

# 国立遺伝学研究所年報

---

第 45 号

---

(平成 6 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	26
B.	細胞遺伝研究系	30
B-a.	細胞遺伝研究部門	30
B-b.	微生物遺伝研究部門	36
B-c.	細胞質遺伝研究部門	41
C.	個体遺伝研究系	43
C-a.	発生遺伝研究部門	43
C-b.	形質遺伝研究部門	47
C-c.	生理遺伝研究部門	54
D.	集団遺伝研究系	56
D-a.	集団遺伝研究部門	56
D-b.	進化遺伝研究部門	58
D-c.	理論遺伝研究部門	63
E.	総合遺伝研究系	64
E-a.	人類遺伝研究部門	64
E-b.	育種遺伝研究部門	71
E-c.	応用遺伝研究部門	77
F.	遺伝実験生物保存研究センター	78
F-a.	哺乳動物保存研究室	78
F-b.	無脊椎動物保存研究室	88
F-c.	植物保存研究室	91
F-d.	微生物保存研究室	91
F-e.	遺伝資源研究室	93
F-f.	発生工学研究室	93
G.	遺伝情報研究センター	95
G-a.	構造研究室	95
G-b.	組換え研究室	96
G-c.	遺伝情報分析研究室	100
G-d.	遺伝子ライブラリー研究室	106
G-e.	遺伝子機能研究室	111
H.	放射線・アイソトープセンター	112
I.	実験園場	115
V.	研 究 活 動	116
A.	研 究 業 績	116
B.	発 表 講 演	134
C.	その他の研究活動	154
VI.	共 同 研 究 事 業	158
VII.	研 究 材 料 ・ 研 究 情 報 の 収 集 と 保 存	164
VIII.	行 事	188
IX.	庶 務	190
A.	沿 革	190
B.	組織 (機構と職員)	190
C.	土地及び建物	212
D.	予 算	212
E.	奨学寄附金・受託研究費	214
F.	日 誌	215
G.	諸 会	218
H.	栄 誉	221
I.	図 書 及 び 出 版	221
付:	財団法人遺伝学普及会	222

# 国立遺伝学研究所年報

第45号 平成6年



国立遺伝学研究所

1995

## I. 巻 頭 言

三年ほど前に、桜の満開な遺伝研をたずねてきた高等学校の同窓で敬愛する銀行家に「この研究所の名前が遺伝学研究所で遺伝研究所でないのはどうしてか。」と尋ねられた。突然のことで返答に困ったあげく「学のつくほうが立派に聞こえるからかな。」とお茶をにごした。それ以来桜が咲く頃になるとこのやり取りを思いだす。

このような問題は英語の表現では起きないように思う。例えば biology, physiology, physics はそれぞれの学問体系としての生物学, 生理学, 物理学を意味する場合と、それぞれの物のことわりや現象を示す場合とがある。genetics も同じで、遺伝学の意味で使われる場合もあり、また学問体系とは関係なく遺伝のことわりや現象を意味することもある。我々が研究の対象とするのは、言うまでもなくことわりや現象であって、体系としての学問ではない。そして、体系としての学問は研究の結果に基づいてつくられるものである。英語の表現が二つの異なる意味を持つのは、欧米では物のことわりや現象の研究の中から学問が生じたからである。これに対し、我が国では、できあがった学問体系を「学」として設定したうえで研究が行われてきた。このような本末の転倒は我が国の研究者の意識や、研究体制の上に大きな影を落としているように思う。

このようなことを考えると私は遺伝研究所の名称のほうが、我々の研究の場所によりふさわしいように思う。しかし、私は決して、遺伝学研究所という厳かな名称に愛着を持ちこすすれ、改変を主張するものではない。ここで留意すべきことは、固定化した学問の意識に捕われず、学問の進展に応じて研究を自由に進めることである。体系としての遺伝学はそれに応じて変革されるべきものであると信じている。

遺伝子の経時的変化を確率過程として取り扱う研究法を開発し、集団遺伝学の進歩に大きな貢献のあった木村資生名誉教授は11月に永眠された。本研究所の発展に貢献された同氏を失ったことは、研究所にとって掛け替えのない損失である。

本年は頻繁な人事の移動があった。5名の研究職員が転出し、1名が退官し、7名が着任した。一割を超える数の職員が入替わったことになる。7名の遺伝学専攻の学生が博士課程を終了し、7名が入学した。内外の研究生は10名を越える。研究人員は適当に流動化されていると思う。特記すべきは、二年にわたり副所長をお願いした森協和郎教授が三月に停年退官されたことである。在任中のご協力に深謝するとともに、後任を瀬野悍二教授にお願いした。

遺伝情報研究センターに遺伝子機能研究室が新設され、これにより、遺伝実験生物保存研究センター遺伝資源研究室の館野義男助教授が、配置換えと同時に教授に昇任した。後任に藤田昌也助手が採用された。変異遺伝研究部門の金田澄子助手はHSP研究所で、また進化遺伝研究部門の森山悦子助手はハーバード大学で研究を進めるため退官した。また、人類遺伝研究部門の中島 衡助手は九州大学医学部に転任した。さらに、育種遺伝研

究部門の佐藤洋一郎助手は静岡大学助教授として、遺伝実験生物保存研究センター哺乳動物保存研究室の宮下信泉助手は香川医科大学助教授としてそれぞれ迎えられた。一方あらたに助手として、金丸研吾（微生物保存研究室）、清野浩明（変異遺伝研究部門）、伊奈康夫（集団遺伝研究部門）、天前豊明（進化遺伝研究部門）、出原賢治（人類遺伝研究部門）、今西 規（遺伝情報研究センター分析研究室）が採用された。

永らく待ち望まれた新研究棟の建設工事が始められた。年度内に完成の見込である。

富 澤 純 一

## II. 研究室一覽

(平成6年12月31日)

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) 石濱 明	分子遺伝研究部門	石濱 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	岸清野 浩 努明
	核酸化学客員研究部門	水本 清久(非) 森川 耿右(非)		
細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 堀内 賢介	細胞遺伝研究部門		今井弘民	後藤明夫
	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	大坪 栄一 森脇 和郎(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	湊山上 田 正 清明均
	生理遺伝客員研究部門	半田 宏	奥村克純	
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	高伊野 奈 敏 行夫 康
	進化遺伝研究部門	池村 淑道	齊藤成也	松本 天 健 一 前 豊 明
	理論遺伝客員研究部門	高畑 尚之	舘田英典	

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	寶来 聡 藤山 秋佐夫	出原 博之	
		育種遺伝研究部門	沖野 啓子 (森島)	佐野 芳雄	平野 博之	
		応用遺伝客員研究部門	渡邊 武也 島本 義也			
研 究 施 設	遺伝実験生物保存研究センター センター長(併) 中辻 憲夫	研 究 室	哺乳動物保存		城石 俊彦	
			無脊椎動物保存		林 茂生	
			植物保存			
			微生物保存		西村 昭子	金丸 研吾
			遺伝資源			藤田 昌也
			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) 五條 堀 孝	研 究 室	構造		嶋本 伸雄	永井 宏樹
			組換え	桂 勳		石原 健
			合成			
			遺伝情報分析	五條堀 孝		池尾 一穂 今西 規
			遺伝子ライブラリー		小原 雄治	安達 佳樹
	遺伝子機能	舘野 義男				
	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) 沖野 啓子					

### 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. ウイルスの転写・複製機構の研究	石浜・豊田
<b>変異遺伝研究部門</b>	
1. マウス細胞周期とユビキチン系	清野・山尾・岸・瀬野
2. 出芽酵母の DNA 複製開始とユビキチン系	岸・山尾・清野・瀬野
3. ユビキチン経路の多様性と細胞機能制御の特異性	山尾・清野・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. DNA 修復に関与する蛋白質の立体構造解析	森川
<b>細胞遺伝研究系</b>	
<b>細胞遺伝研究部門</b>	
1. 染色体進化の細胞遺伝学的研究	今井
<b>微生物遺伝研究部門</b>	
1. 大腸菌及びそのフェージの DNA 複製機構に関する研究	堀内・安田・東谷
2. 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. 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
2. 細菌の細胞質因子の遺伝子作用	大坪
3. 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）	城石・後藤・森脇
4. 哺乳類細胞の増殖制御遺伝子の研究	安田
<b>個体遺伝研究系</b>	
<b>発生遺伝研究部門</b>	
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
2. サンゴの種内および種間の遺伝的多様度の研究	杉山・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    |
| 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. シュ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. 昆虫の変態機構の研究                   | 湊     |

**生理遺伝研究部門**

- |                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| 1. 多色 FISH 法による S 期内 DNA 複製タイミングの解析 | 奥村 |
| 2. 動物細胞遺伝子の発現制御機構                   | 半田 |

**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・伊奈 |
| 2. 分子進化の集団遺伝学的研究       | 原田(太田)・伊奈    |
| 3. 遺伝子系図学              | 田嶋・伊奈        |
| 4. ショウジョウバエの実験集団遺伝学的研究 | 高野           |

**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. 細胞外マトリックス蛋白質・テネイシン X の機能解析        | 松本    |
| 5. ヒト染色体における DNA 複製タイミングの研究          | 天前・池村 |
| 6. 欠失・挿入による塩基配列の進化                   | 斉藤    |
| 7. 人類集団の遺伝的近縁関係                      | 斉藤    |

**理論遺伝研究部門**

- |                  |    |
|------------------|----|
| 1. 生命体科学         | 高畑 |
| 2. 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. サイトカインの細胞内情報伝達機構の解析    | 出原・今村 |
| 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	寶来
5. ミトコンドリア病における病因解析	寶来
6. 癌関連遺伝子, 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	藤山
7. 染色体ソーティングに基づくゲノム解析	藤山
8. ヒトゲノムデータベースの構築に関する研究	藤山
<b>育種遺伝研究部門</b>	
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
<b>応用遺伝研究部門</b>	
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. 栽培植物と近縁野生種の生態遺伝学的研究	島本
<b>遺伝実験生物保存研究センター</b>	
<b>哺乳動物保存研究室</b>	
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
2. 発がんの遺伝機構の研究	宮下・森脇
3. 遺伝的組換えの分子機構の研究	城石
4. マウス形態形成の遺伝的制御	城石
5. マウスゲノム解析研究	城石・宮下・森脇
6. 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
<b>無脊椎動物保存研究室</b>	
1. ショウジョウバエの発生遺伝学	林
<b>微生物保存研究室</b>	
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
3. 大腸菌の細胞分裂遺伝子群	西村
<b>遺伝資源研究室</b>	
1. 枯草菌の孢子形成と遺伝子発現制御に関する研究	藤田
<b>発生工学研究室</b>	
1. マウス胎仔生殖細胞の発生分化機構及び発生工学的操作に関する研究	中辻・白吉
2. 中枢神経系細胞の発生分化と脳組織構築機構に関する研究	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

## 遺伝情報研究センター

### 構造研究室

- |  |       |
|--|-------|
| 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 |

### 組換え研究室

- |  |      |
|--|------|
| 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 |

### 遺伝情報分析研究室

- |                         |           |
|-------------------------|-----------|
| 1. 病原性ウイルスの分子進化         | 五條堀・池尾    |
| 2. モザイク・タンパク質の進化        | 池尾・五條堀    |
| 3. MHC 遺伝子からみた人類の進化     | 今西・五條堀    |
| 4. DNA データベースを用いた遺伝情報解析 | 五條堀・池尾・今西 |

### 遺伝子ライブラリー研究室

- |  |       |
|--|-------|
| 1. 線虫 <i>C. elegans</i> のゲノム解析           | 小原    |
| 2. 線虫 <i>C. elegans</i> 発生における遺伝子発現制御の解析 | 小原    |
| 3. 線虫 <i>C. elegans</i> の遺伝子破壊法の開発と応用    | 安達・小原 |

### 遺伝子機能研究室

- |                               |    |
|-------------------------------|----|
| 1. DNA ならびにタンパク質の分子系統的解析      | 舘野 |
| 2. DNA ならびにタンパク質情報に基づく生物機能の解析 | 舘野 |

## 放射線・アイソトープセンター

- |                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 1. 枯草菌の胞子形成における転写制御に関する研究         | 定家 |
| 2. 枯草菌 <i>secA</i> の胞子形成における役割の研究 | 定家 |
| 3. 枯草菌ゲノム解析                       | 定家 |

## IV. 研究の概要

### A. 分子遺伝研究系

#### A-a. 分子遺伝研究部門

1 分子遺伝研究部門では、教授・石浜 明、助手・藤田信之、山岸正裕、豊田哲也が「原核生物における転写装置の研究」、「真核生物の転写装置及び転写産物修飾装置の研究」及び「RNA ウイルスの転写・複製装置の研究」を進めてきた。これらの研究には、日本学術振興会博士研究員・小林麻己人（現・自治医科大学）、文部省研究留学生・Adyshev, D.（キルギス科学アカデミー・生物工学研究所）、総合研究大学院大学学生・浜松千賀（現・STAFF 先端技術研究所）、東 慶直（現・カリフォルニア大学アーバイン校）、安田二郎（現・アラバマ大学）、木村 誠、草野秀一、根岸智史、村上勝彦、特別研究学生・小林万紀子（東京大学大学院理学研究科、現・米国国立衛生研究所）、鄒 潮（鳥取大学連合大学院農学研究科、現・ノッティンガム大学）、宮尾武孝（京都大学大学院薬学研究科）、総研大研究生・寺社下美樹、安井 潔、外国人研究員・丁 清泉（武漢病毒研究所）、Kumar, A.（エジンバラ大学、現・カリファオルニア大学サンジエゴ校）、Chatterji, D.（インド細胞分子生物学センター）、Margaron, S.（ノッティンガム大学）、Mikkola, R.（ウプサラ大学）、Sharif, K.（ニューヨーク市立大学）、Chung, L. W., Elgin, Y. E. L.（シンガポール工科大学）、委託研究員・浅野幸康（創薬技術研究所）、本田喜員、鈴木淳子（三菱化学総合研究所）が参加し、研究補助員（技能補佐員・桜井仁美、遠藤静子、鈴木久子、金谷葉子、高橋美津恵、渡辺たつ）及び事務秘書（技官・原 雅子）が協力した。

平成6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」、「細胞複製制御」及び「ストレス応答」、一般研究(B)「RNA ポリメラーゼの分子解剖」（石浜 明）、重点領域研究(2)「DNA 及び転写因子との相互作用に関わる RNA ポリメラーゼ上の構造」（藤田信之）、一般研究(C)「大腸菌 RNA ポリメラーゼ $\beta$ サブユニットの構造と機能」（藤田信之）、一般研究(C)「mRNA のキャップ形成を中心とした遺伝情報発現に関わる因子間の連携」（山岸正裕）、奨励研究 A 「インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子解剖」（豊田哲也）、また国立遺伝学研究所特定研究「染色体構築」（代表者・瀬野惇二）の支援を得た。

一方、本研究所共同研究として、次の9件を受け入れ実施した。(1) 8-アジド-GTP 類の合成と RNA ポリメラーゼの構造・機能解析への応用（徳島文理大・葉・丸山徳見）、(2) 放線菌 RNA ポリメラーゼの多様性とプロモーター選択性の解析（広島大・工・新見治）、(3) インフルエンザウイルス遺伝子複製の分子機構（東京工大・生命理工・永田恭介）、(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（京

大・理・和田 明), (5) ポリアミンによる大腸菌遺伝子発現調節 (千葉大・栗・五十嵐一衛), (6) Q $\beta$  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 (帝京大・理工・梶谷正行), (7) 大腸菌 *nar* オペロンの転写制御に対する IHF の効果 (岡山大・歯・高橋浩二郎), (8) 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), (9) 増殖定常期大腸菌 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).

石浜 明は, 「RNA ポリメラーゼを軸とした転写調節機構の研究」で, 平成 6 年度中日文化賞を受賞した.

## I. 原核生物の転写制御機構の研究

原核生物の転写制御の研究は, 個別遺伝子を対象とした研究から, ゲノム全体の遺伝子を対象とした全体論的研究の時代に入った. さまざまの自然環境で, ゲノム上の全遺伝子の発現の相対順位が変動する分子機構の研究である. 当研究室では, この様な転写の包括制御がゲノムの遺伝子の総数より相対的に少数の RNA ポリメラーゼが, 転写対象遺伝子の選択特性の変動によるものであるとの理論を提唱し, その実証を目指した研究を展開してきた.

(1) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニットの分子解剖: サブユニット集合に関与する機能領域の解析 (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 (サブユニット構成;  $\alpha_2\beta\beta'$ ) 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, 21 位より 235 位までが必要十分な領域である (Kimura, M. *et al.* (1994) *J. Mol. Biol.*, **242**, 107-115). この領域内の構造-機能相関について解析するため, この領域内に 20 残基間隔でアラニン-セリン (AS) のジペプチドを挿入し, 合計 11 種類の挿入変異  $\alpha$  サブユニット遺伝子を作製した. 変異  $\alpha$  サブユニットを大量発現・純化し, それらのサブユニット集合能について解析した. ゲルろ過クロマトグラフィーによる解析の結果, 20, 40, 100, 140, 180, 200 の各位置に AS 挿入をもつ変異体が二量体形成をしないか, 或いは, 形成効率が低く, 二量体形成には, この領域の多くの部分に関与することが示唆された. また,  $\beta\beta'$  サブユニットを添加して, *in vitro* で RNA ポリメラーゼを再構成させた後の, イオン交換クロマトグラフィー及び密度勾配遠心による解析により, 80 位に挿入を持つ変異体は不安定な  $\alpha_2\beta$  集合中間体を形成し, 180, 200 位に挿入を持つものは,  $\alpha_2\beta$  集合中間体は形成するが,  $\beta'$  サブユニットを結合しないか, または, 結合が弱いことが観察された. 40, 100, 140 位に挿入をもつ変異体は  $\beta\beta'$  いずれをも結合しない. (Kimura, M. and Ishihama, A. (1995) *J. Mol. Biol.*, **248**, 710-718)

一方, ヒスチジン 6 残基のタグを導入した変異サブユニットを大腸菌内で発現させ, その抽出液から直接ニッケルイオンアフィニティークロマトグラフィーでタグ導入変異  $\alpha$  サブユニットを含む複合体を単離解析し, *in vivo* でのサブユニット集合能を調べた. 40, 100, 140 位に挿入をもつものはサブユニット集合が見られず, 180 位に挿入をもつもの

は、 $\beta$ だけを結合した。結果は、*in vitro*の観察とよく一致した。

次に、 $\alpha$ サブユニットのN端領域で、生物種間で保存性の高いアミノ酸残基をアラニンに置換した変異蛋白質を19種作製し、同様の方法で、*in vitro*でのサブユニット集合能を解析した。45, 48位を置換したものは、二量体は形成したが $\beta$ サブユニットを結合しなかった。86, 173位を置換したものは、 $\alpha_2\beta$ 集合中間体は形成したが、 $\beta'$ の結合は認められなかった。以上の結果より、 $\alpha$ サブユニットのN端領域には、二量体形成のみでなく、 $\beta\beta'$ サブユニット結合部位があることが判明し、次のような機能地図が提出される。1)  $\alpha$ 二量体形成には、N末端側領域内に広く分布する複数の部位が関与する。2)  $\beta$ との相互作用には、45位、80位の領域が関与する。3)  $\beta'$ との相互作用には、80位、180位前後の領域が関与する。

(2) 大腸菌RNAポリメラーゼ $\alpha$ サブユニットの分子解剖：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)がサブユニット会合に重要な役割を果たし(Kimura, M. *et al.* (1994) *J. Mol. Biol.*, **242**, 107-115), C末端領域(アミノ酸残基236-329)のコンタクトサイトIを介して多くのクラスI転写因子による転写活性発現に関与している(Ishihama, A. (1993) *J. Bacteriol.*, **175**, 2483-2489)。従来、我々は、両機能領域の機能部位地図の作成を行ってきた。今回、 $\alpha$ サブユニットの構造地図の作成を目的としてプロテアーゼ限定分解によるドメイン解析を行った。トリプシン及びV8プロテアーゼ切断フラグメント末端配列同定により、 $\alpha$ サブユニットは、両プロテアーゼの最初の切断サイトを含む短い領域(アミノ酸残基236-241)で連結されたN末端ドメイン(アミノ酸残基8-235)とC端ドメイン(アミノ酸残基242-329)から構成されていることが分かった(Negishi, T. *et al.* (1995) *J. Mol. Biol.*, **248**, 723-728)。この構造地図はこれまでの解析で得られた機能地図とよく一致する(Kimura, M. *et al.* (1994) *J. Mol. Biol.*, **242**, 107-115; Igarashi, K. *et al.* (1991) *Cell*, **65**, 1015-1022)。

次に、両ドメイン内にある二次的な切断サイトを決定することにより詳細な機能ドメイン地図の作成を試みた。その結果、N末端ドメインは二つのサブドメインNa(アミノ酸残基8-45)とNb(アミノ酸残基68-235)から成ることが判明した。トリプシン消化をつづけると、サブドメインNaとサブドメインNbのArg150以降のC末端領域が速やかに分解され、即ち、 $\beta$ サブユニットの結合サイトはトリプシン分解に対して抵抗性を示すのに対して、 $\beta'$ サブユニットの結合サイトは速やかに分解されることが示唆された。一方、C末端ドメインはトリプシン分解に対して安定であるが、V8プロテアーゼによってGlu288で二次的な切断を受けることが分かった(Negishi, T. *et al.* (1995) *J. Mol. Biol.*, **248**, 723-728)。

C末端ドメイン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んでいる(Ishihama, A. (1993) *J. Bacteriol.*,

\* 大阪大学蛋白質研究所

175, 2483-2489). 我々は C 末端領域 (アミノ酸残基 233-329) の NMR ( $^{15}\text{N}$  標識及び  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$  二重標識法) による高次構造解析を進めてきた。そして  $\alpha$  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領域を同定した。これまでに得られた, 遺伝解析による機能部位地図と, 構造解析の結果を参考に, CRP の結合サイトを含む 9 種の人工ペプチドを合成した。各転写因子に対する詳細な結合部位マップを完成させることを目的として, これら人工合成ペプチドコレクションを用いた転写活性化阻害実験を行っている。

(3) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\alpha$  サブユニットの分子解剖: CRP 及び DNA エンハンサーエレメントによる活性化機構の解析 (村上勝彦・藤田信之・Heyduk, T.\*・石浜明): cAMP 受容体蛋白質 (CRP) などのクラス I 転写因子や, rRNA・tRNA 遺伝子のプロモーター上流域 (-40~-60) のエンハンサーエレメント (UP エレメント) は, 大腸菌 RNA ポリメラーゼの  $\alpha$  サブユニットの C 末端領域と相互作用することで転写を活性化することを我々は既に明らかにしてきた (Igarashi, K. and Ishihama, A. (1991) *Cell*, **65**, 1015-1022; Ross, W. *et al.* (1993) *Science*, **262**, 1407-1413). 点突然変異の解析から, CRP による *lac* 遺伝子の活性化には,  $\alpha$  サブユニット上サイト I の 260~270 アミノ酸残基の領域が関与していることが示された (Zou, C. *et al.* (1992) *Mol. Microbiol.*, **6**, 2599-2605).

そこで我々は, この領域の機能及び構造を詳細に調べる目的で, 260~270 アミノ酸残基を一ヶ所ずつ Trp に置換した点突然変異のコレクションを作製した。それらを発現・純化し, 変異体 RNA ポリメラーゼを再構成して, *in vitro* 転写系で解析したところ, cAMP-CRP に依存した *lac* 遺伝子の転写は, 260, 265, 268, 269, 270 番目の変異体で減少した。また, これら変異体と 264, 266 番目のアミノ酸を置換した変異体は, UP エレメントに依存した *rnnB* 遺伝子の転写量も減少した。*lac* 遺伝子および *rnnB* 遺伝子からの転写が最も減少したのは, 265 番目の Arg を置換した変異体であったことから, この位置に Trp 以外のアミノ酸を導入した点突然変異コレクションを作成し, *in vitro* 転写系で解析した。Arg と同じく正の電荷を持つ Lys への置換では, 野生型に比べ 4 分の 1 程度の転写が観測されたが, 他のアミノ酸置換では, CRP 及び UP エレメントによる転写の活性化が全く観測されなかった。これらの結果より,  $\alpha$  サブユニット 265 番目の Arg が, CRP 及び UP エレメントとの相互作用に重要な役割を演じていると結論した。

現在, Trp の内部蛍光をプローブとして,  $\alpha$  サブユニットの静的・動的構造解析, CRP との直接相互作用の解析を進行中である。

(4) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ  $\sigma$  サブユニット多型成分の機能の比較 (草野秀一・Ding, Q.\*\*・田中 寛\*\*\*・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, これ迄に 6 種類の  $\sigma$  因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した転写制御は,  $\sigma$  サブユニットが異なるホロ酵素多型成分間の量比が変化することによってなされていると考えら

\* Univ. St. Louis, Dept. Biochem. Mol. Biol., St. Louis

\*\* 武漢病毒研究所

\*\*\* 東京大学分子細胞生物学研究所

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、対数増殖期の主要 $\sigma$ サブユニットである $\sigma^{70}$  ( $\sigma^D$ )、休止定常期特異的 $\sigma$ サブユニットであると考えられる $\sigma^{28}$  ( $\sigma^S$ )、熱ショック応答に関わる遺伝子の転写に関わる $\sigma^{32}$  ( $\sigma^H$ )、鞭毛蛋白質遺伝子の転写に関わる $\sigma^{28}$  ( $\sigma^H$ )の4種の $\sigma$ サブユニットを大量に調製し機能の比較を試みた。

$\sigma^S$ の一定量のコア酵素の*in vitro* 転写活性化作用及び精製コア酵素に対する親和性は、 $\sigma^D$ に比べて著しく弱いことが明らかになった。次に、 $\sigma^D$ および $\sigma^S$ で飽和したホロ酵素を用いて、プロモータ選択識別能を比較した結果、プロモーター DNA 断片を用いた転写では両者に顕著な差がない場合でも、DNA 高次構造形成の影響では両者で際だった差があった。 $\sigma^D$ を含むホロ酵素( $E\sigma^D$ )に比べて、 $E\sigma^S$ は超らせん構造を要求することが明らかになった。

また、転写反応液組成を変えたときも、両者に異なった影響を与えた。例えば、高浸透圧応答遺伝子プロモーターの転写は、高濃度グルタミン酸カリウムで昂進された。この効果は、 $E\sigma^S$ にだけ認められた(Ding, Q. *et al.* (1995) *Mol. Microbiol.*, **16**, 649-656)。

(5) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ $\sigma$ サブユニット多型成分の生合成調節機構の解明(寺社下美樹・岩田 晃\*・上田 進\*・石浜 明): 大腸菌 RNA ポリメラーゼのプロモーターの選択性は $\sigma$ サブユニットにより支配されている。現在6種類の分子種が同定され、それぞれ特定のプロモーターを識別し特定の遺伝子群の転写に関与する。対数増殖期の主要サブユニットである $\sigma^D$ を除く、他の5種の $\sigma$ サブユニットは刺激応答等、ある環境条件変動時に機能する。転写パターンの変動は、ホロ酵素多型成分の分子種の量比が変化することによって行われると考えられている。そこで、生体内においてこれらの $\sigma$ サブユニットの生合成量がどのように調節されているかを解明するために各 $\sigma$ サブユニットに対する特異抗体を調製し、それらを用いて各 $\sigma$ 成分の定量をウエスタンブロット法にて試みた。

$\sigma^D$ は増殖期から休止定常期までの量的変動はほとんどみられなかったが、休止特異的 $\sigma$ サブユニットである $\sigma^S$ は増殖期から休止期への移行期から発現が増加し、定常期では $\sigma^D$ の30%程度の量になること、また対数増殖期における熱ショック、休止定常期における浸透圧ショックにより増加することが明らかになった。 $\sigma^S$ ホロ酵素だけで転写されるプロモーターは比較的少なく $\sigma^S$ のコア酵素に対する親和性は $\sigma^D$ に比べて著しく弱いらしい(Ding, Q. *et al.* (1995) *Mol. Microbiol.*, **16**, 649-656; Kusano, S. *et al.* (1995), 投稿中)。従って、現在、細胞内の各 $\sigma$ サブユニットのコア酵素結合量と遊離成分の分布比について検討を試みている。今後、 $\sigma^H$ 、 $\sigma^N$ 及び $\sigma^F$ についても同様の検討を行う予定である。

## 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 シークエンシング、遺伝子改変技術の確立以来急速に発展し、発生分化と関連して、多くの個別遺伝子の転写制御が分

\* 日本生物科学研究所



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じ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。RNA ポリメラーゼの構造や機能の知見が乏しいことが研究進展のネックとなってきた。そのためわれわれは、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。その中でも 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欠かすことができない。

