図ることを目的として設立されたが、昭和 63 年 11 月 1 日に主務官庁である文部省の認可を得て寄附行為の一部を

改正し、その主たる目的を「学術研究の助成及び知識の普及を図る」に改め、学術研究を積極的に助成することになった。

### 事業概況

遺伝学に関する研究、海外渡航費の助成及び遺伝学に関する講演会（セミナー・シンポジウムを含む）・研究会の開催と助成並びに遺伝子に関する雑誌、図書の編集及び会報の発行事業等を行っている。

### 役員

会 長	近藤典生
常務理事	森脇和郎, 五條堀 孝
理 事	富澤純一, 野村達次, 山口彦之, 三浦謹一郎, 黒田行昭, 石浜 明
評 議 員	田島彌太郎, 大島長造, 斎藤日向, 重藤学二, 松永 英, 吉野達治, 高垣善男, 瀬野俣二
監 事	木村資生, 今村 孝, 森島啓子
顧 問	森脇大五郎

---

国立遺伝学研究所年報 第44号

平成6年7月25日 印刷

平成6年7月29日 発行

発行者 富 沢 純 一

国立遺伝学研究所内

編集者 中辻憲夫・田嶋文生

国立遺伝学研究所内

印刷者 笠 井 康 弘

東京都新宿区高田馬場 3-8-8

印刷所 株式  
会社 国際文献印刷社

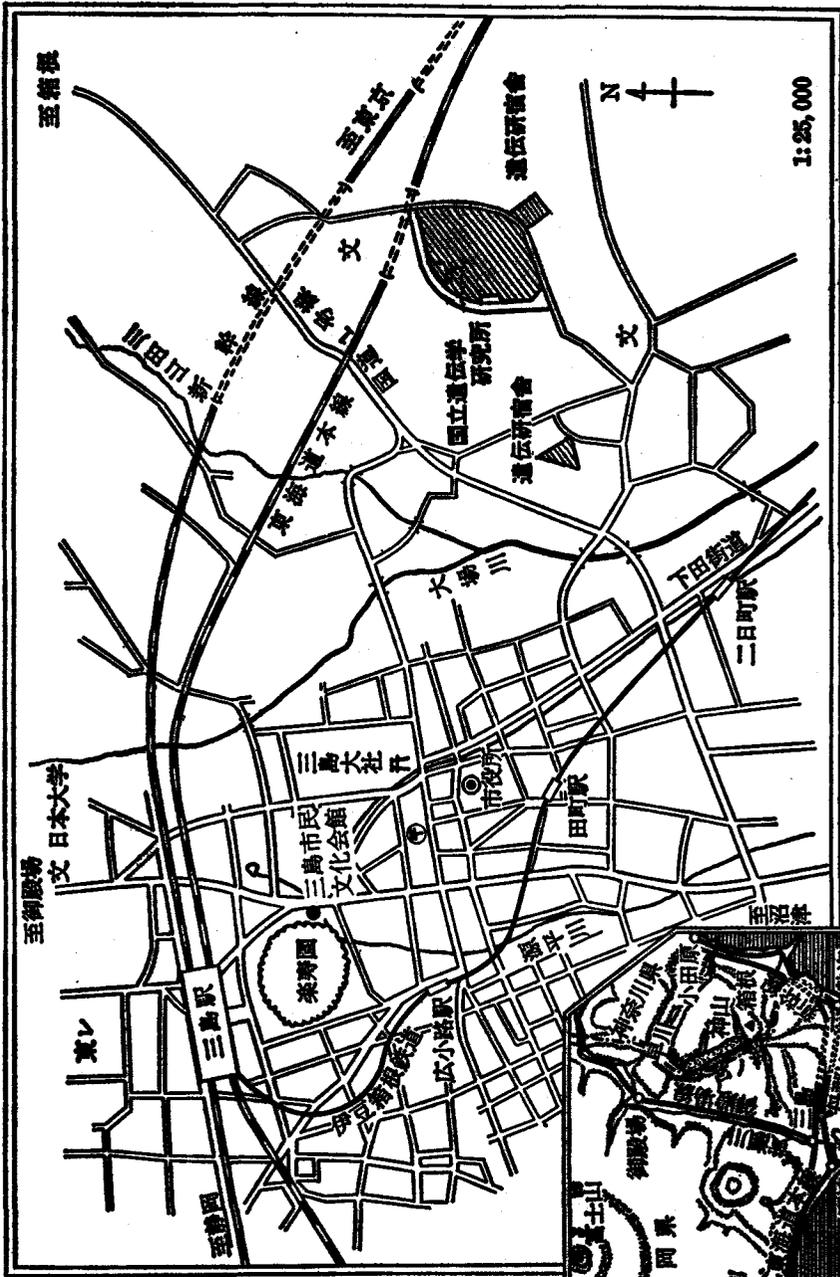
東京都新宿区高田馬場 3-8-8

発行所 国立遺伝学研究所

〒411 静岡県三島市谷田 1111

電 話 代表 (0559) (75) 0771

---



国立民俗学研究所位置図