(1) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II サブユニット遺伝子の単離 (桜井仁美・山岸正裕・石浜 明): 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II は、10 種類以上のサブユニットから形成されていると推定されている。われわれは先に、これらサブユニットのうち、原核細胞 RNA ポリメラーゼの  $\beta'$ ,  $\beta$  及び  $\alpha$  サブユニットと相同性の高い蛋白をコードする遺伝子 (*rpb1*, *rpb2* および *rpb3*) を単離した (Azuma, Y. *et al.* (1991) *Nucleic Acids Res.*, **19**, 461-468; Kawagishi, M. *et al.* (1993) *Nucleic Acids Res.*, **21**, 469-473; Azuma, Y. *et al.* (1993) *Nucleic Acids Res.*, **21**, 3749-3754)。 *rpb1* 及び *rpb2* は、出芽酵母 RNA ポリメラーゼ II のサブユニット 1 及びサブユニット 2 の遺伝子 *RPB1*, *RPB2* とクロスハイブリダイゼーションで検出し、単離することができた。まだ単離されていない他のサブユニットの遺伝子を単離する目的で、精製した RNA ポリメラーゼ II より各蛋白成分のアミノ酸部分配列を決定した。その結果、出芽酵母 RNA ポリメラーゼ II の *RPB5*, *RPB6*, *RPB7*, *RPB10* および *RPB11* にコードされる蛋白と相同性を示すアミノ酸配列を持つ蛋白が、精製 RNA ポリメラーゼ II に含まれていることが分かった。

現在、アミノ酸部分配列を基にプローブを調製し、これらの蛋白をコードする遺伝子の単離を目指した研究を進めている。全塩基配列の決定さらに大量発現系の確立によりそれら蛋白成分の構造と機能を明らかにする計画である。

(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 (安井 潔・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 10 個以上ものサブユニットから構成されている。その中で、大腸菌 RNA ポリメラーゼのコア構造形成に必須な  $\alpha$  サブユニットの真核生物における相同体と考えられる 3 番目に大きなサブユニット (サブユニット 3) の遺伝子 (*rpb3*) を単離しその構造を解析した (Azuma, Y. *et al.* (1993) *Nucleic Acids Res.*, **21**, 3749-3754)。

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 *rpb3* 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の変異体について、その *rpb3* 遺伝子を単離し一次配列を決定した

\* 現・カリフォルニア大学アーバイン校

(Azuma, Y. *et al.* (1995) *J. Biochem.*, **118**, 216-220). 非許容温度 37°C に移したところ、速やかに増殖を停止するもの、数回細胞分裂した後に増殖を停止するものなど様々な高温応答を示す変異体が得られていることがわかった。その中から速やかにその増殖を停止するグループ 1 変異体、数回細胞分裂した後に増殖を停止するグループ 2 変異体をそれぞれ 1 株ずつ選び、各々の RNA ポリメラーゼ II を部分精製し、その機能欠損を調べた。その結果、グループ 2 の Ts54 株 RNA ポリメラーゼは、高温処理で失活し易いことが分かった。しかし、Ts99 株の RNA ポリメラーゼに異常は検出されなかったため、*in vivo* での高温感受性は、RNA ポリメラーゼの素機能ではなく、転写因子との相互作用など、それ以外の転写機能の異常であることが期待される。このことより分裂酵母のサブユニット 3 は大腸菌 RNA ポリメラーゼの  $\alpha$  サブユニット同様、サブユニット集合および、転写因子との相互作用の両方に重要であると考えられる。現在はサブユニット 3 がもつそれらの機能について解析している。

(3) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ・サブユニット 5 遺伝子の構造と機能 (宮尾武孝・東慶直\*・桜井仁美・山岸正裕・石浜 明): 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II は、少なくとも 11 種類の蛋白成分から形成されている。そのうち、分子量の大きい方から 3 種成分の遺伝子 (*rpb1*, *rpb2* 及び *rpb3*) の遺伝子を単離した (Azuma, Y. *et al.* (1991) *Nucleic Acids Res.*, **19**, 461-468; Kawagishi, M. *et al.* (1993) *Nucleic Acids Res.*, **21**, 469-473; Azuma, Y. *et al.* (1993) *Nucleic Acids Res.*, **21**, 3749-3754)。サブユニット 1 及びサブユニット 2 以外の低分子量サブユニット遺伝子は、出芽酵母プローブでは検出できなかった。そこで、純化 RNA ポリメラーゼ II に含まれる蛋白成分の部分アミノ酸配列の知識を基にプローブを作製し、遺伝子クローニングを進めている。

真核生物の核内 RNA ポリメラーゼ I, II 及び III に共通のサブユニット RPB5 は、すでに出芽酵母及びヒトにおいてその遺伝子がクローニングされている。そこで両者のアミノ酸配列保存領域をプライマー部位として、分裂酵母 mRNA 由来 cDNA を鋳型とした PCR により DNA 断片を合成した。これをプローブに用いて RPB5 遺伝子を単離した。得られた遺伝子のコードする 210 アミノ酸からなるポリペプチドは出芽酵母 RPB5 と 56%、ヒト RPB5 と 44% の相同性を有し、とくにその C 末端領域に保存領域が集中していた。また、純化した分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の構成サブユニット 5 の部分アミノ酸配列を決定し、この遺伝子が *rpb5* 遺伝子であることを確認した。今後、出芽酵母の two hybrid system など、蛋白-蛋白相互作用検出系を用いて、RPB5 と相互作用するサブユニットや転写因子を検索することを計画している。

(4) 酵母 mRNA キャッピング酵素変異体の単離と解析 (山岸正裕・水本清久\*\*・鈴木久子・石浜 明): 細胞核内で合成される RNA のうち、RNA ポリメラーゼ II によって転写される mRNA のみが 5' 末端にキャップ構造を持っている。ところが単離したキャッピング酵素は他の RNA ポリメラーゼによる転写産物にも効率良くキャップを付加すること

\* 現・カリフォルニア大学アーバイン校

\*\* 北里大学薬学部

ができる。この核内でのキャップ形成の特異性を保証する機構はわかっていない。キャップ形成は RNA ポリメラーゼ II の転写開始後数十ヌクレオチドの合成内に起こることから、キャップ形成の特異性を保証する機構としては、mRNA 合成開始直後の転写複合体内にキャッピング酵素が組み込まれているということが予想されるが、それ以外に、RNA ポリメラーゼ II の転写複合体から遊離した RNA の末端のみがキャップ形成の基質となることを規定する何らかの仕組みが核内に存在する可能性も否定できない。また、mRNA 合成の伸長反応がキャップ形成と機能的に連携しており、キャップ形成が阻害されると mRNA の伸長もそこで停止する可能性も考えられる。最近、遺伝子の発現調節が mRNA の転写の開始直後に行われている例も知られつつあり、キャップ形成の段階を含めた転写開始直後の転写装置とその他の因子との間には重要な相互作用があるものと推測される。また、mRNA の末端に付加されたキャップは mRNA の安定性、介在配列の除去、核から細胞質への輸送、翻訳の開始に重要な役割をはたすが、これらの各段階にどのようにキャップが働いているのか、不明な点も多い。

本研究では、これらの問題の解明をめざして出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のキャッピング酵素のグアニル酸転移酵素活性を担う  $\alpha$  サブユニットの遺伝子 *CEG1* の温度感受性突然変異体を単離した。いままでに 10 種類の変異体 (*ceg1-1*~*ceg1-10*) を得て、その変異部位を同定した。これらはすべて劣性変異で、変異間での相補性はみられなかった。そのうち *ceg1-10* は多コピーでのみ変異体の許容温度下での生存を可能とし、非許容温度に移すと最も素早い増殖の停止を起こした。各変異体のグアニル酸転移酵素活性を GMP と Ceg1 蛋白質との共有結合体形成能を指標にして測定したところ、*ceg1-8* の産物は比較的高い熱安定性を持つ活性を有していた。今後、非許容温度に移した変異体を放射能でパルスラベルし、ポリ (A)<sup>+</sup>RNA 量および RNA ポリメラーゼ I, II, III に特異的な転写産物量の測定を行う予定である。また、RNA ポリメラーゼ II によって転写される *GAL* や *GAP* のプロモーターに連結した rRNA 遺伝子中に挿入したバクテリオファージ由来の DNA 配列の転写量 (転写直後に 5'末端が切り離され、キャップの有無によって安定性がかわらないと期待される) を測定する計画である。また、キャッピング酵素と相互作用する因子の候補の同定やキャップ形成が低下した細胞の生存を許す変異の同定を目的として、得られた *CEG1* 変異遺伝子抑制変異の単離を試みている。

### 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の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。

(1) インフルエンザウイルス RNA 合成装置の分子解剖 (豊田哲也・小林麻己人\*・

\* 自治医科大学生物学教室

Djanybek ADYSHEV・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・結合活性と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, 我々は, 個々のサブユニットの機能を直接的に証明する目的で, 以下のように試験管内転写複製系とサブユニット遺伝子発現細胞を用いた系により PB1 は RNA 合成活性を担うサブユニットであり, PB1・PB2 複合体は転写酵素としての機能があり, そして, PB1・PB2・PA の完全な複合体は転写及び複製酵素としての活性をもつことを証明した。

(i) PB1 は RNA 合成活性を担うサブユニットである。

我々は, ウイルス粒子からセシウム TFA 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ことはできなかった。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・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), その活性は変異体サブユニットの機能を調べるほど高くなかった。そこで, 今回, *in vivo* でサブユニット集合をさせて調べることにした。そのため, 組換えバキュロウイルスや, ワクチニアウイルス (アメリカ合衆国 NIH の Moss 博士より分与) を用いて各 P 蛋白を単独, あるいは色々の組合せで発現させることにより, 細胞内で RNA ポリメラーゼのサブユニットを集合させた。これらの細胞から核抽出液として可溶化した酵素を用いて, 5'末端をラベルしたジヌクレオチド ApG をプライマーとして用いるプライマー伸長法を開発し, ウイルス第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) 鋳型に対する活性を調べた。その結果, PB1 を含むすべての核抽出液において RNA 合成活性が検出でき, PB1 は, 単独でも RNA 合成を行うことが明らかになった (Kobayashi, M. *et al.*, 投稿中; Toyoda, T. *et al.*, 投稿中)。

(ii) PB1・PB2 複合体で転写ができるが, 複製には PA が必要である。

組換えバキュロウイルス感染細胞より調製した PB1, PB1・PB2, そして, PB1・PB2・PA を含む核抽出液を用いて, ウサギグロビン mRNA をプライマーとして用いる試験管内転写系を用いて, v84, c84 モデル鋳型に対する RNA 合成活性を調べた。その結果, PB1・PB2, 及び PB1・PB2・PA を含む核抽出液を用いた時のみ, プライマーをもつ転写産物として期待された 100 ヌクレオチド付近に新たなバンドが検出された。このことによって, PB1・PB2 複合体は, 転写酵素として機能することが強く示唆された。

一方, これらの核抽出液とモデル鋳型 RNA を用いて, プライマー非存在下における複製反応の RNA 合成反応を行い, 産物を RNase プロテクション法により同定した。その結果, PB1・PB2・PA の完全な複合体を含む核抽出液においてのみ, ウイルス感染細胞内で

\*\* 東京理科大学

\*\*\* 北里大学薬学部

起こる  $\nu$ RNA $\rightarrow$ cRNA $\rightarrow$ RNA の複製反応と同じ様式の反応が再現された。従って、PA により PB1・PB2 の転写酵素が PB1・PB2・PA (3P) の複製酵素に変換することが示唆された。

(iii) PB2 はキャップ構造をもつ転写産物に必要であるが、複製には必須ではない。

我々は、先に、インフルエンザウイルス P 蛋白の分担機能を *in vivo* で解析する目的で、3 種 P 蛋白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、PB1, PA と NP を発現する細胞、クローン 64 を樹立した (Nakamura, Y. (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ムフェニコールアセチル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、RNA 産物と CAT 活性を調べたところ、CAT 活性はクローン 76 でのみ検出されたが、人工ゲノムの複製及びポリ A を付加された CAT-RNA の合成はいずれの細胞でも行われていた。従って、PB2 は、RNA 複製には要らないが、キャップ構造の付加には必要であることが示唆された。そこで、この仮説を証明するために、両細胞からポリ A(+)-RNA を精製し、その 5' 端の構造解析と、うさぎ網状赤血球を用いた試験管内翻訳系を用いた解析を行った。その結果、転写されたポリ A(+)-RNA の 5' には CAP 構造が存在しないために、翻訳が行われていないことが明らかとなった。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 ゲノムの転写、複製は行われることと、PB2 サブユニットにより mRNA の 5' 端に CAP 構造が付加されることが証明された (Nakagawa, Y. *et al.* (1995) J. Virology, 69, 728-733)。

(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間結合部位の同定 (Djanybek ADYSHEV・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 PB1, PB2, PA の 3 つのサブユニットが、それぞれ一分子ずつ会合して形成される (Honda, A. *et al.* (1990) J. Biochem., 107, 624-628; Kobayashi, M. *et al.* (1992) Virus Res., 22, 235-245)。サブユニット間結合部位を同定するために、各 P 蛋白サブユニットの N 末或いは C 末に HA の抗原決定基をつけ、その上で N 末端及び C 末端欠損 P 蛋白変異体を多種類作製し、サイトメガロウイルスプロモーターの下流につないだ。これらのプラスミドをいろいろな組合せで、COS-7 細胞にトランスフェクションし、抗 HA 抗体 (12CA5) 及び各 P 蛋白に特異的な抗体を用いて、免疫沈降し、共沈するサブユニットを同定した。その結果、PB1・PB2 間の結合部位は、それぞれ PB1 の C 末端と PB2 の N 末端に同定された。同様の解析を、PB1~PA 間、PB2~PA 間でも進めている。

(3) インフルエンザウイルス RNA 転写装置の分子解剖 (浅野幸康・石浜 明): 我々は先に、ウイルス粒子からセシウム TFA 遠心法を用いて RNA ポリメラーゼを精製する方法を開発した (Honda, A. *et al.* (1990) J. Biochem., 107, 624-628) が、それぞれのサブユニットとの機能を生化学的に解析する量を調製することは出来なかった。そこで、RNA ポリメラーゼの個々のサブユニットを組換えバキュロウイルスを用いて発現し、試験管内で再構成し、RNA の合成活性を検出した (Kobayashi, M. *et al.* (1992) Virus Res., 22, 235-245)。しかしながら、その転写活性は、個々のサブユニットの分担機能を、変異体を

用いて、解析をするほど強力ではなかった。

そこで今回、我々は変異蛋白質を容易に作成できる大腸菌を用いた異種蛋白発現系の開発を試みた。PB1, PB2 及び PA の cDNA を各々 T7 プロモーターの下流に挿入したプラスミドでは、P 蛋白は発現しないか、発現しても急速に分解された。そこで、遺伝子の 5' 末端の配列を大腸菌のメジャーコドンに置き換えることで効率のよい発現系の開発に成功した。発現した蛋白質はいずれも不溶性封入体を形成していたので、バキュロウイルス発現系での再構成方法と同様に、塩酸グアニジンによる可溶化、再構成を試みた。その結果、大腸菌で生産した蛋白質からでもバキュロウイルス系と同様に RNA 合成活性を検出できた。しかし、その転写活性は依然として、機能解析をするには不十分であり、現在、より効率の高い再構成系の開発に取り組んでいる。

(4) 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\*・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、蛋白核酸複合体 (RNP) の主な構成成分であり、RNA と結合すること、及びゲノム RNA の複製に必要なことが知られている。我々は、RNP から塩化セシウムにより 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いだしてきた (Honda, M. *et al.* (1988) *J. Biochem.*, **104**, 1021-1026)。これら 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。そこでまず、NP の 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、RI ラベルをした RNA と結合することを確認した。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。その結果、91 から 188 番目のアミノ酸の部位に RNA 結合活性域をマップした。この部位は、インフルエンザウイルス A, B, C 型の NP 間で特に相同性の高い部分であり、さらに、red clover necrotic mosaic dianthovirus (RCNMV) の移行蛋白 (MP) の RNA の結合部位、および、トリパノソーマのリボゾーム蛋白 S9 と高い相同性を示す部分が同定された。移行蛋白、リボゾーム蛋白 S9 は、RNA と結合して、その構造を変換する蛋白である。従って、インフルエンザウイルス NP もこの部位がウイルスゲノム RNA 結合の中核となり、RNP 構造をとるための核となると考えられる (Kobayashi, M. *et al.* (1994) *J. Virology*, **68**, 8433-8436)。

(5) インフルエンザウイルス・マトリックス蛋白 (M1) の分子解剖 (安田二郎\*\*\*・石浜 明): インフルエンザウイルスのマトリックスは、外側で疎水性のエンベロープに接し、内側で親水性の核蛋白コア (RNP) と接触している。その構成蛋白 M1 は、ウイルス粒子成熟過程では、RNP に結合して RNA ポリメラーゼによる転写を抑制する。一方、感染過程では、M1 の解離で転写が開始される。われわれは先に、RNA 分節 7 の M 遺伝子がウイルス増殖の開始時期とウイルス生産量を支配していることを報告した (Yasuda, J. *et*

\* 自治医科大学生物教室

\*\* 現・カリフォルニア大学アーバイン校

\*\*\* 現・アラバマ大学微生物学教室

al. (1993) Arch. Virol., **133**, 283-294) が, M 遺伝子から形成される 2 種蛋白質 (M1 と M2) のいずれにその活性が担われているか明らかではなかった. 今回, MDCK 細胞で高増殖性の WSN 株と低増殖性の Aichi 株の M ゲノムから出発して, cDNA レベルで各種の組換え体を作製し, キメラ cDNA から *in vitro* で合成した RNA をトランスフェクトし, キメラ M 遺伝子をもつ組換え体ウイルスを作製して調べた. その結果, M1 蛋白質に, ウイルス増殖制御機能域があることが判明した (Yasuda, J. et al. (1994) J. Virol., **68**, 8141-8146).

(6) HA 糖蛋白質上のレセプター・シアル酸認識部位の同定 (鈴木康夫\*・豊田哲也・石浜 明): インフルエンザウイルスは, ウイルス表面糖蛋白質 HA をリガンドとし, 細胞表面のシアル酸をもつ糖蛋白, 糖脂質をレセプターとして細胞に吸着する. これまでの研究から, A 型インフルエンザウイルス A/Aichi/2/68/ 株は, N-アセチル型の GM3 (Neu5Ac) を, A/Swine/HK/81/78 株は N-グリコリル型の GM3 (Neu5Gc) をそれぞれレセプターとして強く認識することが明らかとなっている. この Aichi 型の HA と HK 型の HA は, アミノ酸で, 有意と考えられる相異が 4 箇所あるので, そのうちのどのアミノ酸がこのレセプター認識の特異性を決定するのかを明らかにする目的で, それぞれの RNA 分節 4 の cDNA から出発して, キメラ cDNA を作製した. cDNA を転写して得られる RNA を用いて, RNP トランスフェクション法によりキメラ HA をもつウイルスの作製を進めている.

#### 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, 出芽酵母, 分裂酵母を用い, 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ら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, 助手岸努, 助手清野浩明, Thangirala Sudha 博士 (外国人客員研究員, インド Vijaya 病院インドダウン症研究会), 大学院学生逢坂文男 (総合研究大学院大学, 博士課程 2 年), 宇井基泰 (特別研究学生, 東大・工・修 1), 遠藤純子 (北里大学衛生学部 4 年), 門内幸子 (同) 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 4 件について行った.

- 1) 細胞周期変異株を用いた核小体構築のダイナミクス (鮫島正純: 東京都臨床医学総合研究所)
- 2) 動物細胞の変異株を利用したサイクリン蛋白質のリン酸化と細胞周期制御の研究 (田中弘文: 東京薬科大学生命科学部)
- 3) 「Selected Proteolysis」による細胞周期制御の研究 (田中啓二: 徳島大学酵素科学研究センター)

---

\* 静岡県立大学薬学部

4) 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) 「Selected Proteolysis」の分子機構とその細胞生物学的意義(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「遺伝情報維持の分子機構」(2)(代表者瀬野),重点領域研究「細胞周期制御のネットワーク」(2)(代表者山尾),重点領域研究「がんの生物学的特性の研究」(2)(代表者山尾),重点領域研究「がんの生物学的特性の研究」(1)(代表者丹羽太貫,分担岸),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」(代表者瀬野俣二,分担山尾),(財)住友財団「基礎科学研究助成」(受入者山尾)

ユビキチンはユビキチン活性化酵素E1,ユビキチン転移酵素E2及びユビキチン結合酵素E3の作用を介して標的タンパク質のLys残基にイソペプチド結合を介して結合する。その後ユビキチン化された標的タンパク質は26Sプロテアソームにより速やかに分解される。短命なタンパク質の多くのもや変性したタンパク質は、ユビキチン化によりその寿命が制御されることが報告されている。あるいは、ユビキチン化により蛋白質自体の活性の制御をうける蛋白質も存在すると考えられている。現在、E2及びE3については複数の分子種が明らかになっている。出芽酵母においては少なくとも10種類のE2分子種が知られており、他の真核生物においても、多数のE2の存在が報告されている。また、E3に関してはE2ほど明らかになっていないが、出芽酵母において現在2つの分子種が報告されている。これらE2,E3分子種はそれぞれ別々の機能を分担し、特異的な標的タンパク質があると考えられており、細胞周期、DNA修復、免疫系による抗原の提示など様々な生命現象の制御に関与している。

(1) 細胞周期G2/M期の核小体解離におけるユビキチン系の役割(Sudha・金田・山尾・瀬野)(共同研究者:東京都臨床医学総合研究所 鮫島正純)

マウス細胞FM3Aより分離したユビキチン活性化酵素(略称E1)の温度感受性変異株ts85株について、39°C(非許容温度)培養によってG2期に停止した細胞が示す核小体異常および染色体異常の解析結果を、昨年度に続いて報告する。特に、核小体のdisintegration過程に蛋白質の分解が関与する可能性が新たに出てきた。

1) この核小体の異常はG2期停止細胞に特異的に誘発されることを、細胞を予めG2期あるいはS期に同調してから非許容温度培養する実験で示した。また、cdc2キナーゼの温度感受性変異株tsFT210も非許容温度下G2期に停止するが、この核小体異常はみられない。

2) この核小体異常の典型はドーナツあるいは馬蹄型への変形で、その中央領域にプロテアソーム、誘導型HSP70およびポリユビキチン化蛋白質が局所的に集まっているこ



とを、免疫細胞化学的に明かにした。生理的ストレスによってプロテアソームが核小体に集結する報告は今回が初めてである。

3) G2 期停止 ts85 細胞を許容温度に戻し、M 期への進行過程を FISH 法などの細胞遺伝学的方法で解析した結果、通常 M 期に入ると直ちに起こる核小体の消失過程 (disintegration) が阻害され、核小体を構成する複数の染色体上の rRNA 遺伝子反復領域 (NOR, nucleolar organizer region) が離散できないままに、それ以外の領域の染色体は正常に凝縮してしまったと解釈できる結果を得た (Sudha *et al.*, Chromosome Res., 1995)。

(2) 細胞内デオキシヌクレオシド三リン酸プールのユビキチン系による調節 (瀬野・金田・山尾) (共同研究者: 岡山大・葉 綿矢有佑)

上記 ts85 株とは異なり、ユビキチン活性化酵素 E1 温度感受性変異株 tsFS20 は非許容温度下主として S 期に停止する。その際、以下の解析結果を得た。

1) *in vivo* DNA 合成能が急速に低下するが、RNA および蛋白質合成能は正常であった。

2) lyssolecithin 処理による permeabilized cells を用いた *in vitro* DNA 合成活性の測定によって、本変異株の DNA 合成装置は損なわれていないことが示唆された。すなわち、細胞を 16 h 非許容温度下培養 (この時点で *in vivo* DNA 合成能はゼロ) した後 permeabilized 化した細胞の *in vitro* DNA 合成活性は、ほぼ正常であった。しかし、この活性が DNA 複製 (artifact による修復でなく) で反映であるかは未検討である。

3) 非許容温度に 16 h 培養した後の細胞内 dNTP pool を測定したところ、dCTP と dTTP の著しい低下がみられた。しかし、dATP と dGTP の低下は軽微であった。対照に用いた DNA polymerase  $\alpha$  の ts 変異株 tsFT20 (S 期停止) ではそのような低下はなかった。また、親株細胞をアフィダイコリン処理して DNA 合成を阻害しても細胞内 dNTP pool の低下はない。

4) したがって、ユビキチン系が *de novo* デオキシヌクレオチド代謝・合成経路の制御を通して S 期進行に関与していることが示唆された。特に、リボヌクレオチド還元酵素を中心とした律速系がユビキチン化の標的である可能性が高い。

5) また、本変異株は MNNG や UV に高感受性を示す一方、誘発突然変異頻度は逆に低下する。この表現型は、出芽酵母 rad6 (ユビキチン結合酵素 UBC2 の変異) の表現型に類似する。

6) しかし、本 tsFS20 株は E1 酵素の変異株であり、複数の E2 分子種へのユビキチン転送能が損なわれていることが十分考えられる。したがって、1-4) の表現型と 5) の表現型の統一的な説明は今後の解析結果による。

(3) ユビキチン活性化酵素 E1 のリン酸化による機能制御の解析 (永井・瀬野・山尾)

マウス培養細胞 FM3A を用いユビキチン活性化酵素が細胞周期特異的に cdc2 kinase によりリン酸化されることを示してきた。細胞を無機リン酸で標識後、抗ヒト E1 抗体で抽出液中から E1 酵素を沈降精製して調べ、リン酸化されていることを確認した。同じ細胞からユビキチンカラムを用いて精製した E1 酵素を用い、抗マウス Cdc2 抗体で精製し

た Cdc2 kinase と [ $\gamma$ - $^{32}$ P]ATP で反応させたところ、ヒストン H1 と同じレベルでリン酸化された。大腸菌で発現させた E1 蛋白質も同様に標識された。各々の標識蛋白質を回収し、トリプシン分解物のペプチドマッピングの結果、いずれも同じ部位 2 箇所でのリン酸化であることが証明された。遺伝子構造から類推される Cdc2 kinase の標的部位を *in vitro* mutagenesis で変異させた E1 蛋白質を大腸菌で発現させ、これを Cdc2 kinase で標識させてペプチドマッピング解析をした結果、上記 2 箇所のうち一つは N 末端から 4 番目の Ser 残基がリン酸化部位であることが証明された。この部位のリン酸化は細胞周期の G2/M 期に最大となり、FM3A 細胞から分離された Cdc2 温度感受性変異株においては抑制されたことから、細胞内で Cdc2 kinase(MPF) により周期依存的にリン酸化されていることがわかる。*in vivo* と *in vitro* で同じ部位がいずれも Cdc2 kinase によりリン酸化されることから、これは意味のあるものと考えられるが、いかなる生物学的機能を代表するものかはまだ憶測の域を出ていない。しかし、このリン酸化部位の数残基 3' 側に KKRR 配列が存在し、これが核移行シグナルとなっている可能性がある。核移行シグナルの近くには多くの場合リン酸化部位が供役していると言われる。従って細胞周期依存的に核への E1 の移行に関わっている可能性がある。実際、G2 期にかなりの量の E1 が核に局在するとの報告がある。また核に移行後に特定の E2 の認識機構に関わることも考えられる。他の一箇所のリン酸化は、*in vitro* では Cdc2 kinase でリン酸化されるにもかかわらず、細胞内では G1/S 期に主にリン酸化されていることから、*in vivo* では Cdk または類縁の kinase によるリン酸化の可能性が極めて高い。いづれにしてもこれらのことは、cdk による細胞周期制御系とユビキチン蛋白質分解系が細胞増殖制御のネットワークの中で相互にリンクしていることを意味しており、具体的には cdk リン酸化酵素でユビキチン系の最初に位置する E1 酵素がリン酸化されることにより、特定の E2 酵素の認識を介して周期特異的なユビキチン経路を発現させることにつながるのではないかと考えている。

(4) ユビキチン結合酵素 E2 の分子的多様性と機能特異性の解析 (逢坂・清野・瀬野・山尾)

ユビキチン結合酵素 (E2) の多様性とそれにより発現される特異的なユビキチン経路が種々の細胞機能制御に極めて重要であると考えられるが、これまで E2 分子種の系統的探索はわづかに出芽酵母 *S. cerevisiae* において、それも PCR 増幅を主な方法として行われたものと、その他生物種に於ける homologue 探索で得られたものが主である。そこでここでは分裂酵母 *S. pombe* からその本来の機能を指標に検索を行った。大腸菌発現 vector を用いて作成した Library 約 20000 個から、菌抽出液中で標識ユビキチン受容能を指標に約 20 の E2 cDNA を分離した。その内の一つ *ubcP4* は細胞周期 G2/M 期での阻害が起り、MPF 活性を阻害したときと酷似した表現型を示すことが分かった。この遺伝子産物を枯渇させた細胞抽出液中では MPF 活性が低く、これに大腸菌で発現させた *ubcP4* 蛋白質を添加すると MPF 活性が速やかに上昇したことから、*cdc25* や *wee1* 遺伝子産物による制御とは別に、より直接的に MPF 活性を抑制している蛋白質が存在し、ここで同定したものはその分解を担うユビキチン系である可能性が非常に高いと思われる。

ubcP4 のユビキチン化標的蛋白質が MPF inhibitor ではないかと思わせる結果が蓄積してきている。G2 期の制御に新たな局面を開く可能性を秘めたものとして今後のその解析が期待される。昨今, essential な細胞機能に関わる E2 遺伝子, 蛋白質がいくつか同定されてきているが, 本来ユビキチン系が担っている多様な細胞機能を考えると, 今回は扱いやすさの点から *S. pombe* を用いたが, 培養細胞をも含めて, 更に機能特異的な E2 を蛋白質, 遺伝子の両方から系統的に同定, 分離することが必要であると思われる。

#### (5) ユビキチン系による出芽酵母細胞周期制御 (岸・宇井・遠藤・山尾・瀬野)

本研究は, 真核細胞の DNA 複製開始の制御とユビキチン系の関係を明らかにすることが期待される出芽酵母 CDC34/UBC3 の機能を明らかにすることを目標としている。CDC34 は G1/S 期の進行に必須の遺伝子の一つで, 細胞周期の進行にかかわる E2 遺伝子として同定されたものである (他に G2/M 期の進行に必須な UBC9 がある)。この必須遺伝子の存在は G1/S 期の進行に必要なタンパク質でユビキチン化の標的になる機能必須なタンパク質が存在することを示しているが, その標的タンパク質は不明のままである。このユビキチン化と, G1 サイクリンや Cdk, Cdk インヒビターなどによる G1/S 期の進行制御とが, どうかかわるのか興味深い。そこで, Cdc34 の機能を遺伝学的, 生化学的に行なうことによって, 細胞周期 G1/S 期の進行とユビキチン系のかかわりを解析している。

#### 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 株に EMS により変異を導入し制限温度 38 度で培養した結果, サプレッサー株が 4 株取れた。これらすべて, その変異がドミナントであった。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ン化した。今のところ, 2 種の塩基配列を決定したが, CDC34 自身とユビキチン (UBI 1) であった。残りの 2 種については, 塩基配列を決定中である。

#### 2) 核抽出液とユビキチン化 CDC34 との反応による標的タンパク質の同定

CDC34 の大腸菌での高発現系を構築し CDC34 タンパク質をカラムクロマトグラフィーにより精製した。我々は, 出芽酵母の E1 の遺伝子を持っていないため, mouse の E1 によって出芽酵母の CDC34 タンパク質が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。このようにして得られたユビキチン化された CDC34 タンパク質と, 出芽酵母抽出液との反応により CDC34 の標的タンパク質の同定を試みたが, シグナルは検出されなかった。Cdc34 は核に局在することが示されたため, 核抽出液を調製しこれを用いて Cdc34 によりユビキチン化されるタンパク質の検出を試みた。その結果, 標識されたユビキチンのほとんどがヒストン H2B と思われるタンパク質に取り込まれ, また, わずかではあるが, 65 kDa の位置にもシグナルが検出された。ヒストン H2B は, *in vitro* でのみ Cdc34 によってユビキチン化される基質である。そこで, 核抽出液をクロマトグラフによって分画しヒストン H2B を取り除いた後, ヒスチジンをタグしたユビキチンを用いてユビキチン化反応を行いニッケルカラムで精製しペプチドの配列を決定し, その遺伝子をクローニングしていく予定である。

## 3) Cdc34 と相互作用するタンパク質の遺伝子のクローニング

二つの遺伝子産物をそれぞれ転写因子の DNA 結合部位と転写活性化領域に融合させ、両者の相互作用を転写活性を指標にして検出する Two-hybrid system を用いて Cdc34 と相互作用するタンパク質の遺伝子のクローニングを試みた。転写因子 GAL4 の DNA 結合部位と CDC34 の融合タンパク質発現用のベクターを構築し、また、GAL4 の転写活性化領域と genomic DNA 断片を挿入し genomic DNA library を作製し、同時に酵母に導入した。一次スクリーニングの段階で、49 のポジティブクローンを得ている。今後、二次スクリーニングを行ない、Cdc34 と相互作用するタンパク質を明らかにする。

## 4) CDC34 と CDC4 の関係

CDC4 は CDC34 と同じく細胞周期の G1 後期に作用し、両者の最終表現型も同一であり作用する点も CDC34 と近い位置であることが示唆されているが、その機能は不明である。cdc4<sup>ts</sup> 株に GAL1 プロモーター下流に CDC34 を持つベクターを導入したところ cdc4 の ts 性をサプレスできなかったが、cdc4<sup>ts</sup> 株の許容温度 30 度においても、CDC34 の発現をガラクトースで誘導すると増殖できなくなった（野生型を用いて同様な実験を行ったが、CDC34 の過剰発現による増殖阻害は観察されなかった）。このとき、細胞形態の異常も見らる傾向にある。多コピー抑圧遺伝子の分離を進めている。

(6) 細胞周期制御に関わるユビキチン結合酵素 E2 のマウス細胞からの検索（清野・山尾・瀬野）（共同研究者：関西学院大学・矢倉達夫、HSP 研究所・金田澄子）

ユビキチン経路と細胞周期の関係を明らかにする目的で、マウス培養細胞株 FM3A より単離されたユビキチン活性化酵素 E1 に異なる変異を有し、異なる位置で細胞周期の進行を停止する多数の温度感受性変異株を用いて、細胞周期の特定の点で働くユビキチン転移酵素 E2 の検索をおこなってきた。これらの変異株より粗抽出液を作成し *in vitro* で RI 標識ユビキチンの E2 への結合をみた結果、細胞周期の S 期で停止する表現型を示す温度感受性株において制限温度下で特定の E2 へのユビキチンの結合が速やかに減少した。G2 期に停止する温度感受性株においてこの E2 へのユビキチンの結合の減少は観察されなかった。また、この E2 へのユビキチンの結合は S 期の細胞の粗抽出液において顕著に増加することが観察された。以上の結果は、この E2 分子種が S 期の進行に関与していることを強く示唆する。

現在この E2 をユビキチンカラムを用いることにより精製することに成功している。今後、アミノ酸配列を決定し、cDNA を単離して、抗体を作成し、この E2 の細胞内での挙動を調べる、あるいはユビキチンの結合する E2 の Cys 残基に変異を導入した cDNA を培養細胞及び酵母で大量発現させてその効果を観察すること、酵母においてその効果を打ち消すような多コピー抑圧遺伝子を単離するなどの手法を用いて、この E2 の生化学的な性質、細胞内での機能、標的タンパク質、S 期との関わりについて明らかにしていきたい。

また、G1, G2 期を主な停止点とする温度感受性株について E2 に関する情報は得られていないが、遺伝学的アプローチの容易な酵母を用いて、酵母内の E1 遺伝子をマウス培養細胞の温度感受性 E1 をコードする cDNA と置換することにより温度感受性株を作成し、

その多コピー抑圧遺伝子，抑圧変異株を単離するなどの遺伝学的手法によりユビキチン経路が G1, G2 期の進行とどの様に関わっているのかを明らかにしていきたい。

### 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 (m7GpppNmp-) 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に関与する酵素 mRNA 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。

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，mRNA グアニル酸転移酵素活性 ( $\text{GTP} + \text{E} \rightarrow \text{E-GMP} + \text{PPi}$ ,  $\text{E-GMP} + \text{ppN-RNA} \rightarrow \text{GpppN-RNA} + \text{E}$ ) および RNA 5'-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，この遺伝子が酵母の生育に必須であることを示した (Shibagaki, Y. *et al.*, J. Biol. Chem., **267**, 9521-9528, 1992)。組換え  $\alpha$  サブユニットを用いて E-[ $^{32}\text{P}$ ]GMP 反応中間体を形成させ，[ $^{32}\text{P}$ ]GMP を含むトリプシン断片を得た。この  $^{32}\text{P}$ -ペプチド断片のアミノ酸配列より，GMP 結合部位が Lys<sup>70</sup> であることを明らかにした。Lys<sup>70</sup> が活性中心であることは *CEG1* の部位特異的突然変異によっても裏付けられた。Lys<sup>70</sup> 近傍のアミノ酸配列 ("K70XDG" モチーフ) は，ウイルスキャッピング酵素ならびにポリヌクレオチドリガーゼの活性中心 (いずれも Lys がヌクレオチド結合部位) に見られる共通配列であり，ヌクレオチジル転移で重要な役割を演じていると思われる。そこで，このモチーフに種々のアミノ酸置換を導入し，その *in vitro* および *in vivo* での活性に対する影響を調べた。その結果，上記モチーフのアミノ酸はいずれも  $\alpha$  サブユニットの機能上重要な役割を演じていることが示唆された。また，E-pG 形成能と酵母 *CEG1* 破壊株 (*ceg1*) を相補する能力は高い相関性を示し，E-pG 形成活性のある変異は *ceg1* 株を相補した。しかし，Lys<sup>70</sup>→Arg あるいは Asp<sup>72</sup>→Glu への変位はともに E-pG を形成するにもかかわらず，*ceg1* 株を相補できなかった。このことは Arg<sup>70</sup>, Glu<sup>72</sup> 両変異が，中間体形成後の機能に何らかの影響を及ぼしていることを示すものである。現在，*CEG1* の *ts* 変異株を分離してその性質を調べると共に，その suppressor 変異の検索を行っている。

**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をしている。

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て，効率の良い，かつ正確な転写を行いうる *in vitro* RNA 合成系を確立した。この系を用いた HVJ mRNA の生合

成反応には宿主由来のタンパク質性因子（宿主因子）が必須であること、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、そのうちの一方の活性の本体はチューブリン分子であることを明らかにした。また、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示した。さらに、チューブリンと相補的な因子の精製を進めたところ、それが分子量約2万と4~5万の2成分からなることが明らかとなった。

HVJゲノムの3'末端にはリーダー配列(1)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感染細胞ではこの1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、その合成はゲノムの転写-複製-切換え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。精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. DNA修復に関与する蛋白質の立体構造解析** (森川): DNA修復系は大別して組換え修復と除去修復に分けられる。我々はそれぞれの修復過程に於いて重要な役割を果たす二つのヌクレアーゼの立体構造をX線解析によって決定し、詳細な原子模型を構築した。更に、平行して遂行された変異体解析の結果を比較検討して、各酵素の触媒中心とDNAを認識し特異的に結合する領域を同定した。

#### (1) 大腸菌 RuvC 蛋白質

大腸菌の相同組換え過程の後期では RuvA, RuvB, RuvC の三種の蛋白質が関与する。RuvA, RuvB は相同組換えの普遍的中間体である Holliday 分岐を ATP 分解に伴うエネルギーを消費しつつ移動させる作用を持っている。RuvC 蛋白質は Holliday 分岐構造を特異的に認識し、対称的な位置に於いて DNA 鎖に切れ目を入れ、Holliday 分岐を解消する。このようにして、組換えられた二組の DNA 二重鎖が生成する。この endonuclease 活性には  $Mg^{2+}$  等の二価イオンが必須である。このような相同組換えの分子機構は原核細胞から真核細胞まで保存されており、それ故、Holliday 分岐を解消する分子機構も全生物で同じであると推測される。この普遍的分子機構を原子レベルで明らかにするため、Holliday 分岐を特異的に認識し切断する RuvC エンドヌクレアーゼを結晶化し、X線構造解析によって三次元構造を決定した。

結晶は微量透析法を用いて4°Cで成長させた (Ariyoshi, M. *et al.*, J. Mol. Biol. 241: 281-282)。三種類の結晶型が得られ X 線回折実験にかけられた。その結果、空間群 P21、格子定数:  $a=72.8\text{\AA}$ ,  $b=139.6\text{\AA}$ ,  $c=32.4\text{\AA}$ ,  $\beta=93.0^\circ$  の Form III の結晶だけは高分解能の回折点を示すが、他の二型は低分解能の回折パターンを与え、構造解析に適さない結晶であった。Form III の結晶から放射光の X 線源を用いて 2.5Å 分解能回折強度データが収集された。初め、4種類の重原子同型置換体から位相を決定したが、解釈可能な電子密度図

を作成できなかった。そこでこの結晶が非対称単位中に4分子含むことを利用し、分子像平均化法を適用した結果鮮明な電子密度図が得られた。この図を基に分子模型を組立て、更に、2.5Å分解能の強度データを用いて結晶学的精密化を実行し、構造を決定した。最終のR因子は15.7%であった。尚、COOH端の14残基は構造が乱れており、電子密度図上に現れていない。得られた構造は精密で機能との関係に就いて詳細な議論が可能であった。

結晶構造は二量体を形成しており、二量体が活性単位であるとする溶液実験に基づき推論を支持する。二量体は非結晶学的二回回転軸によって関係づけられ、その大きさは近似的に65Å×40Å×35Åである。単量体は5本の平行、逆平行鎖からなるβ-sheetを中心に一方の側に二本のα-helix (αAとαB)、反対側に三本のα-helix (αC, αD, 及びαD)を隣接した三層構造をもつ。二量体の接触面はαAとαBから成るが、主な相互作用はαB構成残基間の水素結合と疎水結合である。このαBは二回回転軸とほぼ平行に配置しており、相互作用の領域も大きく二量体はかなり強固な結合をもつことが推測される。構造の最も特徴的な点は各サブユニットが大きなクレフトをもち、そのサイズはDNA-B構造に適合することである。このクレフトの側壁は塩基性残基で覆われ、低面には4個の酸性残基 Asp-7, Glu-66, Asp-138, 及び Asp-141 が集中している。これらの酸性アミノ酸を置換した変異体は全て dominant negative effect を示すこと、また他の変異体の解析結果を考慮するとこのクレフトがDNAを結合し、低面に集中した4個の酸性残基がendonucleaseの活性中心を構成することは疑いない。実際、soakingによって結晶内に導入されたMn<sup>2+</sup>はAsp-7とAsp-141の側鎖近傍に結合する。

二量体に於いてDNA結合クレフトは二回回転軸をまたいでおよそ30Å離れており、しかも、この回転軸付近はβ-loop-β4部分が隔壁のように立っている。この様相からcomputer graphicsを用いる蛋白質とDNAのdocking実験によって合理的なHolliday分岐の分子模型を構築できると考えられた。既に、提案されているvon Kitzingらのモデルでは分岐点にDNA鎖をつなぐlinkerは無く、障害無く他方の二重鎖に入り込む。このモデルはどうしても前述の隔壁と衝突し、分岐モデルを二つのクレフトに適合させることができない。しかし、このモデルを修正し二残基程度のlinkerをつけ加えると無理なくクレフト中に組み込むことができる。こうしてこれまでと異なるHolliday分岐のモデルが提案された(Ariyoshi, M. *et al.*, 1994, Cell 78: 1063-1072)。

RuvC蛋白質と大腸菌のRNaseHの間にはアミノ酸配列上有意な相同性は観察されないにもかかわらず、主鎖のfoldingは二つの分子間で著しく似ている。特に、β1, β2, β3, β4, β5 及びαA部分のCa原子座標から計算される最小二乗変位は2.1Åであり非常に小さく高い類似性が実感される。RNaseHはDNA/RNA hybridを特異的に認識し、RNA鎖だけを選択的に分解して5'-phosphateを生成する。この加水反応にはMg<sup>2+</sup>が必須である。この様に、両方の酵素とも活性にMg<sup>2+</sup>等の二価金属イオンを必要とし、5'-phosphateを生成するendonucleaseという点で機能にも類似性がある。RNaseH中には一次構造上不変の4個の酸性残基、Asp-10, Glu-48, Asp-70, Asp-134が存在するが、立体構造

上ではこれらが一ヶ所に集中し活性中心を構成する (Katayanagi, K. *et al.*, 1990, *Nature* **347**: 306-309; Katayanagi, K. *et al.*, 1993, *Proteins* **17**: 337-346). 同じ様に, RuvC 蛋白質も Asp-7, Glu-66, Asp-138, 及び Asp-141 が DNA 結合クレフトの低面に集中し, 活性中心を構成する. 興味深いことに, 三個の酸性残基の側鎖は立体構造的によく重なる. 従って, RuvC 蛋白質と RNaseH の触媒機構は二価金属イオンの役割を含めて互いに類似していると考えられる.

## (2) T4 endonuclease-DNA substrate 複合体

Bacteriophage T4 由来の endonuclease V は紫外線照射によって DNA 中に生じた pyrimidine dimer (PD) を除去修復する最初の反応を触媒する酵素である. 138 個のアミノ酸から構成される比較的小さな蛋白質であるが, pyrimidine dimer glycosylase と apurinic/apyrimidinic endonuclease の両方の活性をもつ. 二番目の反応は  $\beta$ -elimination によって進行し, 通常の加水分解反応とは異なることが解っている. この特徴的な触媒機構と PD の認識機構を立体構造の観点から明らかにするためには酵素と基質 DNA の複合体を結晶化し, X 線構造解析を行うことが必要不可欠である. 問題は結晶化中に基質が切断されることである. これを克服するためには, 野性型酵素と同じ様に基質と結合するが切断活性を失った変異体を用いる事である. 変異体解析 (Doi, T. *et al.*, 1992, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **89**: 9420-9424) と遊離型酵素の X 線結晶構造解析から glycosylase の活性中心が同定された (Morikawa, K. *et al.*, 1990, *Science* **256**: 523-526). 更に, 活性部位変異体の X 線解析の結果, Glu-23 を Gln に置換した変異体 (E23Q) が DNA との複合体の結晶化に最適であることが判明した. 実際, 種々の DNA を screening した結果, 最終的に, 中心付近に thymine dimer をもち, 二本の DNA 鎖の両端に一個の unpaired base を有する 13 mer と酵素の複合体の結晶化に成功した. 結晶は蒸気平衡法を用いて硫酸溶液から成長させた.

回折強度データは imaging plate 回折計 (DIP-100) を使用して収集された. 位相決定は基本的に分子置換法に基づいて決定された. 即ち, 1.45 Å で決定された野性型の酵素を serach model として, 分子の配向と位置を決定, ついで solvent flattening と skelternization を併用して逐次的に位相を改善し, 鮮明な電子密度図を得た. モデルを組立て, 2.78 Å 分解能の強度データを用いて精密化した. 最終の R 因子は 15.2% であった.

複合体中では基質 DNA は大きく変形するが, 酵素は活性中心の側鎖等の小さな構造変化を別にしてほとんど変形しない. DNA は二重鎖の中心に位置する PD 部分で鋭く折れ曲がり (傾角 60 度), PD の両側に分離した B-DNA 領域をつくる. 酵素の塩基性の凹面半分が一方の B-DNA 領域と接触し, 残りの凹面半分が他方の B-DNA 領域と接触する. これらの接触面には多数の水素結合が存在し, 強固な結合であることが実感される. 興味深いことに, 凹面の半分は R 鎖だけと相互作用し, 別の半分は L 鎖だけと水素結合を形成する. 塩基と蛋白質原子間には相互作用が観察されない. PD の二個のリン酸基の間隔は短くなり, これらのリン酸基と酵素の数個の塩基性側鎖間に多くの水素結合が形成される. 類似した相互作用は隣接するリン酸基部分にも観察される. PD の 5'側の thymine に相



補的な adenine は反転し、二重鎖の外側に向き、蛋白質の表面にある空洞に入りこむ。当然、ここでは塩基対は完全に破壊される。しかし、この空洞中に於いて塩基と蛋白質原子間に水素結合は形成されず、弱いファンデルワールス力で捕捉されているようである。これらの著しい DNA の構造変化は酵素が存在しない溶液中では観測されない。従って、induced fit による構造変化である。

解析の結果、触媒機構についても詳細な議論ができるようになった。即ち、5'thymine の 2-carbonyl が Arg-26 によって protonation されること、この正に帯電した遷移状態が Glu-23 によって安定化されること、反応の中間体として酵素の末端の  $\alpha$  アミノ基と PD の 5'-deoxyribose の C1' の間に共有結合が形成されることなどがあきらかとなった。

## B. 細胞遺伝研究系

### B-a. 細胞遺伝研究部門

数奇な歴史の縁により、平成 6 年度の細胞遺伝研究部門は、染色体進化の研究を専門とする今井助教授とマウスを研究する後藤助手のみとなった。後藤助手は、昨年に引続き文部省在外研究員として、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研究所で研究を行っている。従って、実質的に細胞遺伝研究部門は今井助教授のみであった。この束の間の機会を記念して、染色体進化の研究の構想、現在までの研究の進展状況、および今後の研究の見通しについて述べ、その真贋の程は時の流れに委ねたい。

#### (1) 染色体進化とは

真核生物の染色体は 2 本鎖 DNA の高次らせん構造体として細胞の核内に存在する。それは無秩序に存在するのではなく、生物毎にその種固有の染色体の数と形(核型)を持っている。例えば昆虫のアリ類では、染色体数が種により  $2n=2$  から  $2n=94$  まで多様化している。もしその染色体の多様化が、単一の核型を持ったアリの祖先種から派生したとすれば、次の問いかけ、祖先種の核型は？、核型変化のプロセスは？、法則性は？、その生物学的意味は？、等は自然であろう。これらの素朴な問いかけに学問的に解答を与えるのが、染色体進化の研究である。従来染色体は、古典細胞遺伝学が記載と枚挙に終始した事も災いして、単なる遺伝子の入れ物と見られがちであった。しかし、染色体進化には確率的に記述できる法則性が内在し、生物学的に重要な意味が込められているのである。そして、それを明らかにするためには、染色体進化に対する全く新しいアイデアと道具が必要である。

#### (2) 染色体進化の新学説「最小作用説」の構想

今井は 1963 年以來一貫してアリ類およびほ乳類を中心に染色体進化の研究を理論と実験の両面から行ってきたが、1986 年に新学説「最小作用説 (The minimum interaction theory)」を提唱した (Imai *et al.*, 1986, *Am. Nat.*, 128: 900-920)。最小作用説では、減数分裂の太糸期核 (pachytene) 染色体の核内配列 (ハンモック構造) と乗換え (crossing-over) 機構による染色体の相互作用に基づいて、染色体進化を構築する。確率的なアプ

ローチが可能のため、染色体進化を様々な形で数量的に記述できる。またその理論は真核生物一般に適用が可能であり、かつ実験的に検証も可能である。具体的には最小作用説は、「染色体進化が全体として染色体数を増加させる方向に進展する」と予測し、その生物学的意味を「染色体の有害な相互作用（相互転座）を最小にすることにある」と考える。一見瑣末のように見える。しかし、染色体進化が真核生物共通の法則性を持つ事を明らかにし、それに数量的記述を与え、その生物学的意味を明確に提示した最初の理論である。その構想は古典細胞遺伝学の範囲を遙かに超え、集団遺伝学や分子遺伝学さらに系統分類学の分野にまたがっている。

### (3) 染色体進化に関する研究経過

染色体進化の研究は、理論と実験の両面から行ってきた。理論的研究としては、セントロメアのは乳類染色体上におけるノンランダム分布の発見とその細胞学的意味の理論解析 (Imai, 1975, *J. Theor. Biol.*, **49**: 111-123) を皮切りに、逆位による染色体進化の確率論的考察 (Imai and Maruyama, 1978, *J. Theor. Biol.*, **70**: 253-261), 核グラフ法によるほ乳類染色体進化及び進化速度 (Imai and Crozier, 1980, *Am. Nat.*, **116**: 537-569; Imai *et al.*, 1983, *Am. Nat.*, **121**: 477-488), セントロメア融合の理論解析 (Imai *et al.*, 1988, *Jpn. J. Genet.*, **63**: 313-342), 染色体変異ネットワーク解析 (Imai, 1978, *J. Theor. Biol.*, **78**: 619-637; Imai, 1991, *Jpn. J. Genet.*, **66**: 635-661), 染色体バンドパターンの理論解析 (Imai, 1993, *Jpn. J. Genet.*, **68**: 97-118) を発表した。後は核グラフ法による核型進化のコンピューターシミュレーション実験の結果を世に出すのみとなった。これら一連の研究により、染色体進化の数量的記述が整備され、最小作用説の理論的基盤がようやく整った。

実験的研究はオーストラリア産アリ類の核型進化 (Imai *et al.*, 1977, *Chromosoma*, **59**: 341-393) を筆頭に約 700 種のアリ類の核型を観察発表してきた (詳細は省略)。そして、700 番目に真核高等生物中最小の染色体数  $2n=2$  を持つトビキバハリアリ (*Myrmecia croslandi*) が発見される至り、染色体進化の実験的研究が急速に進展した (Imai and Taylor, 1989, *Chromosoma*, **98**: 456-460)。キバハリアリ属 (*Myrmecia*) は、オーストラリア産のもっとも原始的なアリ類の一種で、約 100 種が知られているが、染色体的に非常に多様性に富み ( $2n=2-84$ )、染色体進化の研究に優れた材料である。そこで 1985 年より数次に渡るオーストラリア海外学術調査を計画し、日豪共同研究者 (今井, R. W. Taylor, R. H. Crozier) によるキバハリアリ類の染色体調査を精力的に行ってきた。それ等の研究成果のうち、細胞遺伝学的手法による研究は、トビキバハリアリ種群の染色体進化として平成 6 年に集大成された (Imai *et al.*, 1994, *Jpn. J. Genet.*: 137-182)。この間所外共同研究者平井, 山本, J. Meyne 等と、蛍光 *in situ* hybridization 法 (FISH 法) をキバハリアリ類染色体に応用するプロジェクトに取り組み、リボソーム遺伝子 (rDNA) について基礎的な技術を確立した (Hirai *et al.*, 1994, *Chromosoma*, **103**: 171-178)。

これに勢いを得て、平成 6 年度に再度キバハリアリ学術調査を行った。今回は、 $2n=2$  のアリより分離した 28S rDNA および合成テロメア (GGTTA)<sub>7</sub> をプローブに用い、FISH 法により色々な染色体数 ( $2n=2-76$ ) を持った 16 種のキバハリアリについて観察を行っ

た。その結果、28S rDNA が常にセントロメア近傍ヘテロクロマチン内に存在し多重化すること、及び28S rDNA 保有染色体数が染色体数の多い核型程増加する(2→19)ゲノム内拡散現象を突き止めた。またテロメアに関しては、アリ類のテロメアが、ほ乳類型(TTAGGG)と異なりTTAGG型であること(新発見)、及び常に染色体の両末端のみに存在し、染色体中間部には検出可能な程多量には存在しない(1,000b以下)ことが分った。これらの結果は、最小作用説によって矛盾無く説明され、同学説を支持する分子レベルの実験的証拠として重要なことが分った。詳細は目下論文にまとめつつある。

今後さらに塩基配列レベルでの詳細なデータを得るために、現在 $2n=2$ のトビキバハリアリのDNAコスミドライブラリーを作成中である。テロメアを含むDNA断片の塩基配列が明らかになれば、最小作用説は分子レベルでさらに強力な実験的基盤を持つことになるであろう。次に、これらの染色体進化に関する理論的及び実験的研究を背景にして、平成6年度に行った主要な研究テーマとその成果を示す。

(4) トビキバハリアリ複合種における染色体進化(今井・Taylor\*・Crozier\*\*):

最小作用説の実験的裏付けを得るために、1985年以来数次に渡る学術調査を中心に取り組んできた「オーストラリア産トビキバハリアリ類の染色体調査」の結果がようやくまとまった。本種は長い間分類学的に単一種と考えられてきたが、我々の調査により、染色体的に非常に多型( $2n=2-32$ )であることが明らかになった。詳細な核型分析の結果、本種が染色体的に異なる少なくとも5種(*Myrmecia closlandi*  $2n=2-4$ , *M. imaii*  $2n=6-8$ , *M. banksi*  $2n=9, 10$ , *M. haskinsorum*  $2n=12-24$ , *M. pilosula*  $2n=18-32$ )を含む複合種であることが分った。また核グラフ法及び染色体変異ネットワーク解析の結果から、本複合種の染色体進化が最小作用説の予想通り「全体として染色体を増加させる方向に展開している」ことが明らかになった。特にタスマニア産*M. pilosula*でセントロメア開裂の多発現象(開裂爆発)が発見され、最小作用説は強力な実験的論拠を持つことができた。さらに、*M. pilosula*と*M. banksi*の分布境界面で種間交雑が生じ、交雑帯でヘテロクロマチン(C-バンド)の多重化促進とそれに引き続くセントロメア融合の多発(融合爆発)現象が観察された。これは、スイス野性マウスやヒトに特異的に見られるセントロメア融合多型を説明する上で、また染色体進化におけるセントロメア融合の位置付けを考える上で、重要なヒント(ヘテロクロマチン除去機構)を与えられると思われる。これまで最小作用説は理論研究が先行していたが、今回の研究によりようやく実験的基盤を持つことができた。詳細は、*Jpn. J. Genet.*, **69**: 137-182 (1994)に発表した。

(5) トビキバハリアリ複合種の染色体進化における28S rDNAの多重化とNOR活性(平井\*\*\*・山本\*\*\*\*・小倉\*\*\*\*・颯田\*\*\*\*\*・山田・Taylor・今井):

\* R. W. Taylor: Div. Entomology, CSIRO, Canberra, Australia

\*\* R. H. Crozier: Dept. Genetics and Human Variation, Latrobe University, Victoria, Australia

\*\*\* 京大霊長類研

\*\*\*\* 京都工芸繊維大

\*\*\*\*\* Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen, Germany

高等生物で最小の染色体数  $2n=2$  を持つトビキバハリアリから抽出した DNA を用い、ショウジョウバエのリボソーム遺伝子をマーカーにして、アリ類で始めて 28S rDNA をクローン (pMc.r2) として分離することに成功した。この rDNA をプローブに用い、FISH 法により、染色体数  $2n=3, 8, 10, 18, 27$  を示す各種トビキバハリアリの核型における rDNA の分布を調べた。その結果、rDNA は常にセントロメア近傍のヘテロクロマチン内に多重化して存在すること、及び rDNA 保有染色体数が  $2n=3, 8, 10$  で 2 本なのに対し、高染色体数の核型になるほど増加する ( $2n=18$  で 6 本,  $2n=27$  で 10 本) 傾向 (ゲノム内拡散) が観察された。この現象は、アリの rDNA がたまたまセントロメア近傍に存在し多重化する性質があるため、セントロメア開裂による染色体数の増加に伴って、rDNA 保有染色体の数が増加するとすれば最も合理的に説明できることが分った。つまり rDNA のゲノム内拡散は、最小作用説から導かれる染色体進化と矛盾しない現象であり、最小作用説は分子レベルでの実験的論拠を持ったことになる。詳細は *Chromosoma*, **103**: 171-178, (1994) に発表した。

(6) キバハリアリ属アリ類の染色体進化における 28S rDNA のゲノム内拡散 (平井・山本・小倉・Taylor・今井):

トビキバハリアリ複合種に観察された 28S rDNA のゲノム内拡散現象を、キバハリアリ属のアリ類を用いて再確認実験を行った。キバハリアリ属は約 100 種知られているが、それらは染色体的に著しく多様 ( $2n=2-84$ ) であることが分っている (Imai *et al.*, 1977, *Chromosoma*, **59**: 341-393; Imai *et al.*, 1988, *Jpn. J. Genet.*, **63**: 159-185)。そこで、異なる染色体数を持つキバハリアリ類を用いて、FISH 法により 28S rDNA の検出を試みた。前回の実験で用いたアリ 28S rDNA は、僅かではあるがノンコーディング部位のヘテロクロマチンを含んでいたため、今回それを完全に取り除き、純粋な 28S rDNA を得ることに成功した。これにより、28S rDNA の多重化と染色体上の分布をより精密に解析できるようになった。実験は、文部省の平成 6 年度海外学術調査 (キバハリアリ類における染色体進化と種分化、研究代表者: 今井, 国内研究分担者: 山本, 平井, 国外研究分担者: Taylor, Crozier) の補助金により平成 6 年 11 月 17 日~12 月 21 日に行われた。16 種についてデータを得ることができた。それらの種を低染色体数種 ( $2n=2-8$ )、中染色体数種 ( $2n=10-32$ )、及び高染色体数種 ( $2n=38-76$ ) に分類するとき、ゲノム当たりの 28S rDNA 保有染色体数は各々平均 2 本 (2-3)、5.6 本 (2-10)、10.9 本 (6-19) であった。この結果により、28S rDNA のゲノム内拡散が再確認された。さらに、セントロメア開裂に引き続いて多重化した rDNA の一部が、ヘテロクロマチン間の転座により別の染色体に移る現象 (水平移動) が観察された。水平移動により高染色体数種では rDNA 保有染色体の数が急速に増加できる。この拡散過程は、不可逆的なので、高染色体数から低染色体数への変化は原理的に不可能になる。従って、キバハリアリ類の染色体進化は全体として、低染色体数種から高染色体数種に向うことになり、最小作用説はさらに強力な実験的基盤を得たことになる。詳細は、目下論文にまとめつつあり、近いうちに学術雑誌に発表予定である。

(7) FISH 法によるキバハリアリ類染色体のテロメア観察 (Meyne\*・平井・今井):

1988 年以来 Meyne と共同研究で FISH 法によるアリ類のテロメア研究に取り組んできた。当初は乳類の TTAGGG 型テロメアを用いたが、実験は成功しなかった。最近その原因の一つが、アリ類染色体標本作成時に細胞質除去のため使用した氷酢酸による DNA のダメージにあることを突き止めた。しかし、染色体標本作成技術の改善にもかかわらず、テロメアの FISH シグナルが弱く、アリ類染色体がほ乳類と異なるテロメア配列を持つ可能性が高まった。そこで上記 (6) に述べた平成 6 年度海外学術調査の機会を利用して、2 種の合成テロメア (GGGTTA)<sub>n</sub> と (GGTTA)<sub>n</sub> をプローブにし、各種キバハリアリ染色体を用いて染色性の比較を行った。その結果、キバハリアリ類のテロメアは TTAGG 型で、ほ乳類の TTAGGG 型とは異なることが明らかになった。さらにアリ類のテロメアは、 $2n=2-76$  のいずれの核型でも常に染色体の両末端のみに極在して、セントロメア近傍のヘテロクロマチン部も含め介在部には全く FISH シグナルが観察されなかった。これは、もし介在部にテロメア配列があっても、1,000 ベース以下 (FISH 法の検出精度) であることを意味し、ヘテロクロマチン部を含む介在部にテロメア配列が頻繁に観察されるほ乳類と著しく異なっている。この現象は、「太糸期染色体のテロメアが蛋白質で完全に被覆され核膜に結合しているため、染色体突然変異の際反応できないとすれば」、最小作用説のハンモック構造で矛盾なく説明できる。一方ほ乳類では、テロメアが巨大なため反応に組み込まれて、染色体の介在部に拡散したものと思われる。つまり、アリ類のテロメアシステムは Muller (1938) の提唱したテロメア概念により忠実な系と思われる。今回の FISH 法によるテロメア染色の成功により、アリ類染色体の構造と形態変異のより精密な記述が可能になった。現在  $2n=2$  のトビキバハリアリの DNA を用いてコスミドライブラリーを作成しつつある。これが完成して、テロメアを含む DNA 断片が得られるようになれば、近い将来さらに塩基配列レベルでアリ類のテロメア構造を解明することが可能になるであろう。本研究の一部は、目下 Chromosoma に投稿中である。

(8) キアズマグラフ法によるキアズマの理論解析 (和田\*\*・今井):

生殖細胞の太糸期核で生じる乗換えは、複糸期から第一減数分裂中期にかけてキアズマとして光学顕微鏡的に観察される。そこで、逆にキアズマの観察から乗換え機構を解明しようと言う試みが Darlington (1932) 以来続いてきた。このアプローチでは、キアズマの位置と頻度の情報が重要な手がかりになる。これに関連して、Darlington はキアズマ末端化仮説を提唱した。以来総てのキアズマ研究はこの仮説の上に積み上げられてきた。しかしこの仮説では、キアズマの位置と頻度情報が不確定になるので、上記のアプローチの基盤は根底から崩れることになる。これは染色体進化の出発点を太糸期核の染色体配列と乗換え機構に置く「最小作用説」にとっても重大な問題である。幸い BrdU ラベル実験により、キアズマ末端化仮説は最終的に否定された (Tease and Jones, 1978)。しかし、営々と積み上げられてきたキアズマの膨大なデータは砂上の楼閣と化した。昨今分子レベルの研

\* J. Meyne: Los Alamos Natinal Laboratory, U.S.A.

\*\* 天然自然動物園

究が細胞の分野にも席卷しているが、キアズマは古典細胞遺伝学的手法により十分な精度を持って観察でき、かつ生物学的に重要な情報を提供し得る可能性を秘めている。ただ従来の細胞遺伝学では、キアズマのデータ解析があまりにも定性的で記載的に過ぎたきらいがある。そこで、我々はキアズマ現象とその解析方法について理論的に深く考察し、キアズマグラフ法を開発した。本手法は、キアズマの位置情報を定量的かつ視覚的に一目で分るように表現でき、しかもどんな核型にも適用できる優れた性質を備えている。キアズマグラフ法を用いて、チャイニーズハムスター、マウス、イヌについてキアズマ解析を行った結果、(1)キアズマ分布はセントロメア部位と染色体末端を除いてランダムである、(2)末端キアズマは非キアズマ結合である、(3)キアズマ頻度/細胞を一定に保つ遺伝的機構が存在する、の3点が明らかになった。ランダム事象としてのキアズマは、最小作用説の理論計算に細胞学的論拠を与える。また、DNAレベルの乗換え現象が太糸期染色体の高次構造に強く依存していることは、古典細胞遺伝学の学問的存在価値を保証するものである。詳細は Jpn. J. Genet., 70: 233-265 (1995) に発表した。

(9) 日本産アリ類カラー画像データベース (今井・月井\*・木原\*・鶴川\*\*・久保田\*\*\*・近藤\*\*\*\*・小野山\*\*\*\*\*・寺山\*\*\*\*\*・橋本\*\*\*\*\*):

アリ類の染色体進化の研究をするとき、常に障壁になる問題は、採集したアリの種の同定である。例えば、東南アジア産アリ類の半数は未記載種又は種名不明である。これでは折角染色体を観察しても論文にまとめることができない。日本産アリ類についても事情は似ており、種の分類同定問題は避けて通れない。そこで、日本蟻類研究会を中心に、国立遺伝学研究所研究会、文部省科学研究費補助金(データベース)その他の助成を受けて、日本産アリ類の分類整理を行ってきた。その成果は、日本産アリ類和名一覧(1988)、同検索と解説 I (1989)、II (1991)、III (1992)、文献目録(1994)、及び県別分布図(1994)として刊行され、ここに一応の完結を見た。しかしこれらの作業を通して、従来の分類学に内在する本質的な問題点、種同定の基になるタイプ標本の多くが欧米の博物館に所蔵されており日本人は容易に利用できないこと、また分類検索情報が二分岐法による文章情報であるため生物の複雑な形状を十分表現できない等、が明らかになった。これらの問題は、カラー画像を分類情報として利用することにより大幅に改善される。さらにコンピュータネットワークを通じて情報公開することにより、分類情報を世界中で共有することが可能になる。そこで我々は、21世紀が「開かれた分類学」の時代と位置付け、日本産アリ類をモデルケースとした分類の新しいデータベースシステムを構築し、CD-ROMやInternet等の情報メディアを通してカラー画像を含む高密度の分類情報を広く世界に公開する計画を進

\* 法政大

\*\* 農業生物資源研究所

\*\*\* 小沢高等看護学院

\*\*\*\* 白梅短大

\*\*\*\*\* 帯広畜産大

\*\*\*\*\* 東大

\*\*\*\*\* 兵庫県立人と自然の博物館

めている。本計画の一部は、先に完成した日本産アリ類の分類と検索のデータをベースにタイプ標本を含むアリのカラー画像約 170 種を加え、電子アリ図鑑（WWW 版日本産アリ類の検索と解説）として既に Internet 上に公開された（ホストサーバ、法政大；ミラーサイト、農生研）。本データベースは、系統分類学関連分野で、現在世界で最も進化したタイプである。今後さらに国外の博物館に分散する日本産アリ類のタイプ標本のカラー写真を加え、完全マトリックス法を用いたランダムアクセス高速検索システムを導入して、データベースを充実させる予定である。

### 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、外国人研究員管志文、大学院生浅野敏、技能補佐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 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”(1)「ストレス応答の仕組み」(代表者・矢原一郎)(堀内)、一般研究 C「細菌細胞の分裂隔壁形成の制御機構」(原)、及び一般研究 C「大腸菌の SOS 応答における細胞増殖の制御機構」(東谷)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、「複製過程における DNA-蛋白質、蛋白質-蛋白質の相互作用の研究」(上智大・廣川秀夫)、「大腸菌の蛋白質分解酵素 Prc の作用標的」(東邦大・西村行進)、「大腸菌ペプチジル-プロリル・シス・トランスイソメラーゼの生理機能」(東邦大・藤崎真吾)の諸共同研究を行った。

#### (1) 大腸菌及びそのフェージの DNA 複製機構に関する研究

(a) 繊維状フェージにおけるプラス鎖複製開始蛋白質の構造と機能の相関関係についての研究(浅野・東谷・堀内): 繊維状フェージ(f1, fd, M13)は環状一本鎖 DNA をゲノム(プラス鎖)として持つフェージである。このフェージは、大腸菌雄株の性線毛(F-pili)を介して感染し、感染後速やかに宿主酵素群を用いて相補鎖(マイナス鎖)を合成する。マイナス鎖合成終了後、フェージ自身のコードしている蛋白質群を合成し、プラス鎖合成、形態形成を行い、宿主を殺すことなしに菌体外にでてくる。

プラス鎖合成はローリングサークル型の複製により行われる。プラス鎖合成において最も重要な役割を行うのが、複製開始蛋白質(gpII)である。その複製はgpIIがプラス鎖 origin の特定の位置に nick(一本鎖切断)を導入することによって開始され、その 3'-OH 末端をプライマーとして DNA polymerase III ホロ酵素によって伸長が進行する。

これまでに我々は、複製開始蛋白が origin DNA に結合すると nick 部位の近傍の 2 本鎖 DNA に二重螺旋構造の解消 (melting) が起きること, melting には負の超螺旋を必要とすること, nicking 反応には, Mg イオンを必要とすること, さらに合成オリゴ DNA を用いた解析により, gpII が一本鎖 DNA の特異的な配列を認識して切断する endonuclease 活性を持つことを明らかにしてきた。

今回我々は, gpII と nick 導入後の DNA の 5' 末端が, 共有結合を形成するかどうか検討した。この現象は,  $\phi$ X174 フェージやグラム陽性菌のプラスミド pT181 ファミリーといったローリングサークル型の複製を行うフェージ, プラスミドの複製開始蛋白において観察されるものである。

具体的には, 合成オリゴ DNA を用いて, gpII が認識すると考えられる  $\beta, \gamma, \delta$  リピート配列周辺が二本鎖となり, nick 部位近傍が一本鎖となる基質を用いて, gpII に切断反応を起こさせ, その産物を SDS-PAGE によって解析する系を用いた。このような系では, nick の起こる効率が最も高いからである (A. Higashitani *et al.* J. Mol. Biol. 237, 388-400, 1994)。その結果, 少量のオリゴ DNA-gpII 複合体の形成が確認された。この複合体は, 非常に不安定であり, 反応開始直後には検出されるが, その後短時間に検出されなくなる。これに対し, 薬剤耐性プラスミド R100 の伝達複製における複製開始蛋白である TraI 蛋白について同様な実験を行うと, 極めて安定な複合体を形成した。

複製開始蛋白の変異の一つである G73A 変異蛋白は, 野生型に比べ効率よく複合体を形成する。現在我々はこの G73A 変異蛋白を用いて DNA と共有結合を形成するアミノ酸残基, つまりこの複製開始蛋白の活性中心の同定を試みている。nick 部位に  $^{32}\text{P}$  を持つ基質を作成するために, 5' 末端側から順番に, nick 部位の 3' 領域, それに続く  $\beta, \gamma, \delta$  リピート配列, さらに nick 部位の 5' 領域を持つオリゴ DNA を作成し, T4 kinase によって放射性ラベルを導入した後, T4 ligase をもちいてライゲーションを行った。この基質と gpII を反応させて, gpII-DNA 複合体を形成させ, 加水分解後ろ紙電気泳動によってリン酸化アミノ酸の同定を試みている。

(b) 大腸菌イニシエーター DnaA 蛋白の熱安定化機構 (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 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いだしたが, 本年はこの DnaA-DnaK 相互作用を生化学的にさらに解析するための予備的な研究を行った。まず, 変異 DnaA を大量調製するための DnaA の発現系の開発を行った。従来我々は高温でコピー数の高くなるランナウェープラスミドをベクターにして DnaA の調製を行ってきたが, この方法では必ずしも十分な純度の DnaA が得られないことが多いので, T7 の発現系を用いることにした。dnaA 遺伝子のイニシエーションコドンは GTG であるがこれを ATG とした dnaA 遺伝子を PCR 法で作成し, T7 の gene10 のプロモータ, SD 配列の下流にクローン化したプラスミドを作ったがこれは T7 RNA ポリメラーゼ遺伝子を持つ大腸菌では安定に保持されることが分かった。そこでプロモータを lacUV5 のものに変えたところ, IPTG による誘導で従来の約 10 倍の DnaA が産生されることが分かった。この発現系を用いて十分の



純度と量の DnaA を得ることが出来たのでこのプラスミドから種々の変異 DnaA を調製し、DnaK との相互作用を調べる予定である。次に、DnaA の DnaK との結合を簡単に測定するために、dnaK 遺伝子を malE 遺伝子の C 端側に融合したものの作成を行った。この融合蛋白を malE 部分でアミロース樹脂に結合させることで DnaK を樹脂に固定できるので、従来のしょ糖勾配遠心法によるよりも簡単な DnaA-DnaK 相互作用の測定が出来る。精製した MalE-DnaK 融合蛋白は DnaA と結合して大きい分子量の複合体を作り、DnaA の熱安定性を通常の DnaK と同じくらいあるいはそれ以上に増大させることが確認された。この融合蛋白を用いた測定法で DnaA-DnaK 相互作用のより詳しい解析を行う予定である。

## (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 3 の酵素活性中心置換による優性致死効果を打ち消す遺伝子内サプレッサー変異の分離 (原・堀内): ペニシリン結合蛋白 (penicillin-binding protein, PBP)3 は、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細胞質膜蛋白で、分裂隔壁部分の細胞壁ペプチドグリカン形成のためのペプチド側鎖架橋酵素として働いている。その酵素活性中心である N 末端から 307 番目のセリン残基をアラニン等に置換したものを過剰生産させると優性の致死効果を示すことや、N 末端部分や C 末端部分を置換・欠失させたものの解析から、PBP3 が複合体を形成して分裂隔壁形成に働いており、N 末端数十残基がその複合体形成に重要であることが考えられた。そこで、N 末端部分に変異を誘起して、活性中心置換による優性致死効果を打ち消すようになったものを分離することにした。そのような遺伝子内サプレッサー変異の中には複合体形成能に欠損を生じさせるものが見出され、単独にする (正常な活性中心と組み合わせる) ことにより従来知られているような酵素活性に欠損を生じるものとは異なる新しい種類の PBP3 の変異が得られて、隔壁形成に働く蛋白複合体を調べる手掛かりが得られることが期待される。まず、サプレッサーとして高温 (42°C) で働くが低温 (30°C) では働かないものの分離を試みた。N 末端部分にナンセンス変異やフレームシフト変異が生じて活性中心置換をもつ産物が見つられなくなったようなものを容易に除外でき、また、単独にした時に複合体形成能が高温感受性となっているようなものが得られれば更にその遺伝子外サプレッサーを探すなどの解析に利用できると考えたからである。野生型の PBP3 の構造遺伝子 *ftsI* をもつプラスミドにミューテーター株 (*mutD* 株) の中で変異を誘起し、いったん、染色体上の *ftsI* を欠失しプラスミド上の *ftsI* の発現が *lac* プロモーターの制御下にある株に、誘導物質 IPTG 非存在下に 30°C で導入することにより、低温では機能できる PBP3 をつくるもののみを殖やした。それから切り出した N 末端部分 241 番目の残基までをコードする DNA 断片を、*lac* プロモーター制御下に、活性中心置換を含む C 末端側と組み合わせ、まず IPTG 存在下に 42°C で優性致死効果を打ち消すものを得て、更に 30°C ではサプレッサーとして働かないものを選び出した。その内の一つは期待通り、正常な活性中心と組み合わせると高温感受性で、30°C では染色体上の *ftsI* 欠失を相補したが、42°C では十分相補せず、細胞分裂が正常に行なわれずに細長い細胞となった。しかしながら、高温でも完

全には致死とならず、更にその遺伝子外サプレッサーを探すなどの解析には適していなかった。活性中心置換変異が優性致死効果を示すには野生型に比してかなり高いコピー数が必要で、低コピー数では優性の負効果は示しても致死にはならない。今回得られたN末端部分の変異も、N末端部分の担う機能が高温で完全に欠損するわけではないが優性致死に至らないようにはできたものと考えられる。今後、温度条件に無関係のサプレッサーの探索も行なう予定である。

(b) ペニシリン結合蛋白質3の遺伝子を含むオペロンのプロモーター（原・堀内）：PBP3の構造遺伝子 *ftsI* は、染色体地図上2分の領域で細胞分裂に働く遺伝子やペプチドグリカン合成系の遺伝子がすべて同じ向きに殆ど隙間なく並んでいる大きなクラスターの中にある。*ftsI* 遺伝子の発現に必要なプロモーターは以前に考えられていたすぐ上流ではなく約1.9 kb 上流付近にあり、染色体上のこのプロモーターを破壊して替りに *lac* プロモーターを挿入した菌株はIPTGがないと生育できない。このプロモーターから *ftsI* の下流の遺伝子5つまでを含む染色体断片をクローン化したプラスミドを導入してやっとIPTGなしに生育できるようになった。*ftsI* とその上流の *ftsL(mraR)* 遺伝子・35 kDa 蛋白質の遺伝子・456 bp の読み枠に加えて、下流に続く *murE*・*murF*・*mraY*・*murD*・*ftsW* まで、約10 kbにわたる領域の遺伝子の発現にこのプロモーターが必要であると考えられる。

(c) *prc* 欠失変異株の高温感受性をサプレスする *spr* 変異（原・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ものとして見出されたペリプラズムのプロテアーゼである。これを欠く *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ところ、すべて染色体地図上47分付近にマップされた。*prc*<sup>+</sup> にすると再び低塩濃度培地で高温感受性を示し、この遺伝子 *spr* 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。*spr* 遺伝子を同定するため、整列コスミドコレクションの47分付近に相当するものから *spr* 変異株を高温耐性とする遺伝子をサブクローン化した。これは *spr* 変異の対立遺伝子ではなく、多重コピーサプレッサーであった（次項参照）。詳細なマッピングの結果、*spr* 遺伝子はこの多重コピーサプレッサー遺伝子から約1分離れた *fruA* 遺伝子のごく近傍にあることが示された。整列入フェージコレクションの *fruA* 近傍をもつものの中に、プラスミドから *cl* レプレッサーを発現している *spr* 株に感染させると高温耐性の形質導入体の得られるものがあつたので、それからのサブクローン化を進めている。

(d) PBP7をコードする遺伝子（原・安部\*・中小路\*・西村\*・堀内）：整列コスミドコレクションからサブクローン化した *spr* 変異株の高温感受性を矯正する遺伝子（前項参照）は、染色体上のこの遺伝子に挿入した薬剤耐性遺伝子（後述）と高温感受性がP1フェージによる形質導入実験で分離したこと、また *spr* 変異株のこの遺伝子のDNA塩基配列が野生型と同一であったことから、*spr* の多重コピーサプレッサーであることがわ

\* 東邦大学・理学部

かった。この遺伝子の塩基配列を調べると、その産物も PBP に共通のモチーフをもっていた。確かにペニシリンとの結合が観察され、分子量・各種  $\beta$ -ラクタムへの親和性・OmpT プロテアーゼへの感受性などから、ペプチドグリカン架橋分解酵素である PBP7 と同定した。この遺伝子を薬剤耐性遺伝子の挿入によって破壊したものを染色体上に導入しても、分裂・増殖には影響が現れなかった。prc 欠失株では放射性ペニシリンで標識される PBP 7 の量が増えるので、この蛋白も Prc プロテアーゼの基質となるらしい。

(e) *envC* 遺伝子 (原・山本\*\*・西村\*・堀内): PM61 株に最初見出された *envC* 変異は、分裂隔壁の形成と形成後の細胞分離に異常を生じさせ、さまざまな長さの細胞が鎖状に繋がったものにする。*envC* 変異はクリスタルバイオレットに対する感受性も引き起こすので、それを相補するものとしてクローン化した遺伝子は、確かに細胞形態の異常を矯正し、染色体地図上の位置は 82 分付近で以前の接合や P1 形質導入によるマッピングの結果と合致した。ところが、ドイツの研究グループによって、約 73 分の位置の遺伝子をクローン化して *envC* 遺伝子だとする報告があった。そこで、私たちがクローン化した遺伝子を薬剤耐性遺伝子の挿入によって破壊したものを染色体上に導入したところ、増殖はできたが、PM61 株由来の *envC* 変異と同様な細胞形態異常とクリスタルバイオレット感受性を引き起こした。また PM61 株のこの遺伝子の塩基配列に野生型と比較して 1 塩基の変異があり、アミノ酸残基 1 つが変わっていることを示した。従ってこれこそ真の *envC* 遺伝子である。

(f) SOS 応答における細胞増殖の制御機構 (東谷・堀内): DNA が紫外線や放射線、変異原物質などで傷つけられたとき、大腸菌においては、SOS 応答と呼ばれる一連の転写調節機構を発動させて、DNA の修復を行う。この応答には、細胞増殖を一時的に停止させるために、細胞分裂阻害蛋白質 SulA の一過的な産生がみられる。SulA 蛋白質による細胞分裂阻害の機構は、細胞分裂に関わる FtsZ 蛋白質をその標的にしていることが、これまでの遺伝学的研究から報告されているが、その生化学的詳細は不明である。

そこで本研究では、maltose binding protein (MBP) の fusion SulA 蛋白質 (ref. Sonezaki *et al.*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* in press) と FtsZ 蛋白質とを精製し、*in vitro* 系で両者の相互作用について検討した。その結果、(1) FtsZ 蛋白質と SulA 蛋白質は GTP の存在下で安定な complex を形成すること。(2) この反応には GTP の水解が必要であること。(3) また complex は両蛋白質分子 1:1 で形成されること。などが明らかになった。またプラスミド上に *sulA* 遺伝子を clone 化し、遺伝学的手法により、SulA 蛋白質が多量生産される条件下でも細胞増殖が阻害されない suppressor 変異株を約 20 株分離した。それら変異の位置を transposon Tn10 による mapping 法 (ref. A. Higashitani *et al.*, (1994) *Nucl. Acids Res.* 22, 2426-2427) で決定した。その結果、1 つのグループは pBR プラスミドのコピー数を制御する *pcnB* 遺伝子の変異であり、もう一方は、*ftsZ* 遺伝子の変異であった。前者はプラスミドのコピー数を低下させ、その結果 SulA 蛋白質の多量生産を抑

\* 東邦大学・理学部

\*\* 兵庫医科大学・遺伝学教室

制する変異であった。後者の *ftsZ* 変異は、SulA 以外にも、MinCD という大腸菌が先端部で分裂ないように制御しているもう一つの細胞分裂阻害因子に対しても耐性を示す変異であった。

以上の結果から、細胞分裂阻害因子 SulA は直接的に FtsZ と相互作用すること、また別の細胞分裂阻害因子 MinCD も SulA と何らかの類似する機構により FtsZ をターゲットとして細胞分裂の制御を行っていることが、示唆された。

### B-c. 細胞質遺伝客員研究部門

細胞質遺伝客員研究部門では原核および真核生物の細胞質因子を主な研究対象として遺伝子の機能と構造の解明を進めている。平成6年度は東京大学農学部の大坪栄一教授および福山大学工学部の森脇和郎教授を本部門に迎え、細胞遺伝研究系の各研究室との各種の共同研究を行なった。

#### (1) 動く遺伝子トランスポソンの研究。(大坪栄一)

1) バクテリアの挿入因子 IS3 がコードする二つのオーバーラップする orf (A 及び B) で翻訳レベルでのフレームシフトが起こりトランスポゼースが産生されることを明らかにした (Sekine *et al.*, 1994, *J. Mol. Biol.*, **235**: 1406-1420)。フレームシフトには A と B 間に存在する AAAAG 配列とその下流に存在するシュウドノット構造が必須であった。フレームシフトが起こらない場合 A, B 両タンパク質が産生されることも分かった。さらに、細胞内でトランスポゼースを誘導産生させると、IS3 のみから成る直鎖状と環状の分子、及び、プラスミドから IS3 が抜け出たバックボーン分子が生じること、また、IS3 が他の分子に単純挿入した産物が生じること、を見いだした。これらの結果は、トランスポゼースが IR 末端で double-strand breaks を引き起こし、切り出された分子が標的分子に単純挿入することを示唆する。IS3 のトランスポゼースは、レトロウイルスのインテグラーゼと共通の DDE モチーフを有すること、IS3 及びレトロウイルスが直鎖状・環状 DNA を共に生成することから、両者に共通の転移機構が存在する可能性を示唆した (Sekine *et al.*, 1994, *J. Mol. Biol.*, **235**: 1406-1420)。一方、他の挿入因子 IS1 でもフレームシフト機構によりトランスポゼースが産生されるが、精製した IS1 のトランスポゼースは自身の末端逆向き配列 IR に特異的に結合するばかりではなく、DNA 非特異的に結合する活性も併せ持つことも明らかにした (Sekino *et al.*, 1995, *Adv. Biophys.*, **31**: 149-162)。

2) DNA の複製を伴って転移する Tn3 ファミリーのトランスポソンの一メンバーで、F プラスミドに存在するガンマ・デルタがコードするトランスポゼースの解析を行い、それが Tn3 のトランスポゼースと構造及び機能的に最も近縁であることを示した (Mae-kawa and Ohtsubo, 1994, *Jpn. J. Genet.*, **69**: 269-285)。また、Tn3 の cell free 転移系を確立し、トランスポゼースが IR の 3'末端にニックを導入する活性を持つこと、このニックング活性を 5 倍以上昇させる分子量 13,000 の宿主タンパク質が存在すること、を見いだした。

3) イネにおいて、既知の植物の転移性遺伝因子とは異なる二つの因子 Tnr1 (230 bp)

と Tnr2 (147 bp) を見いだしたが、両者ともそれらの大きさから考えて、自律性因子ではなく、その存在によって転移できるような非自律性因子と考えられた。そして、Tnr1 は TA 配列に特異的に転移すること (Tenzen *et al.*, 1994, *Mol. Gen. Genet.*, **245**: 441-448), Tnr2 は特異的でない 8 bp の配列を標的として転移することを示した。また、*wx* 遺伝子内に存在するレトロポゾン p-SINE1 がイネの進化の一時期に転移したこと (Hirano *et al.*, 1994, *J. Mol. Evol.*, **38**: 132-137), イネの TrsA と名付けたタンデム配列がトランスポゾンとは異なる様式で転移したのではないかという結果も得た (Ohtsubo and Ohtsubo, 1994, *Mol. Gen. Genet.*, **245**: 449-455)。

#### (2) 大腸菌の接合による DNA 伝達機構の解析。

接合伝達というダイナミックな現象は、*tra* 遺伝子を持つプラスミドによって引き起こされる。DNA の移動に直接関わる *tra* 遺伝子 (*traM*, *traY*, *traI*) の産物の内、TraI タンパク質 (=DNA helicase I) が DNA 伝達開始点 *oriT* にニックを入れる活性を持ち、TraY タンパク質と IHF がこの活性を促進することを示した (Inamoto *et al.*, 1994, *J. Biochem.*, **116**: 838-844)。さらに TraI が *oriT* を持つ一本鎖 DNA を切断する活性と再結合する活性を有することを明らかにした。この結果は TraI が DNA 伝達の開始のみならず、ローリングサークル型複製を 1 単位 で正確に終結させるという反応に関与していることを示すものと考えられる。一方、*oriT* 領域を膜近傍に保持し一本鎖 DNA の受容菌への移動を可能にする機能を果たしていると考えられる TraM の 4 か所の結合部位が *in vivo* における高効率の DNA 伝達に必要であったことから、ここで形成される TraM-DNA 複合体が DNA 伝達にとって重要であると考えられた (Abo *et al.*, 1995, *J. Bacteriol.*, in press)。

#### (3) R100 プラスミドの安定保持に関わる遺伝子座 *pem* に相同な宿主遺伝子座 *chp*。

*pem* にはオペロンを形成する二つの遺伝子 *pemI* と *pemK* が存在し、*pemK* は細胞生育を阻害するタンパク質、*pemI* は *pemK* の機能を抑制するタンパク質をコードする。大腸菌染色体上には *pem* のホモログが二つ (*chpA*, *chpB*) 存在し、*chpAK*, *chpBK* 遺伝子産物が PemK 同様に細胞生育阻害タンパク質であり、*chpAI*, *chpBI* 遺伝子産物が ChpAK, ChpBK の生育阻害能をそれぞれ抑制することを示した (Masuda *et al.*, 1994, *J. Bacteriol.*, **176**, 5861-5863)。*chpB* 及び *chpA* の破壊株が野生株同様に生育したことから *chp* 遺伝子座は菌の生育に必須ではないことが明らかとなった。

#### (4) マウスの遺伝学

1) マウス亜種の遺伝的分化と地理的分布の研究 (森脇・宮下\*1・土屋\*2・松田\*3・坂井\*4・米川\*5・鈴木\*6): 血清蛋白質の電気泳動像, 染色体 C バンドパターン, ミトコンドリア DNA やリボゾーム DNA の RFLP 等の遺伝的多型を指標に, 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た。本年度は中国西北地域, 東北地域および長江兩岸地域の野生マウスの採

\*1 香川医大, \*2 宮崎医大, \*3 放医研, \*4 金沢大癌研, \*5 臨床研, \*6 慈恵医大

集・調査を行い、ミトコンドリア DNA、ヘモグロビンβ鎖等の多型的変異を分析するとともに、剥製標本を作成した。一部ロシアを含む東北地域北部における castaneus 型遺伝子の存在は、ウルム氷期以前に castaneus 亜種群のマウスが中国東北地域及び沿海州南部にまで分布し、その後 musculus 型のマウスが西方から移動してきて castaneus 型マウスの分布を南北に分断した可能性をも示唆する。

2) 国外に於ける研究活動：森脇教授は7月3日から11日まで英国エジンバラ市で開かれた第9回マウス分子遺伝学国際ワークショップに出席した。また、国際実験動物科学協議会(ICLAS)理事会およびシンポジウムのため、9月9日から9月18日までインドのハイデラバード市を訪問した。10月16日から27日までベセスダの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、11月6日から13日まではロンドンにおける第8回マウスゲノム国際コンファレンスに出席した。中国との国際学術研究は、12月6日から12日まで森脇教授、宮下助教授<sup>\*1</sup>、土屋助教授<sup>\*2</sup>、松田主任研究官<sup>\*3</sup>、坂井助教授<sup>\*4</sup>によって行われた。

## C. 個体遺伝研究系

### C-1. 発生遺伝研究部門

当研究部は、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。従来は、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きた。また最近は、発生機構の制御に関与するペプチド性シグナル分子の大規模分離を行い、各分離ペプチドの作用を調べる研究を進めている。

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。大学院生メンバーとして、総合研究大学院大学生命科学研究科の藤沢千笑は、前年度に続いて間幹細胞集団の研究を行った。村手源英は前年度に引き続き、受託大学院生として新潟大学医学部において、電子顕微鏡を用いてヒドラ組織の超微細構造の研究を行った。岸本康之はヒドラ外・内胚葉上皮細胞の形態形成の研究を行った。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レゲンの遺伝子の研究を行った。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ひ、川原昌子が補助業務に従事した。

本年度の主要研究テーマは下記の通りである。

(1) ヒドラのペプチド性シグナル分子の大規模スクリーニング (藤沢敏孝・清水 裕・服田昌之・杉山 勉、宗岡洋二郎・小泉 修)：ペプチド性シグナル分子は、動物組織に広く分布し、神経伝達物質、ホルモン等として様々な生理調節作用に重要な役割を果たす。また、細胞分裂、分化の制御因子 (細胞増殖因子) や、形態形成の制御因子 (形態形成因

子)として、発生過程の調節にも重要な役割を果たす。しかし今までに、形態形成因子として分離され、構造決定された例は少ない。本計画は、ヒドラ発生制御に関与するペプチド性シグナル分子、とくに形態形成因子の分離を目的とし、新しい方法を開発し、大規模スクリーニングを開始した。

予備実験として、ヒドラ生材料 150 g からペプチドを熱酢酸 (5%) 法で抽出し、まず 15 粗分画に分離した。そしてそのうち 1 分画を選び、イオン交換及び逆相 HPLC を交互に繰り返し、61 ペプチドを単離した。この結果から、ヒドラ組織には総数 500 程度程度のペプチドが存在すると推定される。分離した 61 ペプチドは、全てアミノ酸配列を決定し、そのうち構造上特に興味ある 4 種類の化学合成を行った。合成標品と天然物は HPLC および質量分析で一致した。合成ペプチドの 1 種 Hyd-23 は、ヒドラの頭部形成を促進するとされる Head-activator と、C 末端アミノ酸 10 残基中 5 残基の配列が一致している。

Hyd-23: KVVQGGKPTGEVKQIKF

Head-activator: <pEPPGGSKVILF

合成ペプチドがシグナル分子であるか否かは、ペプチドがヒドラの遺伝子発現に影響を与えるか否かで判断した。ペプチド ( $10^{-7}$  M) で処理したヒドラと、対照未処理ヒドラから RNA を抽出し、Random Primer PCR Differential Display (RPPDD) (Liang&Pardee, 1992) 法を用い、遺伝子発現の差を検出した。その結果、Hyd-23 は処理個体の遺伝子発現に強い影響を与えることが明らかとなった。対照として用いたアクチン断片ペプチド (7 アミノ酸) は、遺伝子発現になんら影響を与えなかった。これらの結果は、Hyd-23 が細胞表面の受容体を介し、細胞内情報伝達系を経て遺伝子発現に影響を与える作用を持つこと、また RPPDD 法がシグナル分子のアッセイ法として非常に有効である事を示す。

上記予備実験の結果に基づき、ペプチド抽出法に改良を加え、RPPDD 法をアッセイ系とし、ヒドラのペプチド性シグナル分子の大規模スクリーニングを開始した。ヒドラ生材料 500 g からペプチドを抽出し、その 1 分画から、120 ペプチドを単離した。このうち比較的収量の多いペプチドは、半量を RPPDD アッセイに用い、活性を示すものは残りの半量もちいて構造決定を行う。収量の少ないものは、RPPDD アッセイを省略し、直接構造解析を行う。現在までに約 40 ペプチドの RPPDD アッセイを終了し、16 個の活性を有するペプチドを得、7 個について構造決定、化学合成を終えている。

本計画で開発した方法は、ペプチド性シグナル分子を分離するための優れたアプローチであると考えられる。今後、更に多くの活性ペプチドを分離、構造決定、化学合成し、合成ペプチドを用い、ヒドラ生体内機能の解析を行う。

(2) エピトープ選抜法によるヒドラのマーカー遺伝子の単離 (服田昌之・坂口雅彦・小早川義尚): ヒドラの形態形成過程、細胞分化過程を追跡するためのマーカー分子の分離を目的とし、細胞特異的に発現される遺伝子の分離を行った。分離法としてエピトープ選抜法を採用し、cDNA クローンと、その遺伝子産物を特異的に識別する抗体を、セットとして分離した。その結果以下 4 セットのマーカー遺伝子と抗体を得た。第一はミオシン重鎖アイソフォームの遺伝子とその抗体である。この抗体は、外胚葉の上皮筋突起を認識する。

この抗体を用い、再生、出芽過程における外胚葉上皮筋突起の動態を詳細に解析中である。第二セットの抗体は、刺細胞の細胞質特定部分に局在する分子を識別する。免疫染色パターンから、この分子は刺胞カプセルと連結する細胞骨格成分の一種である可能性が考えられる。この遺伝子は、塩基配列から新規の遺伝子と考えられる。第三セットの抗体は、外胚葉上皮細胞の細胞境界に存在する分子を識別する。コンフォーカル顕微鏡を使用した免疫染色パターン観察から、この分子は、セプテート結合の構成分子と考えられる。遺伝子の塩基配列は、哺乳類赤血球膜の裏打ち成分 ABP-280 に相同性を示す。第四セットの抗体は、外胚葉の細胞境界およびストレスファイバーに局在する分子を識別する。遺伝子の塩基配列から、新規の遺伝子と考えられる。

先に PCR 法で細胞接着関連分子  $\beta$ -catenin および integrin  $\beta$ -chain のクローンを分離した。今回分離のクローンと共に、今後さらにヒドラの細胞接着、運動に関与する分子、細胞特異的に発現するマーカー遺伝子のクローニングを行い、ヒドラ形態形成機構の解析を進める。

(3) ヒドラ外胚葉上皮組織の Epiboly 運動で見られる Cell intercalation 運動 (岸本康之・村手源英・杉山 勉): プロカイン処理法を使用してヒドラの外胚葉組織と内胚葉組織を分離し、その後分離組織を再接触させると、外胚葉組織が内胚葉組織上を薄く広がって包み込み、やがて完全なヒドラが再生する (94 年日本発生物学会大会発表)。この再生過程のうち、初期の外胚葉組織の広がり運動 (Epiboly 運動) における細胞運動の解析を行なった。日本産チクビヒドラ (*Hydra magnipapillata*) 野性系統 105 をプロカイン処理し、外、内胚葉組織を分離し、分離組織を一度ばらばらの細胞に解離し、再集合させ、外胚葉細胞集合体および内胚葉細胞集合体を作成した。蛍光色素 Dil を用い、外胚葉集合体あるいは内胚葉集合体の表面の一部を標識し、両集合体を接触させ、その後 Epiboly 中の標識細胞の移動を観察した。

標識内胚葉細胞が、外胚葉集合体との接触面に位置する場合、Epiboly 運動と共に、標識細胞が近傍の外胚葉細胞と同じ向き、同じ速さで移動し、標識細胞同士の間隔が徐々に広がるのが観察された。標識外胚葉細胞も、接触面に位置すれば、同じように移動し、広がるのが観察された。この標識細胞の移動、広がり現象は、外胚葉、内胚葉ともに、細胞集合体の接触面のみで観察され、それ以外集合体の自由表面上においては全く観察されなかった。

上記の結果は、外、内胚葉細胞集合体のそれぞれにおいて、接触面に位置する細胞と細胞の間隙に、集合体内部から新たに細胞が侵入する cell intercalation 運動が進行するためと考えられる。この intercalation 運動により、接着面の面積は徐々に広くなり、その結果として Epiboly が進行すると考えられる。また、この運動の活性化には、接着面を通じての外、内胚葉細胞間のシグナル交換が、重要な働きをされると考えられる。このシグナル交換に関与する分子の分離同定を、現在進めている。

(4) ヒドラの生殖細胞 (藤沢千笑・杉山 勉): ヒドラの間細胞は未分化幹細胞として、活発に自己増殖すると共に、3 種の体細胞 (神経細胞、刺細胞、腺細胞) と、生殖細胞 (卵、



精子)に分化する。個々の間細胞の有する分化能を調べるため、間細胞のクローニングを行った。

使用した第1のクローニング方法は、ヒドロキシウレア(HU)処理による間細胞除去法である。HUはS期の細胞を殺す。ヒドラをHU処理すると、活発に分裂する間細胞は速やかに殺され、分裂速度の遅い上皮細胞は余り影響を受けない。処理時間をうまく調節すると、個体当たりごく少数の間細胞を残す事ができる。残った間細胞を増殖させ、クローニングを行なった。第2の方法は特定地域の微小組織再生法である。HU処理法によりクローニングした間幹細胞は、ヒドラ体内で局在している事が分かった。この間幹細胞を含まない組織を切り出し、再生させ、再生体に含まれる間幹細胞の分化能を調べた。この2方法によるクローニングの結果、チクビヒドラの系統 nem-1 (雄) から、3種類の間幹細胞を分離する事ができた。第1は精子限定間幹細胞である。この細胞は精子のみに分化し、体細胞(神経細胞、刺細胞)には分化しない。第2は卵子限定間幹細胞である。この細胞は卵子のみに分化し、体細胞には分化しない。第3は、雌性多能性間幹細胞幹細胞である。この細胞は、体細胞と(おそらく卵子限定間幹細胞を通じて)卵子に分化する。

実験に使用した系統 nem-1 は雄であるのに、その組織に卵子限定間幹細胞、雌性多能性間幹細胞が存在し、雄性多能性間幹細胞が存在しない事は、予想外であった。しかし、間幹細胞集団の構成と性質を総合的に考察すると、次のように考える事ができる。nem-1 は初め雌として生まれ、雌性多能性間幹細胞を持っていた。この細胞から、卵子限定間幹細胞が分化して、卵形成を行う。卵子限定間幹細胞は稀に精子限定間幹細胞に分化転換する。精子限定間幹細胞は精子に分化すると共に、卵子限定間幹細胞の卵への分化を抑制する。このためこのヒドラの表現型は雄となる。

今後より厳密な間細胞クローニングを行い、上記のモデルの検証と、生まれたときから雄である系統の間幹細胞の間細胞構成の解明を試みる予定である。

5) ミドリイシサンゴの系統進化(王文樵・大森 信・林原 毅・下池和幸・服田昌之・藤沢敏孝・杉山 勉): サンゴはヒドラと同じ腔腸動物綱に属す。そのうちミドリイシ属は、インド・太平洋海域の主要な造礁サンゴであり、多くの種を含む。しかし種間や近縁種グループ間の系統関係は不明である。そこで客観性と定量性に優れた分子分類法を用い、ミドリイシサンゴの系統関係を明らかにすることを試みた。

まず腔腸動物に特異的な刺胞の主要構成成分であるミニコラーゲンに着目し、この遺伝子をミドリイシサンゴから単離し、その構造を明らかにした(Wang, W. *et al.*, 1995, Gene 152: 195-200)。次いでPCR増幅法を採用し、この遺伝子の第2イントロン領域(約500塩基)を、ミドリイシ属14種46群体から単離した。これらの塩基配列を比較し、遺伝子系統樹を作成、検討した。その結果、以下の2知見を得た。第一に、系統樹から14種は3分子グループに分類された。この結果は、従来の形態分類グループとほぼ一致したが、いくつかの種で不一致が見られ、形態分類の再検討の必要性が考えられる。第二に、種内変異が約3%と他の生物では見られない高い値を示す種が存在し、同時に、種間変異が非常に低い近縁グループの存在が明らかとなった。この結果は、種間交雑による遺伝子浸透が

起こっている可能性を示唆する。実際に実験的な交配を行なったところ、複数の異種交配が確認できた。同海域のミドリイシ属サンゴの多くの種は、同一日時に一斉産卵 (mass spawning) を行うため、自然界でも種間交雑の確率が高いと考えられる。さらに地理的隔離の無いままに種分化したことも考えられ、種分化の機構に関して新たな視点を投じる可能性がある。

### 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、助手上田 均、湊 清、山田正明、遺伝実験生物保存研究センター助教授林 茂生、日本学術振興会特別研究員孫 冠誠、国立遺伝学研究所外国人研究員李 豊倩、総合研究大学院生命科学研究科遺伝学専攻村田武英、布施直之、小林正友、影山裕二、岡田聖裕、竹丸憲一が参加した。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。なお、上田 均助手は平成6年8月に遺伝実験生物保存研究センター無脊椎動物保存研究室から当研究部門に配置換えされた。広瀬は「Ad4BPとFTZ-F1の機能相関について」(代表者:九州大学大学院医学研究科橋憲一郎)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:東京医科歯科大学医学部米村 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」(代表者:北海道大学農学部田中 徹)を組織し、共同研究を行った。

本年度の研究は、文部省科学研究費一般研究B「転写メディエーターの機能解析」(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)の支援を受けた。

広瀬は6月にアメリカ合衆国カリフォルニア大学ロサンゼルス校で共同研究を行った他、第3回アジア転写会議(9月、インドバンガロール)に、林は第35回ショウジョウバエ研究会(4月、アメリカ合衆国シカゴ)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・広瀬):超らせん化因子はDNAトポイソメラーゼIIと共調してDNAに負の超らせんを導入するタンパク質である。この因子は分子内に5つのEFバンドドメインをもち、 $Ca^{2+}$ によって活性化される。また、C末端側にDNAジャイレースのAサブユニットとホモロジーのある領域が存在する。このタンパクの機能ドメインを明らかにするためにショウジョウバエのcDNAから各種の欠失変異体を作製し、発現したタンパクの超らせん導入活性を調べた。その結果、2つのEFバンドドメインを欠失させたものでは活性は失われなかったが、ジャイ

レース A ホモロジドメインを欠失させたものでは活性の低下が見られた。ショウジョウバエの発生におけるこの因子の発現を調べたところ、初期胚の核の周辺が抗体で染色された。しかし、*in situ* ハイブリダイゼーションで mRNA は検出されなかったこと、成虫の卵巢で強い発現が検出されたことから、初期胚のタンパクは母親由来と考えられる。後期胚では脂肪体とマクロファージに、幼虫期ではマクロファージ、garland cell, pericardial cell, 唾腺などで発現が見られた。

(b) 真核生物の遺伝子発現調節 (岡田・上田・広瀬): 真核生物のゲノムのうち、発現している遺伝子はごく一部で、ほとんどの領域は不活性な状態である。このようなグローバルな遺伝子発現の抑制にはクロマチン構造が重要な役割を果たしている。しかし、不活性なクロマチンから DNA の複製を供なわずに転写を活性化する機構については不明な点が多い。われわれはこの問題にアプローチするため、ショウジョウバエの形態形成に関わる *fushi tarazu* 遺伝子上にクロマチンを再構成して、いったん転写不活性な状態にした後、クロマチンをリモデリングして転写を活性化することを試みている。最近、クロマチンに *trithorax like* 遺伝子産物である GAGA 因子を作用させることにより、転写を活性化することに成功した。

#### (2) 転写因子 FTZ-F1 の研究

(a) FTZ-F1 の標的遺伝子の時期特異的発現制御機構の解析 (影山, 広瀬, 上田): FTZ-F1 はショウジョウバエ *fushi tarazu* 遺伝子の転写活性化因子として見出されたが、その後の研究から、*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発現し、脱皮や変態を支配していることが判明した。FTZ-F1 の時期特異的発現の機構を調べる目的で、FTZ-F1 遺伝子の転写開始点付近を含む様々なゲノム DNA 断片を LacZ 遺伝子に結合させた融合遺伝子を持つ transgenic fly 系統を作成し、前蛹期におけるレポーター遺伝子産物発現パターンを解析した。その結果、転写開始点付近約 1.1 kb 以内に少なくとも発現時期特異性を決める領域が存在すること、また、1.1 kb のさらに上流域にエンハンサー様配列が存在することが明らかとなった。ステージの異なる様々な核抽出液から 1.1 kb の領域に結合する因子を検索したところ、エクダイソンの生体内濃度変化に応じて挙動の異なる複数の因子が見出され、これらの因子が FTZ-F1 遺伝子の転写調節にかかわることが予想された。

(b) FTZ-1 の標的遺伝子の発現制御機構の解析 (上田, 広瀬): 前年度までの解析により、クチクラタンパクをコードすると考えられる遺伝子 EDG84 が、FTZ-F1 の標的遺伝子のひとつである可能性が生じた。そこで、EDG84 遺伝子の転写開始点を含む 0.8 kb の領域を LacZ 遺伝子に結合させた融合遺伝子 EDG84LZ0.8 を持つ transgenic fly 系統を作成し、前蛹期における融合遺伝子の発現パターンを解析したところ、困蛹殻形成後約 9 時間になると成虫原基あるいは成虫原基由来の細胞で発現が見られた。この発現パターンは、内在性の EDG84 遺伝子と同様で、この 0.8 kb の領域に、組織特異的かつ時期特異的発現に必要なかつ十分な領域が含まれると結論した。次に、この 0.8 kb の領域内に唯一含まれる FTZ-F1 の結合配列に 2 塩基の置換を生じさせ、FTZ-F1 が結合不能となった融合遺

伝子 EDG84LZM1 を有する transgenic fly 系統を作成し、その発現パターンを解析した。その結果、前蛹期融合遺伝子の発現は観察されず、EDG84 遺伝子の誘導に FTZ-F1 が必要であることが示された。また、この誘導は器官培養した成虫原基でも認められ、FTZ-F1 による転写の活性化に、内分泌系から分泌されるリガンド（ホルモン）は、必要ないことが示唆された。

(c) FTZ-F1 のメディエーターに関わる研究（李・竹丸・上田・広瀬）：BmFTZ-F1 による *fushi tarazu* 遺伝子の転写活性化には、BmFTZ-F1 の他に 2 つのメディエーター（MBF1 と MBF2）が必要である。われわれは、BmFTZ-F1, MBF1, MBF2, TBP を介してエンハンサーと TATA ボックスの間に安定なブリッジが形成され、これに RNA ポリメラーゼ II が次々とリクルートされて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.*, 1994, *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 3013-3021）。このモデルを更に検証するため、メディエーターの cDNA のクローニングを試みた。精製したタンパクの部分アミノ酸配列を決定し、それに基づいて調製したプライマーを用いて PCR を行い、予想通りの産物を得た。これらをプローブに用い、カイコ糸糸腺ポリ A<sup>+</sup>RNA から調製した cDNA ライブラリーをスクリーニングし、MBF2 の cDNA を得た。その塩基配列から推定されるアミノ酸配列はデータベースに登録されている他のタンパクとホモロジーがなく、MBF2 は全く新しいタイプの転写因子であることが判明した。

細胞質因子に制御されるカイコの自然発生パーセノジェネシス（村上）：カイコ *B. mori* (L.) は両性生殖性の昆虫であるが、まれにパーセノジェネシス (parthenogenesis) によって自然発生する個体が観察される。また、成虫の体内の第一卵母細胞 (1st oocytes) の前期 (prophase) の卵を体外に取り出し、42°C 前後の温湯刺激処理によって、パーセノジェネシス (処女生殖) 個体 (3n) を容易に誘発することができる。しかも、この発生異常の頻度は自然発生の場合でも人為的誘発においても系統によって差異がみられ、当該異常生殖の発生機構は遺伝的に制御されていると考察される。

これまで分析に用いた系統あるいはそれらの F<sub>1</sub> 交雑における自然発生による平均的なパーセノジェネシスの頻度は 0.5% 前後であるが、この平均値よりかなり低い (0.1% 以下) 系統と 5% 以上に達する 3 グループに分類される。両親ともにパーセノジェネシス能が弱いにもかかわらず、F<sub>1</sub> 交配の形式によって、かなりの頻度で異常発生個体が検出されるケースもみられ、この事象に関与する 2 種類 (以上) の座位を異にする遺伝子がトランスヘテロの状態の組合せによって惹起される現象と説明してきた。しかし当生殖異常が高頻度で生じる系統の雄を低頻度誘発系統の雄に交配した場合、その F<sub>1</sub> はほとんど当事象が発生しないというケースも観察される。したがって、この異常生殖能を異にした系統間のメンデル式的細胞核を中心とする分析からカイコにおけるパーセノジェネシスの自然誘発機構については説明が困難となる。

今回は自然発生パーセノジェネシスが安定して、しかも高頻度で出現する S 系統 (中国種の 3 回脱皮型)、当異常個体がほとんど検出されない K 系統 (日本種の 4 回脱皮型) とパーセノジェネシスの頻度が平均的な十数系統を分析の対象に用いて実験を進めた。S 系

統の雌に当異常生殖能の平均的な系統の雄とを交雑し、その結果えた  $F_1$  雌個体はいづれの交雑の組合せにおいても S 系統と同様に高い頻度で異常発生個体が検出された。これは S 系統の染色体上に優性のパーセノジェネシス発現遺伝子が座乗することを示唆する。ところが、K 系統の雌に平均的な系統あるいは当異常生殖能が高頻度に検出される S 系統の雄とを交雑してえた  $F_1$  個体の自然発生異常生殖個体の出現はいづれのケースにおいてもほとんど検出できなかった。しかし、前記とは逆交配の場合、平均的な頻度から高頻度な異常生殖個体の出現するケースが観察された。なお、当然のことであるが S 系統の雌に K 系統の雄を交雑した場合えられた  $F_1$  個体においても高率で自然異常生殖個体が検出された。

上記の一連の分析から、K 系統の細胞質中には自然発生によるパーセノジェネシスの発生を抑制する因子が卵細胞質を介して代々伝達するが、細胞核には一般の系統と同じように当該異常生殖を惹起する遺伝子 (*par<sup>-</sup>*; parthenogenesis) が保有されていることを強く示唆する。他方、S 系統の細胞質には K 系統に存在するような細胞質因子は存在せず、しかも細胞核の染色体上には遺伝子 *par<sup>-</sup>* を保有していることが明らかとなる。なお、問題となる細胞質因子は本昆虫においてまれにみられる母性遺伝による細胞核由来の卵細胞質の遺伝子産物とは異なる。一般に分裂 (M) 相の核は静止期 (S 相) の核に比して放射線感受性が高いが、K 系統の卵割 (核分裂) 期の S 相の感受性は、これまでに分析した数々の諸系統とは異なって、M 期同様にかかなり高い事実が知らされていて、パーセノジェネシス低頻度の発生能と類似し、両事象に共通する生理的 (エネルギー供給のような) 機能の低下が関与すると考察される。本昆虫種において、K 系統に類似する低頻度の異常生殖能系統は少なく、しかも、それらの系統でも雌成虫の体内の第一卵母細胞前期の卵を採取し、 $42\sim 43^\circ\text{C}$  の温湯中で刺激処理を施すと、かなりの高率で当異常生殖個体 (3n) がえられる。この現象は K 系統の卵母細胞が高温処理によって当異常生殖個体が誘発され、この異常生殖誘発を抑制する細胞質因子の失活・変性と関連すると考察された。

なお、カイコの染色体上にはその祖先に当たる昆虫の自然発生パーセノジェネシス能の形質を遺存体として保有している点に興味がそそがれる。

カイコ成虫の生存期間を決定する性 (X) 染色体上の遺伝子の性質 (村上): カイコ成虫の生存期間の系統間差異が認められることは、他の生物種と同様に、この生命事象が遺伝的制御を受ける生活史形質の一つであることを物語る。この形質には性差が明瞭に認められ、雌は雄より 1.5~1.9 倍長命である。そこでかかる形質についての遺伝的制御機構を明らかにする目的で実験を進めてきた。その間に、常染色体劣性の成虫の短命 (*sdi*: short duration of imaginal lifespan) な系統を検出し、それを制御する遺伝因子を同定した。今回はカイコの性染色体構成の特徴を利用して X-染色体上に座乗する成虫生存期間を制御する遺伝的因子の特性について分析し、その結果えられ 2・3 の知見について報告する。

カイコのメスの性染色体構成は XY (+27AA)、オスは XX (+27AA) で、オスはホモ型であるのに対し、メスはヘテロ (ヘミ) 型という特徴がある。しかも、現在のところ、Y 染色体には雌性決定以外の機能が検出されていない。むろん染色体間、遺伝子間の相互作用

によって当形質の発現には複雑さがともなうであろうが、異なった系統間の交雑第一世代 ( $F_1$ ) の雌個体において、問題となる性染色体に座乗する形質は主に雄親の X 染色体に由来と仮定される。その逆交雑においても雄系統由来の X 染色体と雌系統由来の X 染色体との相互 (優劣) 関係に依存すると考えられる。正逆交雑  $F_1$  のメスの個体の当該形質の比較から、いずれの交雑  $F_1$  においても常染色体は異型接合体が全く同様に形成されるので、成虫生存期間に関連する X-染色体上に座乗する遺伝子 (形質) の特性を分析することが可能である。なお、オス個体は常・性両染色体が異型接合体 (ヘテロ) を形成するので、メス個体にみられるような単純な分析は困難である。ところで、本昆虫の生殖期間には以下のような特徴がある: 一般に早期に羽化した成虫は午後には交尾を完了し、産卵はその日の夕刻から夜半にかけて完了する。したがって、生殖期間は大略羽化後 20 時間 (~最大 24 時間) といえる。なお、われわれがこれまでに検出した生存期間の最短の系統 (*sdi*) は 2 (~3) 日であるが、この系統においても種の維持に必要な交尾・産卵などは充分保たれている。幼虫期にウイルスなどに感染した個体は羽化前、あるいは羽化 1 (~2) 日以内に産下せず致死する。かかる点からしても、羽化後 24 時間以内に成虫が自然死する系統は検出されていない。また、本昆虫では各種感染症は病理学的に安易に識別できるので、自然死とそれ以外の死とは正確に分別可能である。かような理由からすれば、これまでの長い進化 (家畜化) の過程で選抜されてきた X-染色体上に座乗する成虫生存期間に関与する遺伝子因子は、メスにおける 4~8 日間の平均的な生存期間を中心にして、長・短いずれの形質とも劣性型と推察される。

上述した論議を基盤に、これまで一連の本研究の対象として分析を進めてきた (純) 系統を用いて、適宜、それらの正逆交雑  $F_1$  を作製し、それぞれの組合せについて、成虫生存期間の性差の比較分析を行った。その結果、いずれの組合せにおいても、生存期間の長短は別としても、ほぼ同様の傾向の成虫生存期間のプロファイルがえられた。以下にその一例を記述してみたい。

カイコ雌の平均成虫生存期間 (4~8 日) を示す系統 S と常染色体劣性の *sdi* 変異系統 (2 日) との正逆交雑  $F_1$  を作製した。 ( $S \times sdi$ )  $F_1$  の雌個体の最長生存期間 (平均: 7.5 日) は羽化後 16 日におよび、その逆交雑 (*sdi*  $\times$  S)  $F_1$  では平均: 4.5 日であるが、最長は 14 日であった。前者の雄個体 (平均: 5 日) の最長は 13 日、その逆交雑  $F_1$  では平均、2 日で最長は 11 日間であった。雌性において、6 日以上生存期間を示すものは ( $S \times sdi$ )  $F_1$  にみられ、6 日以内の個体の主流は (*sdi*  $\times$  S)  $F_1$  に分布する。生存期間 6 日を前後した個体が両者に共通に集中して分布していた。生存期間が 11 日以上個体は ( $S \times sdi$ )  $F_1$  にのみ検出された。ところが、オスは 10 日以上生存期間を示す個体はやはり ( $S \times sdi$ )  $F_1$  の交雑にのみ検出され、生存期間が 2~10 日の個体は両交雑  $F_1$  において共通に観察された。先にも記したように、これらの形質は劣性型の因子であると考察される。ウイルスなどの感染による羽化 1 (~2) 日以内を前後して死亡した個体は自然死した個体とは異なるので、粗資料から削除すると、上記の正逆交雑  $F_1$  における成虫生存期間は 3~16 日という幅広く分布することが理解される。メス個体の分析から両 *sdi* S 系統において長命な形質が存在

し、しかも13~16日の最長生存期間を示す形質は *sdi* 系統由来の X-染色体に固有の遺伝因子と考察され、またオスの分析からも11~13日の生存期間の形質は S, *sdi* 両系統由来の X-染色体上に共通して座乗する劣性の遺伝因子のホモ型に依ると推論された。

われわれがカイコ成虫の生存期間の遺伝学的解析を始める以前にはこの生育期間に関する情報は大変限られていたが、一連の分析を通じてカイコ（成虫）の生存期間が16日（~24日：本昆虫における成虫生存期間の最長値）にも達することが明らかとなり、これら成虫生殖期間の形質はカイコ *Bombyx mori* (L.) の亜種であるクワコ *B. mandarina* (M.) の成虫が、かなりの日数にわたってクワ (*Morus*) の枝に少量づつ産卵する習性の遺存形質と推論された。

カイコの生長にみられるホメオステシス（村上）：カイコ (*Bombyx mori* L.) は亜熱帯から温帯にかけて広く飼養されている昆虫である。カイコの一生涯のうち、幼虫期のみ餌（クワの葉）を摂取して生長し、胚、蛹、成虫は貯蔵養分あるいは変態に際して崩壊した古い器官などを栄養源に利用して生命を維持する。

受精から卵割（核分裂）、細胞分裂、胚葉分化、器官形成期、幼虫期、幼虫→蛹への変態期などの細胞分裂増殖などの生命活動の活発な期間は低温（例えば、15°C）に被曝すると生理活性を失って死に至る。この点、器官形成を完了した胚発育期と変態期の後半および成虫期は低温（2.5~5.0°）耐性が顕著である。また、長期間高温（35°C~40°C）被曝はいずれの発育段階でも生理活性の低下を招き致死する。

温帯性の幼虫は通常20~25°C、亜熱帯性の系統では20~28°C前後と多少高温で飼養される。ところで、温帯性系統について19°Cと24°Cで幼虫を飼養した資料からすると、両者の幼虫期間は5%の差異が生ずるにすぎない。蛹期では前者が後者より50%からの期間の延長がみられる。胚においても同様の傾向が観察される。また、亜熱帯性系統においても、25~30°Cの範囲では両者の幼虫期間に10%前後の差異がみられたに過ぎない。かかる高温条件下の蛹期は25°Cに比して25~30%短縮した。要するに、幼虫の生長は外界の気温からの影響を最小にする安定性機構が働いていると推察された。

成虫の生存期間は遺伝的に制御されるが、同一系統内の個体間に蛹（成虫）体重との間に明瞭な関係が観察される：最長の生存期間を示した個体群の体重は系統の平均値より明らかに軽く、最短の個体群は平均値より重く、当然のことながら、平均的体重の個体群は平均的生存期間であった。生長期の摂食量は成虫の生存期間に反映する事実を物語る。この成虫の生存期間と体重との関係は両性に見られる共通の現象であった。各々の系統の平均体重を超過したいわゆる肥満グループ、肥満系統は幼虫、蛹、成虫においても生理的に不活発となり、罹病し易い傾向がみられる。体重の安定性は各々の個体の体重を系統固有の数値内に保持しようとする遺伝的機能といえる。

ショウジョウバエにおける胚致死作用の遺伝学的解析（山田）：ショウジョウバエの初期発生における卵細胞質と受精核の相互作用を調べるために、昨年に引続き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行った。今までに第2染色体または第3染色体にP因子の挿入された系統から、致死突然変異体が60系統、雌不妊突然変異体9

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 染色体上には, 致死突然変異体 41 系統, 雌不妊突然変異体 10 系統, 成虫複眼異常 1 系統, 翅の異常変異体 1 系統を得た。

これらの系統のうち, 雌不妊変異体について P 因子内に組込まれているベータ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。多くの変異体で卵形成の初期の形成卵巣で弱い活性が認められたが, 哺育細胞, 卵細胞内では検出されず, 得られた変異体の遺伝子の多くのものは卵の卵殻形成に関与しているものと考えられた。

上記の成虫複眼異常変異体 (974-54) と翅の異常変異体 (627-1) は形態的異常変異の他に雌不妊性であった。974-54 系統は複眼が小さく, その個眼の配列が不規則であり, 生存力 (ヘテロ個体数に対するホモ個体数の比) は雌で 0.2, 雄では 0.5 であり, 成虫の寿命も著しく短命であった。この遺伝子は半致死遺伝子としても作用していると考えられる。また成虫の卵巣では形成細胞巣で弱い活性が認められた。627-1 系統は翅の後端に欠失を持ち, 生存力は雌が 0.6, 雄が 1.0 で, 雌においては弱い半致死活性が認められた。成虫卵巣では濾胞柄で弱い活性が検出された。これらの遺伝子は多面的突然変異と考えられ, その作用機作についてさらに詳細な解析を進めている。

昆虫の「完全変態」機構 (湊): 動物界の中での昆虫網繁栄の理由として, 「有翅」とともに「完全変態」機構の存在がある。昨年に引き続き, その機構の意味するものと, 進化過程でのそれら機構の成立機序について考察を加えた。

その結果「完全変態」過程の特徴は, 幼虫の形態が成虫の形態とよりかけ離れていることにあるらしいこと, また, 「完全変態」に特徴的な「蛹期」は, これら二つの形態間のギャップを埋めるものとしてやむを得ず存在するらしいということ, さらにはっきりと確認した。その幼虫形態は, 一般に比較的単純で, かつ, 柔軟な円筒型であることが多く, 地面・樹木・果実・葉肉内へ潜ったりするジムシ型, 無脚で専ら液や水中へ潜って餌を摂取するウジ型, 腹脚を持つことによって平らな葉面での摂食が容易になったイモムシ型等々を示し, それらの形態が不完全変態昆虫類に見られる様な「成虫に似た複雑な幼虫型」の場合には利用出来ない, 新しい, 多様で広い生態圏の利用を可能にさせたと思われる。その結果, 「幼虫期と成虫期で餌を互いに競合しない」という利点と相まって, 「完全変態」類昆虫群のより大きな繁栄が可能になったものと思われる。

進化途上でのこれら比較的単純な幼虫型の出現は, Berlese (1913) が云うような, 胚発達のより未熟な段階 (原脚期・多脚期・少脚期) での孵化—すなわち「幼形成熟 (ネオテニー) —」の結果であるかも知れない。しかし, これら幼虫型の場合, 新しい環境への極めて巧妙な適応の仕方を見ると, そういう消極的な原因だけでは説明仕切れないもっと積極的な制御の機構の存在を考える方が自然ではないかと思われる。すなわち, 外形的には確かに「幼虫期での複眼の不在」「比較的未発達な歩行脚」「発生途上に一時的に出現する腹脚様の構造」等, 一見未熟な段階での孵化を伺わせるものもあるが, そういう段階であっても, 「葡萄に必要な新たな筋肉組織」「適当な構造の口器・気管組織」「その幼虫型向



きの腸組織」等々の内部組織等は充分発達している必要があるので、むしろ胚期での積極的なシステムの作り変えを想定の方が合理的かと思われる。胚期で、不完全変態昆虫類の場合に見られるような比較的発達した外部形態の出現を抑える内在的な遺伝子機構、あるいは、それらを潜在的な原基の形に転換して成虫化の時に発現させるようなシステムの存在が考えられ、その具体的な内容について調査・考察中である。

### C-c. 生理遺伝研究部門

#### (1) 動物細胞遺伝子の発現制御機構 (半田):

本研究では、細胞遺伝子の発現を制御する転写因子 E4TF1 のサブユニットと転写因子 ATF/E4TF3 ファミリーに属するメンバーの活性化を明らかにし、それらアクチベーターの活性に関与するコアクチベーターを解明することによって、動物細胞遺伝子の発現制御機構を分子レベルで解明することを目指している。

(a) ヒトの転写因子 E4TF1 は DNA 結合能を有するものと転写活性化能を有するものの少なくとも 2 つの異なるタイプのサブユニットから成る複合体である。それらの cDNA をクローン化し、E4TF1 がラット GABP に対応するものであることを示した。また、遺伝子工学的手法により、各々のサブユニットの機能ドメインを決定し、4 量体として *in vitro* 転写活性化能を有することを示した (Sawada *et al.*, 1994, EMBO J., 13: 1396-1400)。最近、トランスフェクション法を用いて *in vivo* でも 4 量体が、転写活性化能を有していることを明らかにした。さらに、興味あることに、E4TF1 ががん抑制遺伝子の一つである Rb 遺伝子の発現に関与する可能性を示した (Savoysky *et al.*, 1994, Oncogene, 9: 1839-1846)。その際、がん遺伝子産物である Bcl3 が E4TF1 のコアクチベーターとして働くことが示唆された。

(b) 我々は、DNA 固定化粒子を用いて、特異塩基配列に結合する転写因子 ATF ファミリーに加えて、それら転写因子群に親和性のあるキナーゼ活性を同時に分離できることを見つけた。その活性は、カイゼインキナーゼ II (CKII) に類似している。というのは、組換え ATF1 や CREB に加えて、カゼインを基質とし、その際に ATP 以外に GTP を利用できる。また、そのリン酸化反応はヘパリンにより阻害される。CKII は  $\alpha, \alpha', \beta, \beta'$  から成る 4 量体で、 $\alpha$  および  $\alpha'$  が触媒サブユニット、 $\beta$  が調節サブユニットである。我々の DNA アフィニティー粒子で分離したキナーゼは  $\alpha$  および  $\alpha'$  を含むが、 $\beta$  の含量が CKII に比べて非常に少ない。これは、このキナーゼが CKII の触媒サブユニットを有するが、調節サブユニットが異なる可能性を示唆するものである。

(c) タンパク質-タンパク質間の相互作用を利用して、目的とするタンパク質を分離・精製するタンパク質固定化粒子を作製した。その一例として、酵母 TBP を固定化したラテックス粒子を作製し、HeLa 細胞抽出液から得られた濃縮画分からヒト TFIIA を精製することができた。その実験系を進展させて、転写因子の機能ドメインを持つ組換えタンパク質を多量に調製して、それに特異的に結合する因子群を分離することができるようになった。

三重大学生物資源学部奥村克純助教授を客員助教授に迎え、遺伝子発現と複製に関して、生理遺伝学的手法による研究を行った。

(2) 多色 FISH 法による S 期 DNA 複製タイミングとゲノム構造の解析 (奥村): 蛍光 *in situ* hybridization (FISH) 法は、染色体の高次構造の解析において極めて有用な手法であり、その高精度ならびに高感度技術の確立によって、遺伝子プローブの分裂中期染色体への高精度マッピングのみならず、DNA 複製時期の詳細な解析や着目ゲノム領域の核内配置を知る上でも、威力を発揮している。本年度は、細胞周期 S 期核への冷却 CCD カメラを用いた高感度 FISH を行ない、ヒト MHC 領域の DNA 複製時期の詳細な解析を試みた。進化遺伝研究部門と東海大学の猪子らは、ヒト主要組織適合抗原複合体 (MHC) 領域 (約 4 Mb) の広範囲をカバーするクローンを共同で分離しており、特に MHC クラス II と III の境界を含む 450 kb については、連続コスミドクローンを得ている。これらの多数クローンを蛍光プローブとして、ヒト培養細胞 HL60 の S 期核への高感度 FISH 法により、各クローンの複製タイミングの測定を行なった。本研究では多色プローブを用いた FISH 法を行っており、複製時期の近接した領域のタイミングの差異をも検出可能であった。得られた MHC の各領域の複製タイミングのパターンは、進化遺伝研究部門が以前から発表してきているゲノム GC% の区分的分布と密接に関係していることが示された。GC に富む領域が S 期の早い時期に、AT に富む領域が遅い時期に複製していたが、これらの知見は、従来は染色体バンドレベルでしか報告されていなかった。本研究では、連続コスミドクローンをを用いて複製タイミングのスイッチ点を正確に同定できており、塩基配列レベルで GC% 区分構造との対応づけが可能になった。興味深いことに、このスイッチ点は、進化遺伝部門が同定した GC% 変移点領域に位置し、彼らが反復配列の高密度クラスターや Pseudoautosomal Boundary-like Sequence (PABL) を見いだした場所に対応していた。GC% の巨大区分構造の機能的意味を知る上で、重要な知見と考えられる。これらの結果の一部は、論文 (Fukagawa *et al.*, 1995, *Genomics*, 25: 184-191) に発表した。また 2 種類の培養細胞について、MHC クラス I と II の特異的部位における遺伝子発現と DNA 複製時期を比較した結果、転写の活性化と連動して早期複製にシフトする可能性が示唆された。

近年、DNA ファイバーへの多色 FISH 法により、数 kb レベルの高精度で遺伝子クローン間のオーダリングが行なえるようになり、ゲノムの微小異常をも光学顕微鏡で検出可能になった。MHC 領域は遺伝子組換えや重複ならびに欠失を高頻度で起こすことが知られており、この領域の高度な多型や疾患を生む原因となっている。これらの MHC 領域の遺伝学的特性について、DNA 複製タイミングのスイッチ点や GC% の区分境界の関与を知ることは興味深い。GC% の区分境界を含む 450 kb の連続コスミドクローンを多色プローブに用いて、DNA ファイバーの作製条件を工夫することで、数 kb から数百 kb の範囲でゲノム構造の差異の詳細を解析可能なが示された。この領域に原因遺伝子の推定されている疾患患者を含む異った HLA ハプロタイプの DNA について、多色プローブを用いた DNA ファイバー FISH 法による高精度構造解析を計画している。

## 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。本年は本部門の創設者であり、数多くの業績をあげてこられた木村資生名誉教授が11月13日急逝されたのが、最も大きな損失であった。

人事面では、アメリカ、デューク大学のC. Laurie 博士の研究室で研究をしていた高野敏行が、3月13日帰国し、本部門でショウジョウバエの実験集団遺伝学を開始した。伊奈康夫は4月より学術振興会の奨励研究員として本部門の研究に加わったが、10月1日助手として採用され、コンピューターシミュレーションによる塩基置換の過程と遺伝子系図学の研究を開始した。また John Wakeley はカリフォルニア大学バークレー校から9月1日より日本学術振興会特別研究員として本部門の研究に参加し、塩基置換モデルと自然集団の進化に関する研究を行っている。

太田(原田)朋子は、昨年に引き続き 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った。重複遺伝子でアミノ酸置換の速まる例としてトロポニンCや熱ショック蛋白などの遺伝子解析を、また遺伝子変換の重要性を示す例としてプロテアーゼインヒビターの遺伝子を調べた。また哺乳類の遺伝子データを用いほぼ中立理論の検証も行った。これらの結果は分子進化学会国際会議や国際生化学連合の年会などで発表した。今年度はアメリカ進化学会副会長および学術審議会委員を務めた。

田嶋文生は、1月24日~28日米国ミネソタ大学数学および応用数学研究所で開催されたワークショップ「数理集団遺伝学」に参加し、中立説の基づく遺伝子系図学およびDNA多型に関する研究を発表した。また、京都大学農学部農林生物学科の宮下直彦、京都大学理学部植物学科の寺内良平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遺伝学雑誌に発表した。

(1) 遺伝子配列の比較による重複遺伝子の進化の研究(太田): 遺伝子重複によって機能分化が起る際積極的な意味での自然淘汰が働くという理論を検証するため、進化的に最近重複したと考えられる遺伝子について、データ解析を行った。機能分化に際してアミノ酸置換が速まるのが期待されるので、同義置換数と非同義置換数を比較することによって検証した。ヒトやマウスのトロポニンCは二つの isoform があり、機能分化と関連していると考えられている。DNA 塩基配列を比較したところ、同一 isoform のマウス対ヒトといった比較では非同義置換数が同義置換数に比べきわめて小さいのに対し、異なる isoform の間の比較では非同義置換数の相対的な数はそれ程小さくはないことが分かった。 $\alpha$ -アクチンは一次構造が大変よく保存されている蛋白であるが、いくつかの isoform があり、発現のパターンに分化がある。塩基配列を比較してみると、第一エクソンにアミノ酸

置換が集中しているのがわかるが、このエクソンはミオシンとの相互作用にかかわっているとの報告もある。そこで $\alpha$ -アクチンの第一エクソンの塩基配列を比較し、同義置換数と非同義置換数を調べたところ、異なる isoform の比較で非同義置換が速まっていることがわかった。その他熱ショック蛋白や $\alpha_1$ -アンチトリプシンの遺伝子でも重複にともなってアミノ酸置換率が高まっていることがわかった。詳細は *Genetics* **138**, 1331-1337 に発表した。

(2) 蛋白質加水分解酵素とそのインヒビターの超可変性について (太田): 蛋白質加水分解酵素とそのインヒビターの活性部位はしばしば超可変性を示すことが知られている。その原因は、アミノ酸置換突然変異に働く自然淘汰と、遺伝子変換その他の遺伝子内組換えに働く自然淘汰との二つが考えられる。この二つは同義置換数と非同義置換数を、活性部位とその他の領域にわけて推定することによって区別できる。すなわち、サイトあたりの同義置換数に比べ非同義置換数が大きければ点突然変異に自然淘汰が働いたと考えられるのに対し、活性部位での同義置換数が他の領域での同義置換数より大きいようであれば、遺伝子変換に自然淘汰が働いたと推定できる。ヒトやマウスの $\alpha_1$ -アンチトリプシン、セルピン、カリクレインのいくつかの遺伝子について、活性部位とその他の領域にわけて解析を行った。 $\alpha_1$ -アンチトリプシンの場合新しく重複した遺伝子の比較では、非同義置換率が同義置換率をうまわまわっていた。しかしマウスとヒトといった種間の比較では非同義置換率が同義置換率をうまわまることはなく、超可変性はむしろ活性部位における同義置換を含む全置換率が高まることによることがわかった。このことは、遺伝子重複の後アミノ酸置換率が自然淘汰により高まったが、より長い期間については活性部位を含む遺伝子変換が自然淘汰に有利な変異をもたらす超可変性を引き起こしていることを示唆する。他のセルピンやカリクレインについても似た結果が得られた。この事実は遺伝子変換が一般的に遺伝的変異の源として使われていることを強く示唆する。詳細は *J. Mol. Evol.* **39**, 614-619 に発表した。

(3) 分子系統樹を作成するための進化的距離の推定 (田嶋・竹崎\*): 分子系統学において最も頻繁に用いられる進化的距離は、部位あたりの塩基置換数である。しかし、この数は必ずしも系統樹を作成するために最も有効であるとはかぎらない。正しい系統樹を得るための進化的距離、 $D(t)$ 、の精度を評価するために、精度指数、 $A(t)$ 、が提唱された。この指数は

$$A(t) = \frac{D'(t)}{\sqrt{V[D(t)]}}$$

で定義される。ここで、 $D'(t)$  は  $D(t)$  の進化時間に関する 1 次微分であり、 $V[D(t)]$  は進化的距離の標本分散である。 $A(t)$  を利用して、すなわち、 $A(t)$  が最大になる条件を見出すことによって、正しい系統樹を得るために有効な進化的距離を得ることができる。例とし

\* ペンシルバニア州立大学分子進化遺伝学研究所

て、トランジションがトランスバージョンより高頻度で起きるという仮定の下で、他の進化的距離よりも正しい系統樹をより多く得られる進化的距離を得た。同様に、他の塩基置換モデルにおいても、正しい系統樹をより多く得られる進化的距離を得ることができる。詳細は、Mol. Biol. Evol., 11, 278-286 に発表した。

(4) 自家不和合性遺伝子座における対立遺伝子の有効数、ヘテロ接合体頻度の期待値および遺伝的距離を推定する統計的方法(田嶋・徳永\*・宮下\*\*): 自家不和合性の進化過程を理解するためには、まず集団内および集団間に存在する遺伝的変異を知らなければならない。本研究において、授粉実験から対立遺伝子の有効数、ヘテロ接合体頻度の期待値および遺伝的距離を推定する統計的方法を開発した。この方法は配偶体不適合および胞子体不適合に適用できる。この方法は、ホモ接合体を得るための交配を必要としないので、有用である。詳細は、Jpn. J. Genet., 69, 287-295 に発表した。

(5) ショウジョウバエの種間雑種の形態・発生異常を引き起こす種間変異のスクリーニング(高野): 発生過程において表現型レベル・遺伝子発現のレベルで様々な代理性機能が存在することはよく知られている。一方で、種間雑種においてはその Developmental Homeostasis の機能が壊され多くの形態・発生異常が観察される。その最も端的な例は生殖的隔離の形成である。こうした異種間での交雑異常は雑種第一代においては表れなくとも、戻し交雑等によって第二世代で顕著に表れる場合が知られている。これは、異種のゲノム間で劣性の相互作用が存在することを示唆している。キイロショウジョウバエの欠失染色体を用いてキイロショウジョウバエとその近縁3種の種間雑種において生存力の大きな低下や剛毛などの形態形成に異常を引き起こす劣性の種間変異をゲノム全体にわたって調査することを開始した。今回のスクリーニングはその後の遺伝子の単離を目的としたものであり、第二染色体上の欠失染色体のうち幾つかについてF<sub>1</sub>雑種においてシンセティック・リーサルを引き起こすという知見を得た。

## 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・松本健一と天前豊明が携わり、これに大学院生(総合研究大学院大学・生命科学研究所3年)菅谷公彦と、(同2年)深川竜郎と、(同1年)中村保一が加わっている。また石橋美美恵、石原奈々代、宮内洋子、北きよみ、川本たつ子が研究の補助業務を行った。天前豊明(東京大学分子細胞生物学研究所・学振特別研究員)は平成6年4月1日より本研究部門の助手として任用になった。助手・森山悦子は平成6年4月4日に退職して、米国ハーバード大学の遺伝学博士研究員となった。教授・池村は平成6年4月16日から

\* 久留米大学附属設置中高等学校

\*\* 京都大学農学部農林生物学科

4月25日まで、コスタリカ国で開催された国際分子進化学会が主催する「分子進化のこれからの課題」についての国際研究集会に出席し、ヒトゲノムのGC含量の巨大区分構造に関して発表を行った。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、11月13日から11月18日まで英国でデータバンクの調査を行った。

本年度の研究は、文部省科学研究費補助金重点領域研究(1)「ゲノム情報」（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）、重点領域研究(2)「心筋で高い発現をする細胞外マトリックスTN-Xの心筋の発生・分化における役割」（代表者松本）、重点領域研究(2)「新しく見出した細胞外マトリックス蛋白質のがん浸潤と転移への関与についての研究」（代表者松本）、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）、重点領域研究（分子進化学の新しい展開）「新しい系統樹作成法の開発とその応用」（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、小平美江子・放射線影響研究所研究員を代表に、「高等動物のS期内DNA複製スイッチ部位」に関して、工藤喜弘・山形大学工学部教授を代表に、「コドン利用の差異に注目した生物の特異性の解析」に関して、田中可昌・筑波大学生物科学系教授を代表に、「細胞性粘菌のミトコンドリアtRNAに関する研究」に関して、日下部守昭・理化学研究所副主任研究員を代表に、「細胞外マトリックスタンパク質テネイシンファミリーの存在様式の総合的解析」に関して、実験的ならびに理論的研究を行った。

【研究課題1】高等脊椎動物ゲノムに存在するMbレベルでのGC含量の区分的構造；ヒトMHC領域のGC含量の区分境界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・中村・天前・宮内・池村）

高等脊椎動物のゲノムDNAはGC含量のMb（メガベース）レベルでの巨大な区分的構造よりなり、その構造が染色体バンド領域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、バンド境界と考えられるGC含量巨大モザイク境界の構造解析を行った。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の境界部位、正確にはクラスIIのHLA-DRA遺伝子より約180kbテロメア側に同定できた。境界部位の塩基配列の解析により、その部位に約30kbの大規模Aluクラスターと約30kbのLINE-1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いだした。MHC 領域の PABL をプローブにして、既に約 100 個の独立なヒト PABL を持つコスミドクローンを得ている。そのうち 10 個の PABL の塩基配列を決定しており、5' と 3' の両端とも正確に保存されていることが判明した。PABL 配列から転写が起きていることも、cDNA のクローン化により明らかになり、650 塩基の PABL 配列を骨格として、より大型の RNA 分子として存在することが判明した。RNA 配列においても、5' と 3' の両端とも正確に保存されており、機能を持つ分子として進化の過程で保持されてきたことが示唆される。現時点では、いずれの cDNA クローンについても有意義と思われる ORF が取れていないので、RNA 分子として機能している可能性がある。PABL 配列の近傍で染色体組換え、ないしは transplicing が起こっている可能が出てきた。これらの結果の主要部分は、Fukagawa *et al.* (Genomics, 1995) に発表している。PABL や LINE-1 ならびに Alu の高密度クラスターが、GC 含量の巨大区分構造およびバンド領域の境界の一般的性質であるのかを検証しようとして試みている。天前は、DNA 複製時期のタイミングについて、BrdU を取り込んだ新生 DNA 鎖を鋳型とした PCR 法によって解析している。

[研究課題 2] ヒト MHC 領域に存在する新遺伝子の探索 (菅谷・深川・宮内・池村)

高等脊椎動物ゲノムにおいて GC に富む領域は遺伝子密度が高いことが知られている。ヒト MHC のクラス III 領域はヒトゲノム内でも最も GC に富む部位であり、遺伝子密度が高い代表例として知られている。GC 含量モザイク境界はクラス II と III の境界領域に位置するが、GC 含量の高いクラス III 側に予想通りに 3 種類の新遺伝子を見いだしたので、それら遺伝子の構造を解析した。その内の一つの RAGE 遺伝子は、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り、完全ゲノミック一次配列を決定した。糖尿病の発症や進行に関係する可能性を検証する予定である。PBX2 は homeobox を持つ遺伝子で、転写因子と考えられ、PBX1 と同様に proto-oncogene である可能性が考えられる。従来は第 3 染色体に間違ってマップされていたが、本研究で MHC 領域に存在することが判明し、完全ゲノミック一次配列を決定した。三番目の遺伝子はマウス乳ガン遺伝子 int-3 のヒトホモログで、Notch 様遺伝子である。複合機能ドメインからなる大型膜貫通タンパク質の遺伝子で、cDNA とゲノミック両方のクローンの塩基配列を決定している。遺伝子全域の配列はまだ得られていないが、Notch 様遺伝子の持つ全ての機能ドメインが見いだされており、完全型 Notch 様遺伝子であることが判明した。既に得られている部位の配列を既知の多種類の生物種の Notch 様遺伝子と比較して系統樹を作成すると、哺乳類の Notch 様遺伝子が、4 グループよりなることが明らかになった。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り、結果の主要部分は、Sugaya *et al.* (Genomics, 1994) に発表している。

[研究課題 3] 遺伝子コドン選択パターンの研究 (中村・池村)

本年度も継続して、GenBankの全体を解析してコドン使用のデータベースの更新を続けてきた。生物種ごとに集計したコドンデータベースについては、World Wide Waveで公開している (<http://timacfx.lab.nig.ac.jp/codon/CUTG.html>)。これらのコドンデータベースを基礎に、ゲノム解析計画により決定された大腸菌遺伝子類のタンパク質生産量、ならびにタンパク質遺伝子としての真偽についての推定を試みた。各遺伝子がどの程度に細胞内 tRNA 量に適合するコドン (optimal codon) を使用するのかを、Fop (frequency of optimal codon use) として評価する方法を以前より発表してきた。コドン使用頻度からタンパク質生産量とタンパク質遺伝子としての真偽を推定する方法として、国内外の研究者に利用されている。日本のゲノム計画で配列が決定され、国際 DNA データベースに登録されている大腸菌の 123 ORFs と米国のゲノム解析で登録された大腸菌 480 ORFs に着目して、各々の ORF の Fop を算出し、頻度分布解析をおこなった。興味深いことに、日本グループが登録している ORFs の Fop 分布は、実験的に実証されている大腸菌遺伝子から得られていた分布と同様であるのに対して、米国の場合には、比較的短い ORF (例えば 100 コドン以下) をも遺伝子の候補として登録していることにより、明瞭に低い Fop 値 (例えば 0.5 以下) を持つ ORF がかなり存在する。勿論、100 コドン以下の ORFs についても充分に高い Fop 値の例があり、これらは正しい遺伝子と推定される。日本グループが決定した配列についても、100 コドン以下の ORFs にまで解析を進め、Fop を算出して新遺伝子を同定できる可能性が高い。

[研究課題 4] 細胞外マトリックスタンパク質・テネイン X の機能解析 (松本・北・池村)

我々は主要組織適合性抗原遺伝子群 (MHC) のクラス III 領域の構造解析を行っている際に、細胞外マトリックスタンパク質・テネイン (テネイン C: TN-C) と構造上の類似性の高いタンパク質 (テネイン X: TN-X) の遺伝子を見いだした。TN-X は TN-C と同様に、EGF 領域、フィブロネクチン III 型領域、フィブリノーゲン領域から成る巨大な複合ドメイン型タンパク質である。TN-X の生体内の発現様式及び生化学的特性を調べたところ、分子量約 500 kD で、心筋や骨格筋において特に強く発現し、TN-X は TN-C とは相補的な発現様式をもつ新しい細胞外マトリックスタンパク質であることが明らかとなった。我々は TN-X の生体内での機能を明らかにする目的で、相同遺伝子組換えを利用した遺伝子破壊 (ジーン・ターゲティング) により TN-X 欠損マウスの作成を行なっている。現在までのところ ES 細胞由来のゲノミック・ライブラリーより、既に得ている TN-X の cDNA をプローブとして、TN-X 遺伝子の 5'プロモーター領域及び 5'コーディング領域を含む約 30 kb の DNA 断片のクローニングを行なった。次に Neo 遺伝子 (ポジティブ・セレクション用) と DT-A 遺伝子 (ネガティブ・セレクション用) を用い、相同領域の異なった 3 種類のターゲティング・ベクターの構築を行なった。次に電圧感受性導入法により ES 細胞にターゲティングベクターの導入を行ない、サザン・ハイブリダイゼーション法により、約 250 個の G418 耐性細胞のうち、相同組換えを起こした 1 種類の



ES細胞を得た。さらにこの相同組換えの起こったES細胞を用い、桑実胚とのサンドイッチによる凝集法により、キメラマウスの作成を行なった。現在のところ、得られたキメラマウスと選別用マーカーをもつマウスとの交配中であり、germline transmission が起こりヘテロ接合体が得られ次第、ヘテロ接合体同士の交配によりホモ接合体を得る予定である。次にこのホモ接合体の形態・組織化学的また生化学的な解析を行なうことを計画している。なおこの研究は当研究所・発生工学研究室の中辻憲夫教授・白吉安昭助手・山本博士技官との共同研究によるものである。

[研究課題5] 欠失・挿入による塩基配列の進化 (斎藤成也)

霊長類の塩基配列データを用いて、欠失と挿入の進化を分析した。与えられた系統樹上で、最大節約原理を用いて欠失と挿入の生じた位置を推定するという方法を用いた。核DNAでは、欠失が挿入よりも約2倍高い頻度で生じており、1塩基の欠失挿入の頻度をもっとも高かった。欠失挿入の進化速度はかなり一定であり、核DNAでは1kbあたり百万年あたり約0.15で、ミトコンドリアDNAはその約10倍速かった。塩基置換速度と比べると、欠失・挿入の進化速度は、核とミトコンドリア双方とも10分の1以下であった。本研究は、植田信太郎(東京大学大学院理学系研究科)との共同で行なったものである。(Saitou, N. and Ueda, S., 1994, *Mol. Biol. Evol.*, **11**, 504-512)

[研究課題6] 人類集団の遺伝的近縁関係

a) HTLV-IおよびSTLV-Iウイルスの進化 (斎藤成也)

HTLV-I (Human T-cell Lymphotropic Virus type I) と STLV-I (Simian T-cell Lymphotropic Virus type I) との進化的な関係を探るため、これらのウイルスの gag, pol, env, pX 遺伝子を、PCRで増幅したあと直接に塩基配列を決定した。これらの配列データを、すでに発表されている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、アフリカの猿のSTLV-Iはアフリカ人のHTLV-Iと系統的に近縁であるが、アジアの猿のSTLV-IはHTLV-I全体の外に位置した。本研究はR. Yanagihara (National Institute of Neurological Disorders and Stroke, NIH, U.S.A.)のグループと共同で行なったものである。(Song, K.-J. *et al.*, 1994, *Virology*, **199**, 56-66)

b) 中国海南島人類集団の遺伝的多型 (斎藤成也)

中国海南島の少数民族であるリー・苗・回族、および漢族について、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遺伝子座の対立遺伝子頻度データをもとにして、これらの人類集団間の遺伝的近縁関係を推定した。その結果、リー族2集団は互いに近縁だったが、苗族2集団はお互いにかかなり異なっていた。周辺のアジアの他の人類集団と比較すると、漢族を除く5集団は中国南部のチュアン族とともにひとつのクラスターを形成した。リー・苗族グループと日本人との分岐年代は、約19,000~26,000年と推定された。本研究は、尾本恵市(国際日本文化研究センター)、杜伝書(中国中山医科大学)、杜若甫(中国科学院遺伝研究所)と共同で行なったものである。(Saitou, N. *et al.*, 1994, *Anthropol. Sci.*, **102**, 1-24)

### D-c. 理論遺伝研究部門

客員教授高畑尚之は、昨年に引き続き生命体科学のの研究を精力的に行った。客員助教授の館田英典は、SINE 配列の進化に関するデータ解析および理論的研究を行った。さらに樹木集団での DNA 多様性解析を九州大学原田光博士らのグループと、挿入・欠失が蛋白進化に及ぼす影響についての解析をハーバード大学の Newfeld 博士のグループと共同で行った。

(1) 生命体科学 (高畑): 多様な要素間の巧みな相互作用からうまれる生命の諸現象は、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からだけ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、MHC の 3 分子間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は免疫系の基本的原理を明らかにする上で必要である。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。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、以上の観点から生命体の様々なレベルにみられる歴史的拘束の解明を行なう研究を進めている。

本年の主要な研究は、現在印刷中の二編の論文「MHC diversity and selection」(Immunological Review) と「A genetic perspective on the origin and history of humans」(Annual Review of Ecology and Systematics) に集約した。前者では MHC の高度な多様性が、外来ペプチドの提示に際して獲得する有利性と胸腺における MHC 拘束に伴う不利益のバランスの上に成り立っていること、及び MHC 分子の抗原結合部位のアミノ酸変化の様装を集団遺伝学の立場から解説した。後者の論文では、500 万年以上にわたる人類進化の歴史について現在遺伝的な解析から得られている結果を概観し、遺伝学からみた人類進化に関する研究の現状を総説した。この方向における人類進化の研究は、やっと青年期に達した所であり、今後行うべき実験や理論を指摘した。

本年は数年がかりで編纂した故木村資生博士の論文集をシカゴ大学から出版することができた。また共著のものとしては、最後になった「The Neutral Theory of Molecular Evolution」を JAI Press から出版することもできた。いくつかの追悼文の中でも述べたが、ここに改めて博士に対する感謝の気持ちとご冥福をお祈りしたい。

(2) SINE 配列の進化に関する集団遺伝学的研究 II (館田): 生物のゲノム中には SINE, LINE などの RNA を介して増幅する反復配列が多数見られる。これらの反復配列の増幅がどのように起こっているのかを推定する目的で、モデルの解析を行い、その結果に基づいて実際に多くの配列が決定されているヒトの Alu 配列 Sb サブファミリーのデータを解析した。増幅の様式に関して、増幅能力を持つエレメントが 1 ゲノムあたり 1

個しかないとするマスターコピーモデル，全てのエレメントが増幅能力を持つというトランスポゾンモデル，その中間のモデルなどが考えられる。それぞれのモデルのもとで各塩基座位での変異頻度の分散を計算したところ，どのモデルの場合でも増幅期間が短いことを仮定すれば Alu 配列 Sb サブファミリーのデータを説明できることがわかった。一方増幅可能なエレメント上で起こった塩基突然変異は複数の子孫を残すので，このような変異が起こった座位での変異頻度は他の座位での変異頻度に較べて高くなることが予想される。実際のデータでこのような座位が幾つか見つかった。このことは増幅可能なエレメント上で突然変異が幾つも起こっていることを示している。マスターコピーモデルや小数の増幅可能エレメントを仮定するモデルでしかも増幅期間が短い場合にこのようなデータが得られる確率は低い。このような考察から，ヒトの Alu 配列 Sb サブファミリーは，複数の増幅能力を持つエレメントが短期間に増幅を行って形成されたことが推測された。

## 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代謝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。本年 4 月末，九州大学医学部に転任した中島 衡（前助手）の後任として，出原賢治（DYNAX 研究所）が助手として着任し，IL4 の細胞内シグナル伝達機構とその変異に関する研究を開始した。

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，特定研究事業費「ヒトゲノム遺伝情報の解析」（今村），重点領域研究

「分子進化学の新展開の推進（代表者・宮田 隆）（宝来），同「分子進化学の新展開（代表者・長谷川政美）（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学的研究」（近藤）などの文部省科学研究費補助金，特定疾患調査研究班「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。

研究課題 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・今村）

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 番染色体の異常に関わる遺伝子の解析を目的として，ヒト 18 番染色体の高分解能・連鎖遺伝子地図の解析を計画した。基礎的研究として，(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（126-15，126-21 等）を作成した。18 番染色体セントロメアに特異的なプローブ（pL1. 86）およびヒト全染色体 DNA を用いた蛍光現位雑種形成法（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 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，サブクローンについて，5'および 3'脇側配列を解析した。

ヒト 18 番染色体は，ゲノム DNA の 3% を占めるので，全長 100 センチモルガン（cM）と考えられる。18 番染色体から取り出した 60 個のマーカー遺伝子は，約 2cM の間隔で染色体地図上に連鎖すると考えられる。今後，われわれが作成した 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，固定化 DNA を用いた cDNA の選択法（エクソントラップ）を応用し，脳組織で発現する 18 番染色体短腕（18p）上の遺伝子を分離することによって，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的している。

研究課題 2: 摂食行動の異常と肥満に関する遺伝学的解析（今村・境・稲葉）

Prader-Willi 症候群（PWS）は，患者の父親に由来する 15 番染色体長腕の特定領域（15q11-q13）の遺伝子欠損に基づく先天性異常症であり，軽度ないしは中等度の知能低下，筋組織の低緊張，性徴発達障害などの身心発育障害とともに，摂食行動の異常と過食による肥満，糖尿病の早期発症などを特徴とする。この研究の目的は，この PWS 領域に含まれる遺伝子を明らかにして，それらの機能を解析し，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にある。

Zucker 肥満ラットの研究から、摂食行動の異常と肥満、糖尿病の発症といった PWS 症候群相似の現象が、視床下部・神経伝達系における作用物質の一つである脳内ヒスタミンないしはそのレセプターの異常に基づくことが知られている。一方、PWS 症候群のおよそ 80% 以上の例で 15 番染色体の特定の領域に部分的な欠損が認められることから、この領域に複数の原因遺伝子が存在すると考えられる。また、一对の相同染色体が両親のどちらか一方に由来するという片親ダイソミーの例から、この PWS 領域では父親に由来する染色体上の対立遺伝子のみが選択的に発現しており、母親由来の遺伝子はゲノム・インプリント（刷り込み）の機構によって、正常者でも不活性化されていることが明らかになった。そこで、本症候群の主要徴候が、(イ) 患者の視床下部・神経伝達・受容体系に関連する遺伝子機能の欠損にもとづくと考え、(ロ) 遺伝子のインプリントによる発現の調節、したがって患者では遺伝子機能が欠損する事実、さらに、(ハ) 遺伝子の染色体地図上の位置の知見をも踏まえて、位置的（ポジショナル）クローン化操作によって遺伝子を取り出し、その構造と機能を知ることによって、分子レベルの原因を解明することを目指した。患者細胞から mRNA・cDNA ライブラリーを作成し、正常個体のそれからクローン・サブトラクション法を用いて共通の cDNA 配列断片を引き去ることにより、患者で欠損する 13 個の cDNA を選択した。どのクローンにも既知の遺伝子と相同の配列は認められず、新しい遺伝子の一部を構成する配列と考えられる。これらは患者の細胞では発現していないので、PWS 症候群・候補遺伝子の一部である可能性がきわめて高い。新しい遺伝子が取り出されたことによって、ゲノム・インプリントの機構の生物学的意義の理解が深まると期待している。

研究課題 3: インターロイキン 4 の細胞内シグナル伝達機構に関する研究（出原・境・稲葉・今村）

サイトカインの一つであるインターロイキン 4 (IL4) は、チロシンキナーゼ (JAK1 および JAK3) および細胞質のシグナル伝達・転写活性化タンパク (STAT) をチロシン・リン酸化反応によって活性化することが明らかにされている。一方、IL4 レセプターは IL2, IL7 および IL9 と共通の  $\gamma$  鎖 ( $\gamma c$ ) をもっており、 $\gamma c$  の変異によって X 連鎖・重症複合性免疫不全症 (XSCID) になることが知られている。JAK3 は  $\gamma c$  と共同作用することがわかっている。そこで、我々は IL4 のシグナル伝達経路に  $\gamma c$  が関わることを明らかにするため、XSCID 患者から樹立された細胞株を用いて IL4 刺激による JAK-STAT 経路の活性化現象を解析した。実験結果によると、正常 B 細胞株では JAK3 のチロシン・リン酸化が見られたが、XSCID 患者由来の 2 細胞株ではこの反応が認められなかった。電気泳動上の移動度のずれ (mobility shift) を調べる方法で、正常 B 細胞で見られる STAT の活性化反応が患者細胞では見られないことを明らかにした。以上の結果から、IL4 シグナル伝達における JAK-STAT 経路が XSCID 患者では遺伝的に障害されており、IL4 による JAK-STAT の活性化に  $\gamma c$  が重要な役割を果たすことを示した。

研究課題4: ミトコンドリア脳筋症 MELAS における新たな 3291 変異 (宝来・梅根・田辺\*・埜中\*\*・後藤\*\*)

ミトコンドリア脳筋症 MELAS に関しては、我々の研究グループにより、ミトコンドリア tRNA ロイシン (UUR) 遺伝子上の 2 種類の疾患特異的変異 (3243 変異, 3271 変異) が明らかにされている。今回、MELAS 患者において本邦第 3 の変異である同 tRNA 遺伝子上の 3291 部位に T から C への置換を見出した。この変異部位は生物進化上、ヒトからウニに至るまで厳密に保存されている。変異型 DNA は、患者の筋組織および血液にヘテロプラスミーの状態を観察された。他の 46 例の MELAS, 5 例の MERRF, 23 例の CPEO 患者、さらに正常対照 55 例の検討では、3291 変異はこの患者のみに観察された。すでに報告した 3243 変異及び 3271 変異と同様に今回の 3291 変異は tRNA ロイシン (UUR) 上の変異であることにより、この tRNA の変化が MELAS 発症と強く相関していることが示唆された。

詳細は、Biochem. Biophys. Res. Commun. 202(3): 1624-1630, 1994 に発表した。

研究課題5: 白人家系に見出されたミトコンドリア DNA の 3271 変異 (Marie\*\*\*・後藤\*\*・埜中\*\*・宝来)

我が国におけるミトコンドリア脳筋症・MELAS 型に相関したミトコンドリア DNA の変異のうち 2 番目に多いものは 3271 部位の変異である。この変異をポルトガルおよびイタリア系のブラジル人家系において見出し、3271 変異が人種を越えて存在することを明らかにした。発端者は非 MELAS 型の臨床像を示すことから、3271 部位の変異を有する患者はヘテロゾミアスな病型を示すことが示唆された。

詳細は、Biochem. Med. Metabol. Biol. 52: 136-139, 1994 に発表した。

研究課題6: ミトコンドリア DNA の点変異と相関した糖尿病亜型 (門脇\*\*\*\*・矢崎\*\*\*\*・埜中\*\*・宝来)

家族歴のあるインスリン依存性の糖尿病 (IDDM) の患者 55 例 (グループ 1)、家族歴のない IDDM の患者 85 例 (グループ 2)、家族歴のあるインスリン非依存性の糖尿病 (NIDDM) 患者 100 例 (グループ 3)、および糖尿病と難聴を併発した患者 5 例 (グループ 4) に対して、ミトコンドリア DNA のロイシン (UUR)tRNA 遺伝子上の 3243 部位における A から G への点変異の有無を検索した。さらにミトコンドリア脳筋症で糖尿病を併発している 3243 変異をもつ患者 39 例とその近縁者 127 例 (グループ 5) に関しても検討した。その結果、16 例に関して、3242 部位における A→G 変異を観察し、その内訳はグループ 1 で 3 例 (6%)、グループ 3 で 2 例 (2%)、グループ 4 で 3 例 (60%)、グループ 5 で 8 例 (21%) であった。さらにグループ 1, 2, 3, 4 に属する糖尿病と 3243 変異のある患者の近縁者 42 例中 16 例で変異を観察し、グループ 5 の患者の近縁者 127 例中 20 例におい

\* 千葉子供病院

\*\* 国立精神・神経センター

\*\*\* サンパウロ大学

\*\*\*\* 東京大学・医学部

でも変異を見出した。3243 変異と糖尿病は母性様式により遺伝し、多くの場合 (61%) は、難聴と相関し、一般的にインスリン分泌に障害を有していた。以上より、ミトコンドリア DNA のロイシン (UUR) tRNA 遺伝子上の 3243 部位での A から G への変異を有する糖尿病は、日本における IDDM および NIDDM の患者に見出される糖尿病の一亜型をなすことが明らかとなった。

詳細は、New Eng. J. Med. 330: 963-968, 1994 に発表した。

研究課題 7: ミトコンドリア tRNA (UUR) 遺伝子における変異型 DNA の漸進性減少を示したミトコンドリア脳筋症 (川上\*・後藤\*\*・埜中\*\*・宝来)

ミトコンドリア DNA の 3243 部位における変異は、MELAS 型ミトコンドリア脳筋症患者に最も多く観察される。今回検討したミトコンドリア筋症を呈する女性患者では、3243 部位の変異は有するが、MELAS 型患者に特徴的な中枢神経系の症状は示さない。この患者においては、筋力低下は 7 才時に最も顕著であったが、年令と共に徐々に寛解した。12 年半の間隔 (9 才時および 20 才時) に得た生検筋を比較した結果、ragged-red fiber の数は著しく減少しており、組織化学的にはシトクロム C 酸化酵素活性が上昇しており、逆に変異型のミトコンドリアゲノムの割合は減少していた。

詳細は、Ann. Neurol. 35: 370-373, 1994 に発表した。

研究課題 8: 慢性進行性外眼筋麻痺症候群におけるミトコンドリア tRNA 遺伝子の点突然変異 (服部\*\*\*・後藤\*\*・作田\*\*・埜中\*\*・水野\*\*\*・宝来)

我々は、ミトコンドリア DNA に大欠失や既知の点変異を認めない慢性進行性外眼筋麻痺 (CPEO) 日本人患者 9 名につき全ミトコンドリア tRNA 遺伝子の配列を決定し、6 名の患者で 6 カ所の異なる塩基置換を見出した。6 カ所の内 5 カ所の塩基置換は、分布がホモプラスミーであり、さらには数名の正常対照でも見出されたことから、正常個体で認められる多型と考えられる。tRNA ロイシン (CUN) 遺伝子内の 12311 番で見出されたヌクレオチドの変異は、90 名の正常対照及び 103 名の他のミトコンドリア・ミオパチー患者では認められなかった。この変異はヘテロプラスミーの状態で存在しており、また同部位は進化の過程で種を越えて保存されていることから、疾患と関連した変異であることが示唆される。しかながら、この変異の重要性に関しては更なる検討が必要である。大欠失を認めない日本人 CPEO 患者においては、ミトコンドリア tRNA 遺伝子上の点変異が疾患原因となることは比較的稀であることが示唆された。

詳細は、J. Neurol. Sci., 125: 50-55, 1994 に発表した。

研究課題 9: ラットにおける肉体的訓練に対するヒラメ筋ミトコンドリアの酵素的および遺伝的適応 (村上\*\*\*\*・下村\*\*\*\*・小澤\*\*\*\*\*・宝来)

肉体的訓練が、遅収縮筋におけるミトコンドリア遺伝子発現とミトコンドリア合成に

\* 日本医科大学

\*\* 国立精神・神経センター

\*\*\* 順天堂大学・医学部

\*\*\*\* 名古屋工業大学

\*\*\*\*\* 名古屋大学・医学部

対して及ぼす影響を評価する目的で、成熟雌 Sparague-Dawley ラットをモーター駆動性トレッドミル上で走らせる訓練 (25 m/分の速度で、毎日 90 分、週 5 日間の頻度) を 3, 6, 12 週間にわたり施行し、ラットのヒラメ筋内のクエン酸合成酵素、ユビキノール・チトクローム-c 酸化還元酵素、チトクローム酸化酵素、ミトコンドリア・チトクローム b mRNA (ノーザンブロットによる)、ミトコンドリア DNA (スロットブロット、サザンブロットによる) の活性を測定した。ミトコンドリア mRNA およびミトコンドリア DNA 検出のためのプローブは、チトクローム b 遺伝子をコードする領域を含む 1500 bp のヒト・ミトコンドリア DNA の断片を基に作成した。3, 6, 12 週にわたる訓練により、筋内のクエン酸合成酵素 (各 31, 28, 47%), ユビキノール・チトクローム-c 酸化還元酵素 (各 61, 63, 77%), チトクローム酸化酵素 (各 25, 26, 32%) の活性は、それぞれ著明に上昇した。チトクローム b mRNA 濃度は、酵素活性の増加に比例して増加していた。これに対して、ミトコンドリア DNA 濃度は 3 ないしは 6 週間の訓練では変化が見られなかったが、12 週間の訓練後では著明な増加 (スロットブロットで 35%, サザンブロットで 31%) が見られた。これらの結果から、遅収縮筋における酸化能増加は、比較的短期間の訓練ではミトコンドリア蛋白質合成の翻訳前段階で制御されているが、長期間の訓練ではミトコンドリア複製機構が関与していることが示唆された。

詳細は、Am. J. Physiol. **267** (Endocrinol. Metab. **30**): 388-395, 1994 に発表した。

研究課題 10: 台湾先住民族・高山族における補体成分 I および C1 のサブコンポーネント C1R の多型 (梅津\*・湯浅\*\*・鈴木\*・孫\*\*\*・潘\*\*\*\*・石田\*\*\*\*\*・斎藤・宝来)

台湾先住民族・高山族 9 種族集団より得た 658 検体の血液試料を対象として、等電点電気泳動法および免疫ブロッカ法により、ヒト補体成分 I (IF) および C1 のサブコンポーネント (C1R) のタンパク多型を検索した。IF\*A 対立遺伝子頻度は、0.075 (ブヌン族) から 0.430 (サイセット族) の範囲で分布し、さらにタイヤル族では、新たな変異対立遺伝子 IF\*B2 が多型頻度で観察された。C1R\*1 対立遺伝子頻度は 0.410 (ヤミ族) から 0.650 (タイヤル族) での分布を示し、一方、C1R\*2 対立遺伝子頻度は、0.265 (タイヤル族) から 0.586 (サイセット族) の範囲にあった。稀な対立遺伝子である C1R\*5 が 5 種族 (タイヤル, ブヌン, アミ, プヌマ, ヤミ) で観察され、さらに C1R\*9 がツオウとプヌマの 2 種族で見出された。これらの結果は、これらの種族間において遺伝的多様性の度合いがかなり著しいことを示している。この多様性はそれぞれの種族が長期間にわたって遺伝的および地理的な隔離があったことを反映していると考えられた。

詳細は、Hum. Biol. **66**(2), 339-348, 1994 に発表した。

研究課題 11: 細胞内情報伝達に関する GTP 結合蛋白質の構造と機能に関する研究

a) 低分子量 GTP 結合蛋白質の翻訳御修飾機構に関する研究 (鬼頭・藤山): 代表的な

\* 山形大学・医学部

\*\* 鳥取大学・医学部

\*\*\* 省立台東病院

\*\*\*\* 台湾大学・医学部

\*\*\*\*\* 東京大学大学院・理学研究科



GTP 結合蛋白質 (G 蛋白質) は、3 分子のサブユニット ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) 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想像されているが、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。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た結果、分裂酵母ファルネシル化酵素は哺乳動物型酵素とは異なる基質特異性を持つことが明らかになった。(論文準備中)

#### 研究課題 12: 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。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。今後は、ゲノム構成を明らかにするための基盤情報を産出するための大規模塩基配列の実現と、それに基づく生物情報科学の展開が中心となる。我々のグループは、前者の基盤となる sequence ready なヒト染色体に特異的なライブラリの作成と、ゲノム解析のための新技術の開発とその応用をめざした研究を行っている。

(a) 染色体特異的ライブラリの作成 (藤山, 前島, 遠藤): ソーティングにより純化したヒト染色体を DNA 材料とし、染色体特異的ライブラリの作成を進めている。新たに開発したライブラリー作成のためのプロトコルを用い、現在までに 16~22 番染色体、ならびに X, Y 染色体の 98% をカバーするライブラリの作成が完了した。

(b) 単離染色体を用いる 2 次元マッピング法の開発 (吉川\*, 浅川\*\*, 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

\* 吉川浩英 (大阪大学)

\*\* 浅川順一 (放射線影響研究所)

て、特異的なパターンの作成するとともに、全ゲノムの43%にあたる *NotI* 部位についてのマッピングを行った。(論文準備中)

(c) 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 *lca/lco* 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を作成する作業を進めている。

研究課題13: 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)

上記研究課題12bの画像データベース化を進めている。

### E-b. 育種遺伝研究部門

当部門は、人間にとって有用な生物の遺伝と育種に関する基礎研究を行うことを目標として活動している。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きた。現在進行中の主な研究課題は当部門の従来からの研究テーマである進化・適応の問題に加えて、形態形成や遺伝子の発現調節に関するもので、いずれも生物の遺伝的変化の基礎として重要な問題である。

人事面では、約10年間イネの起源と進化に関して独自の研究を展開してきた佐藤助手が9月1日付で静岡大学農学部の助教授として転出した。職員以外では、大学院学生として加賀谷安章(総研大)と国枝基司(明治大・修士課程)が研究に参加した。外国からも以下のような共同研究者を迎えた。H. S. Suh(客員教授, 韓国嶺南大学, 3月より1年間), J. Kohn(カリフォルニア大学サンディエゴ校助教授, 7月~9月), 才宏偉(学振外国人特別研究員, 中国, 6月より1年間)。また従来通り技術課の妹尾治子, 永口貢, 宮林登志江, その他多数のパートタイマーの人達の協力を得た。

本年、経常研究費以外に補助を受けた主な研究費は、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), 一般研究B「イネ野生遺伝子の再評価」(代表・佐野), 試験研究B「作物の近交系統および生態型の特異的なDNAマーカー・ライブラリーの構築」(代表・佐藤), 国際学術研究「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), 総研大グループ研究「生命体の科学」(代表高畑尚之・分担森島)などであり、そ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今年は次の5件を実施した。「アマゾン河流域の野生イネの生態・進化遺伝学的研究(北大・大原雅)」, 「植物集団に発達する遺伝構造の解析と遺伝変異保全上の意義(京都産大・野村哲郎)」, 「イネの花の形態形成に関わる遺伝子間相互作用(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)」, 「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)」。また次の4件の研究集会の世話を当部門が行った。「熱帯大河流域における野生および栽培種の伝播および集団の動態(東北大遺生研・佐藤雅志)」, 「地球環境の変動と植物

生態遺伝学(北大・島本義也)、「イネ遺伝学と分子生物学の接点(農業生物資源研・松岡信)」、「イネ遺伝学の再構築(岡大資生研・武田和義)」。

国際的な活動としては、従来からタイ国で行っている野生イネ自生地の保全に関する共同研究のため、森島が1月23日～29日(学振論博支援事業)、12月8日～13日(国際学術研究・総括班)の2回出張した。また平野が6月18日～27日の間、オランダ・アムステルダムで開かれた4th Int. Cong. Plant Mol. Biol. に出席、研究成果を発表した。イネ研究者の国際的組織である Rice Genetics Cooperative の機関誌、Rice Genetics Newsletter については、編集委員長岡彦一名誉所員を委員森島が支援して Vol. 10 を発行することができた。この刊行については文部省科研費(研究成果公開促進費)の援助を受けた。

以下に本年進展のあったいくつかの課題について触れる。

(1) 中国野生イネ集団の遺伝的多様性(才宏偉\*・王象坤\*\*・森島): 栽培イネの起源地、少なくともその日本型イネの起源地が中国にあるという説は古くからあったが、実証的データが充分でなく論争が絶えなかった。その大きな理由は、祖先野生種である *Oryza rufipogon* の中国における実態が明らかにされていなかったことである。今回北京農業大学との共同研究という形で、中国野生イネ自然集団の遺伝学的解析を行う機会を得た。

集団内変異の詳細な解析を行ったのは、a) 東響(江西省北緯 28°, この野生種の分布北限)、b) 元江(雲南省の山地)、c) 六里長塘(広西自治区)の3集団で、タイ・インド・インドネシアなど熱帯アジアの集団を比較対照として、アイソザイムや各種形質の変異解析を行った。その結果、

1) この *O. rufipogon* は、アジア全域では種内に多年生型・一年生型の分化を生じている。この種に属する中国の野生イネは主として栄養繁殖する多年生植物であるが、熱帯アジアの多年生型とは異なる特徴を示し、表現型形質の多変量解析の結果は、典型的多年生型と一年生型の中間の特徴を示した。

2) アイソザイム 29 遺伝子座の変異の多変量解析の結果は、地理的距離に対応する分化パターンを示し、中国の集団は熱帯アジアのものとは違う対立遺伝子を持つ傾向が認められた。

3) 栽培イネの2大品種群(インド型・日本型)は複数のアイソザイム遺伝子の組み合わせでかなり明瞭に区別される。日本型特異的遺伝子の一部は熱帯アジアの野生イネでは稀であるのに対し、中国野生イネ集団では高頻度で見出されることがわかった。

4) 集団内の遺伝的多様性を示す種々のパラメータを求めたところ、東響や元江のように他の野生イネ集団や栽培イネと完全に隔離されて長い間生存してきたと考えられる集団は、集団内遺伝変異が少ないことがわかった。

現在、核 DNA の RFLP を調査中である。より多くの集団を調査し、地理的変異・生態的変異・栽培イネのインド型・日本型との関係などを総合して、中国におけるイネの起源

\* 学術振興会外国人特別研究員

\*\* 北京農業大学

と進化の様相を探りたい。

(2) 雑草イネの変異と起源 (H. S. Suh\*・森島): 栽培イネと共存して、あるいはその周辺に雑草として生育するイネがあり、雑草イネ (Weed rice) と呼ばれる。雑草が一般的に持つ特徴の一つであるストレス耐性を提供できる遺伝資源として、またその起源に関する進化的興味から、イネ研究者に関心を持たれてきた。

韓国全土から収集された 102 の雑草イネ系統を中心に、他の国々から採集された 53 系統を比較のために加え、変異解析を行った。調査形質は、各種ストレス耐性 (水中発芽性、深土発芽性、耐病性、低温抵抗性、乾燥耐性など)、自生能力に関する形質 (脱粒性・種子休眠性など)、日本型・インド型判別に有効な形質や遺伝子に、重点をおいた。一部の材料については RAPD および RFLP マーカーの調査も行った。さらに栽培イネと交配した 4 つの F<sub>2</sub> 集団および 1 つの F<sub>3</sub> 集団も栽培調査した。

1) 韓国の雑草イネは、表現型形質・アイソザイム・分子マーカーなどによって明瞭な 2 群に区別され、それらは栽培イネのインド型・日本型に相当する特徴を示した。

2) 一般にインド型雑草イネは日本型雑草イネに比べて系統間で多様な変異を示す。そのインド型系統の中で、韓国系統は熱帯アジアの国々の系統とは異なる遺伝子型を持つ傾向が認められた。

3) 少数の雑草イネ系統は、低温抵抗性、水中発芽性、乾燥耐性など各種のストレス環境に対して、共に調査した栽培イネよりも野生イネよりも高度の抵抗性を持っていた。

4) 栽培イネのインド型・日本型の間で差があることがわかっている葉緑体および核ゲノムの分子マーカーについて調査したところ、一部の雑草イネ系統は日本型細胞質にインド型核遺伝子をあわせ持つこと、その中の一部は組換え型の核遺伝子マーカーを持つことが見出された。このことは雑草型の起源の少なくとも一部は遠縁品種間交雑に由来することを示唆する。インド型細胞質と日本型核遺伝子を持つ系統が見出されなかったのは、日本型とインド型の雑種後代では日本型由来の核遺伝子の頻度が減少するという一般的現象が関与している可能性も考えられる。

この結果の一部は Rice Genetics Newsletter 11, 72-73 (1994) に発表した。

(3) 野生イネにおける一年生・多年生への分化の遺伝的基礎 (J. Kohn\*\*・森島): 栽培イネの野生祖先種 *Oryza rufipogon* は多様な変異を含む複合種であるが、もっとも主要な種内変異は多年生型と一年生型への分化である。多年生と一年生の違いは他の多くの生活史特性と相関し、湿潤 (多年生型) と乾燥 (一年生型) という異なる環境に対する適応戦略を形づくっている。

2 つの生態型、多年生型と一年生型の差を構成している種々の生態的、形態的特性は、自然集団においても交雑 F<sub>2</sub> においても連続的変異を示すので、複数の遺伝子によって支配されていると考えられるいわゆる量的形質である。一方、*Pox-1*, *Sdh-1* などの特定のアイソザイム遺伝子座の多型とこれらの量的形質との間に相関関係が認められることから、

\* 韓国嶺南大学

\*\* カリフォルニア大学サンディエゴ校

いわゆる QTL (Quantitative Trait Loci) が存在することも示唆された。そこでこれら複数形質の特定の組み合わせとして認識できる 2 つの生態型の分化の遺伝的基礎を明らかにする目的で、タイで採集された野生イネの一年生型×多年生型の F<sub>2</sub> 約 250 個体を、夏期の短日圃場および冬期の温室で栽培し、個体別に各種形質、アイソザイム *Pox-1* の変異を調査した。F<sub>2</sub> の相関分析の結果は、高い種子生産力、早い開花期、短い葯 (自殖的) が互いに正に相関し、これらは栄養繁殖力と負の相関を示した。これは自然集団の間で見られる変異パターンと同じであるが、F<sub>2</sub> でも観察されたことは、種子繁殖力と自身の生存力との間のこの "Trade-off" (負の相関関係) は遺伝的相関であることを意味する。現在進行中の RFLP マーカーとの連鎖分析による QTL の染色体上へのマッピング、および次世代以降の相関関係の推移を追うことによって、この適応的分化の構成形質の相関が多面発現か連鎖か、又それらを支配する遺伝子群がゲノム上にどのように分布しているのかなどの情報が得られるものと期待している。

(4) アマゾンに分布する野生イネ集団の遺伝的構造と生活史特性 (秋本\*・大原\*・島本\*・宮林・森島): ブラジル・サンパウロ大学との共同プロジェクトとして行った 1992・93 年のアマゾン調査 (年報 44 号で報告) で採集した材料の中から、栽培イネと同じゲノム (AA) を持つ野生イネ *Oryza glumaepatula* 63 集団 282 系統を栽培調査すると共に、アイソザイムや発芽特性などの変異解析を行った。得られた主な結果は以下の通りである。

1) 調査したアイソザイム 26 遺伝子座の 46% は単型的であり、AA ゲノムを共有する他地域の近縁種に比べ、集団間・集団内遺伝変異ともに非常に小さかった。

2) しかし詳細に解析したところ、アマゾン本流ソリモンエス河とその一大支流ネグロ河との間で、またソリモンエス河の上・中・下流の間で地理的分化が生じていることがわかった。

3) 各集団ごとに遺伝子多様度 (H) を推定したところ、アマゾン本流ソリモンエス河の下流の集団は上・中流のものに比べて集団内変異が大きい傾向が認められた。

4) 各種の量的形質の変異を多変量解析したところ、アイソザイム変異の解析結果と同様、ソリモンエス河の上・中流と下流の集団の間に分化が生じている傾向が認められた。

5) 栄養繁殖能力を評価するため私共が従来行ってきたように稈基部節の再生力を調べると、多くの一年生系統と同様にほとんど再生しなかったが、稈上部節は再生力があることが見出された。これは増水に応じて節間伸長し、そして稈が折れて上部が水面上に浮かびながら生殖生長を続けるというアマゾン野生イネ特有の生態を支えるのものであろう。

6) 野生イネが一般的に強い種子休眠性を示すのに対し、このアマゾンの野生イネの多くの系統は成熟直後からよく発芽する。また他地域の野生イネよりも水中で長期間生存できるようである。河の減水期に発芽する一年生植物と考えられるが、その実態はまだ不明な点が多い。

\* 北海道大学・農学部

主として種子によって繁殖する、水面に浮かんで長距離を移動する、増水パタンの年変動が大きいため集団の絶滅率が高い、などのアマゾン野生イネに特異的な生活史が、多型性程度の減少と集団分化の未発達というアジアの近縁種とは異なる集団構造をもたらしているのであろう。集団の遺伝的構造の解析結果は Rice Genet. Newsl. 11, 74-76 (1994) に発表した。

(5) 交雑不親和性遺伝子クラスターの遺伝解析 (佐野): ゲノム解析がおびただしい情報をもたらす中で、イネ遺伝学を再構築する努力は様々なレベルで考慮されることが期待される。イネにおいても遺伝子の精密地図が利用できるようになって、染色体上に連鎖する機能遺伝子群について飛躍的に詳細な調査が可能となって来つつある。我々は、従来より栽培および野生イネの遺伝的分化を研究する中で、適応的遺伝子や分類単位間の生殖隔離に関与する遺伝子の探索と同定を行ってきた。個々の染色体領域における上記遺伝子群の解析は、進化遺伝的興味だけではなく、野生種から有用遺伝子を導入する時に生じる障害を回避するための方策をも提示できよう。既に、イネの第6染色体上には適応や生殖隔離に関与する多数の遺伝子が報告されている。我々も、遺伝的分化に意義のある機能的遺伝子の探索を続けているが、これはイネを理解するにあたって将来最も重要な研究方向の一つであることを確信するからに他ならない。

最近になって、野生イネより一方向的交雑不親和性を引き起こす *Lcr* 遺伝子が第6染色体上に見いだされた。一方向的交雑不親和性は、*Lcr* 遺伝子をもつ雌性親が *Lcr* を持たない花粉親と交雑した時のみ、交雑成功率が著しく低下する現象として検出される。T65*Lcr* を雌性親として、栽培・野生イネ系統を交配すると、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くなる傾向を示した。更に、Indica 型や野生系統からその発現を抑制する因子が存在することが判り、*Lcr* 遺伝子自体と連鎖して遺伝子複合体を形成していることが判明した。ここで観察された一方向的な交雑不親和性は、花粉管伸長の阻害によって起こるのではなく、受精後の幼胚発育異常によると考えられた。多くの雑種植物で観察されるように、幼胚発育異常は、胚乳組織の崩壊に起因することが示唆された。この現象は非メンデル遺伝を示し、受精機構における雌雄両配偶子の機能的分化を反映するものと考えられた。

(6) 果皮で発現する Wx タンパク質に相同な遺伝子の探索 (加賀谷・平野): イネ Wx 遺伝子座は、種子胚乳中のアミロースの合成を支配している。Wx 座の遺伝子産物 (Wx タンパク質) に対する抗体を用いて、イムノブロット解析をすると、種子の発生初期に Wx タンパク質よりやや分子量の小さいバンドが検出される。このバンドは *wx* 変異体を用いた場合でも検出されることから、Wx タンパク質に相同なアミノ酸配列を含む、*wx* 座とは異なる遺伝子座に支配されているタンパク質であると考えられる。本年度はこのタンパク質 (WRP1; Wx Protein-Related Protein 1) の性質を検討するとともに、これをコードする cDNA の探索を行った。

*wx* 変異体を用いたイムノブロット解析により、WRP1 について次のようなことが明らかとなった。(1) 種子の発生の初期に強く発現し、その後減少する。発現は受粉後 4-5 日目

が最も大きく、この時期は、種子のうちの果皮が良く発達し、強い緑色を呈している時期に相当する。(2) 種子を胚乳と果皮を含む2つの部分に分けて調べると、果皮を含む方でWRP1の発現が検出された。(3) 免疫組織化学的な解析により、果皮に局在していることが示された。これらの結果から、WRP1は種子という器官の中では果皮組織で特異的に発現していると考えられる。また、WRP1は登熟初期の緑色の果皮のみならず、エイや茎の緑色器官でも弱く発現していることなどから、光合成で固定された炭素の一時的な貯蔵形態である同化デンプンの合成に関与していることが示唆される。

これまで、貯蔵デンプンの合成に関しては *Wx* 遺伝子を始めいくつかの遺伝子がクローン化されその機能と発現調節に関する研究が進められているが、同化デンプンの合成系の遺伝子に関する知見はほとんど得られていない。WRP1が同化デンプン合成系遺伝子の探索の手がかりになることが期待される。これらの遺伝子の働きは光合成機能との関連やシンク・ソースのバランスの面からも興味深い。そこで、発生初期の種子より得た mRNA より cDNA ライブラリーを作製し、イムノスクリーニング法で WRP1 に対する cDNA クローンを探索した。得られたポジティブクローンをプローブとしてノザン解析をしたところ、その転写産物の発現時期や発現組織が WRP1 のパターンと一致していた。したがって、このクローンが WRP1 をコードしている可能性が高いと考えられる。今後、WRP1 とその遺伝子の機能と発現調節について研究を進める予定である。

(7) 糖によるイネ *Wx* 遺伝子の発現調節 (国枝\*・佐野・平野): *Wx* 遺伝子はイネの胚乳で合成されるデンプンのうち、アミロースの合成を触媒する酵素 (ADPglucose starch glycosyl transferase) をコードしている。光合成により固定された炭素はショ糖の形態で篩管を経て貯蔵組織に輸送され、様々な物質に変換される。イネ種子の大半を占めるデンプンの合成には大量のショ糖が消費される。したがって、デンプン合成に関与する遺伝子はショ糖によりその発現が影響を受けることが予想される。そこで、本研究では糖に対する *Wx* 遺伝子の発現応答を検討した。

登熟中の穂を切り取り様々な溶液に浸すことにより外部より糖を与え、種子中の転写産物および *Wx* タンパク質の量を調べることにより、*Wx* 遺伝子の発現パターンを解析した。その結果、水に比べてショ糖やブドウ糖に浸した場合、強い発現が見られた。マンニトールの場合の発現は水と変わらなかったため、ショ糖などによる発現の増大は浸透圧変化によるものではないこと、植物の細胞内で代謝可能な糖のみが *Wx* 遺伝子の発現に効果を与えることが明らかとなった。また、100 mM まではショ糖濃度に依存して発現の増大が見られたが、300 mM ではやや低下した。通常篩管中のショ糖濃度は約 100 mM なので、正常な状態では *Wx* 遺伝子は活発に発現していると考えられる。何らかの原因で、光合成機能が低下し、種子に送られるショ糖濃度が減少すると *Wx* 遺伝子の発現が抑えられるのであろう。ショ糖欠乏時に *Wx* 遺伝子が正常に発現すると種子に送られてきた炭素源であるショ糖をデンプンの合成に大量に消費してしまい、胚の発生など植物の生存にとって必

\* 明治大学農学部

須な生命活動を妨げる結果になる。そのため、シヨ糖濃度が低いときにデンブン合成系の遺伝子の発現を抑える機構が発達したのではないかと考えられる。

次に、Wx 遺伝子のシヨ糖応答の機構を解析するために、Wx 遺伝子のプロモーター領域をレポーター遺伝子の GUS ( $\beta$ -glucuronidase) に連結した融合遺伝子を作製し、イネの Oc 細胞を用いて transient assay 系による解析を行った。まず、シヨ糖応答を解析するためのアッセイ系を開発した。次にこの系を用いて解析した結果、GUS 活性は代謝可能な糖により影響を受け、その濃度に依存して活性の増大が認められた。したがって、培養細胞を用いたこの transient assay 系は植物体での Wx 遺伝子の応答を反映していると考えられる。今後、シス因子の探索などをはじめとして、Wx 遺伝子がシヨ糖に応答するための制御機構を解明する計画である。

### E-c. 応用遺伝研究部門

九州大学生体防衛医学研究所 渡邊 武教授が客員となり、人類遺伝研究部門と協力しながらヒト免疫細胞における抗原受容体からの情報伝達と遺伝子発現の調節機構について研究を行った。また北海道大学農学部島本義也客員教授は育種遺伝研究部門と協力して作物進化の遺伝学的研究を行った。

#### 研究課題 1: 抗原受容体からの情報伝達と遺伝子発現の調節機構 (渡邊)

免疫異常症を細胞シグナル伝達の異常および遺伝子発現の異常の有無から解明することを試みた。B 細胞上の抗原受容体 (BCR), T 細胞上の抗原受容体 (TCR) を抗原または受容体に対する抗体で刺激すると、速やかにいくつかの細胞内タンパクがチロシン・リン酸化されるが、われわれが単離した HS1 タンパクはそれらチロシン・リン酸化を受けるタンパクのうち、もっとも主要なものの一つであることが示された。チロシン・リン酸化を受けた HS1 タンパクは、表面 IgM 架橋後、その一部が核内へ移行することが示唆された。マウス B 細胞株 WEHI-231 細胞の細胞表面 IgM (抗原受容体) を抗 IgM 抗体で架橋すると、Apoptosis に陥り死滅する。WEHI-231 とその変異株細胞を用いた解析から、HS1 タンパクが細胞表面抗原受容体からのシグナル伝達する分子の一つであり、WEHI-231 細胞では HS1 タンパクの担うシグナルによって、Apoptosis が誘導されることが示された。HS1 遺伝子欠損マウスを相同組み換え法を用いた遺伝子標的法により作成した。HS1 欠損マウスでは、B 細胞および T 細胞のどちらにおいても、抗原受容体を介した Apoptosis の誘導に異常があり、自己反応性リンパ球クローンの自己抗原による除去に部分的に異常を来していることを示した。すなわち、*in vivo* においても HS1 タンパクが抗原受容体からのシグナル伝達に直接関与すること、そのシグナルの一つはリンパ球クローンのプログラム細胞死を誘導するものであることが示唆された。現在、Fas, Bcl2 等との関連について検討している。さらに HS1 タンパクは FcaR の架橋後、IL5R の刺激後にもチロシン・リン酸化を受けることが示された。さらに HS1 分子と会合する新たな核内分子 HAX を単離した。HAX は転写因子である可能性が示された。



## 研究課題 2: 栽培植物と近縁野生種の進化遺伝学的研究 (島本)

1) 日本に分布する野生ダイズ集団の遺伝的構造と生態的分化: ツルマメ (*Glycine soja*) は、栽培ダイズ (*G. soja*) との生殖的隔離障壁がなく、日本列島に広く分布する祖先型野生種である。日本各地 447 地点から収集したツルマメについて、アイソザイムの 17 遺伝子座の対立遺伝子頻度をもとに地域集団の遺伝的構造を検討した。北海道集団は、座位当たりの対立遺伝子数が少なく、多型座率や遺伝子多様度も低く、本州、四国、九州の集団とは様相を異にしていた。栽培ダイズで特異的に高頻度で観察される 3 個の対立遺伝子はツルマメの北海道集団では観察されず、特に対立遺伝子 *Aph-b* はツルマメの生息地が耕地に近接する南方の集団ほど多くなり、地理的勾配が観察された。このことは、栽培種から野生種への遺伝子流動を示唆している。

ツルマメの自然集団ではつる型と分枝型が観察される。分枝型は、不安定な環境である疎生地で多く観察され、バイオマスや種子生産量が多い、死亡率が高く、強い種子休眠を持っている。一方、つる型は、植生の安定な予測可能な環境で優占し、種子の発芽率やその後の生存率が高い。ツルマメの両型は環境の安定性程度の違いがもたらした生態的分化を示している。

2) アマゾン河流域に分布する野生イネ *Oryza glumaepatula* の遺伝的特性: 中南米に分布する野生イネ *Oryza glumaepatula* は、アジアの熱帯に広く分布する野生イネ *O. rufipogon* や栽培イネ *O. sativa* と同じ AA ゲノムをもつ 2 倍体野生種である。アジアの野生イネは、野生草本植物の特徴である強い種子休眠性を備えているが、アマゾン流域から収集した野生イネは登熟直後においても発芽能力を示した。またアジアの深水環境に適応している野生イネ同様、強い浮イネ性を持ち、河の増水に応じて急速に節間伸長するが、節が折れやすく根から離れた植物体が水上で浮かびながら出穂開花を続けるという特徴的な生活史を持つ。多数の採集系統を用いて各種形質・アイソザイムの変異を解析し、その生活史特性と集団の遺伝的構造をアマゾン河という特異的な環境に対する適応戦略としての立場から考察した (育種遺伝研究部門の研究の概要 (4) を参照)。

## F. 遺伝実験生物保存研究センター

当センターは、哺乳動物保存・無脊椎動物保存・植物保存・微生物保存・遺伝資源・発生工学の 6 研究室から構成されている。人事面では、哺乳動物保存研究室の宮下信泉助手が、10 月に香川医科大学助教授として転出した。

### F-a. 哺乳動物保存研究室

哺乳動物保存研究室では、野生集団を含む様々な遺伝子資源から生物機能に関する特色あるマウス遺伝子を導入して新しい実験系を開発し独自の研究を展開した。中心的課題としては、減数分裂期相同染色体間組換え機構、自然突然変異の生成機構、遺伝的に優性な発がん抵抗性遺伝子の研究が挙げられる。これらの研究では、いずれも野生マウス由来の遺伝子の特性が有効に利用された。また、平成 3 年度から細胞遺伝研究部門において開始

されたマウスゲノム解析研究は、今年度から本研究室に活動の場を移し、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」の援助を受けて本年度も継続して進められた。この研究では、形態形成、特に骨形成に異常を示す突然変異的を絞り、ポジショナルクローニングによって原因遺伝子を単離するための基礎的研究が進められた。

昨年に引き続き総合大学院大学遺伝学専攻としての教育・研究活動も進められ、水野健一、柗屋浩志の2名が大学院に在学し、川島剛が研究生として研究に参加した。

本研究室の共同研究には、本年度は若菜茂晴（実中研）、前田正人（三島社会保険病院）の2名が、また、吉野正康（東京大学大学院）、嵯峨井知子、浜田俊（沼津学園）が外部から研究に参加した。

本研究室の海外における研究活動は次の通りである。

城石助教教授は、6月30日から7月3日までケンブリッジ大学 Wellcome/CRC 研究所を訪問した後、7月4日から7月9日までエジンバラ市で開催された第9回国際マウス分子遺伝学ワークショップに参加して「マウス染色体組換え機構」に関する発表を行った。また、11月6日から11月10日の間、ロンドン市で開催された第8回国際マウスゲノムカンファレンスに参加して「マウス MHC 領域における組換え点の分布」についての研究発表を行った。また、城石助教教授は、今年度から HUGO Mouse Genome Committee のメンバーに選出されたためロンドン市内で同時に開催されたこの委員会の年次会合に参加し討議した。

マウス系統の保存事業としては、「系統保存費」及びがん重点研究「実験動物委員会」（山村研一委員長）の援助を受けた。平成6年12月現在、75系統のマウスを当センターのネズミ付属棟において SPF の状態で維持・保存している。これらの系統については、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の維持と開発事業費」により、薩川美代子氏が日本クレア株式会社から派遣され、主にマウス受精卵の凍結保存を担当した。現在、合計188系統、20,364個の2細胞胚が凍結保存によって維持されている。この内、昨年度は、55系統、3,855個の凍結保存を行った。上記の系統の供与によって所内の研究支援を行うと共に、国内・国外の大学・研究機関からの系統分与の依頼に対応した。また、昨年度は、当センターが維持しているマウス系統に関する情報をデータベース化し、本研究所・生命情報研究センターの DDBJ 内の Gopher サーバに設置してインターネットを介してオンラインでアクセス出来るようにした。

#### (1) マウス亜種の遺伝的分化

a) プロテアソームのサブユニット LMP2 のマウス亜種における遺伝的分化（水野・嵯峨井・城石）：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なる蛋白複合体、プロテアソームである。ヒトやマウスでは、プロテアソームのサブユニットの一つとして *Lmp2* 遺伝子が知られている。マウス

では、この遺伝子は MHC クラス II 領域内の相長的組換えの高発部位 (*Lmp2* ホットスポット) のテロメア側近傍に位置している。我々のこれまでの研究結果から、*Lmp2* ホットスポットは *Lmp2* 遺伝子の 3' 側に位置し、この遺伝子のポリ A シグナルは、*Lmp2* ホットスポットから約 2 kb 離れたところに存在することがわかっている。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繁に起こっていて、正の自然淘汰が働いていることが知られている。*Lmp2* 遺伝子については、実験用近交系マウスを用いた解析でアミノ酸レベルの多型を示す 3 種類の対立遺伝子が存在することが既に他の研究室により報告されている。そこで、MHC クラス I, II 遺伝子と同様にこの遺伝子に正の自然淘汰が働いているかどうかを野生マウスの *Lmp2* 遺伝子の塩基配列を解析して検討した。15 種の野生マウス系統の脾臓より RNA を抽出し、RT-PCR 法を用いて *Lmp2* 遺伝子をクローニングし、その後 *Lmp2* 遺伝子の塩基配列を決定した。塩基配列から推定されるアミノ酸配列を比較したところ、イラン産の野生マウス (*M. m. bactrianus*) は実験用近交系ではみられない第 4 のアミノ酸置換を持った対立遺伝子を持つこと、その他のマウス系統では別種である *Mus spretus* を含めて実験用近交系マウスに存在する 3 種類の対立遺伝子のどれかと同一なアミノ酸配列を示すことがわかった。また、各系統の塩基配列を比較して解析した結果は、すべての遺伝子領域において同義置換の割合が非同義置換よりも高くなっていた。従って、*Lmp2* 遺伝子では MHC クラス I, II 遺伝子と異なり多型維持の機構として正の自然淘汰は働いていないと考えられる。

## (2) 肺腫瘍発生の遺伝的制御

a) マウス肺腫瘍発生に関与する遺伝子群を同定するための新系統の育成 (宮下・薩川・三田・城石・森脇): 各種の腫瘍発生に主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) が関与していることが知られている。マウスの場合、ウイルス性腫瘍では、一般的に腫瘍特異抗原と class I および II 遺伝子が対となって免疫遺伝学的に認識されるため、抗腫瘍免疫監視機構が発動される。しかしながら、ウイルスが関与していない自然発生腫瘍および化学発がんにおいては、これらの遺伝子群の関与および生物学的機能に関してはわかっていない。

*H-2* コンジュニックマウスを使用した肺腫瘍発生実験においては、class II 遺伝子の *Eb* 遺伝子および *Ea* 遺伝子の遺伝子型と腫瘍発生頻度に相関関係が観察された。これらの遺伝子の遺伝子産物は、細胞膜表面に heterodimer を形成し、主として helper T および suppressor T 細胞による抗原認識に関与していることが知られている。これらの遺伝子の肺腫瘍発生に対する生物学的機能を解明するために、*Ea* 遺伝子の一部が欠損しているために細胞膜表面に E 分子を発現していない、新しいコンジュニック系統を育成した。この系統は肺腫瘍高発系統である A/WySnJ 系統を遺伝的背景とし、*H-2h4* ハプロタイプ (*Eb<sup>b</sup>* 遺伝子および *Ea<sup>b</sup>* 遺伝子) を保持しているので、A.B(4R)/Ms と命名した。現在この系統を用いて化学発がんに対し class II 遺伝子の遺伝子産物が関与しているかどうかを検証するために、肺腫瘍発生実験を開始している。

## (3) マウス減数分裂期遺伝的組換え機構

a) マウス組換え高発部位に関する遺伝学的研究 (吉野・豊田\*・城石): 減数分裂における組換えの機構の解明は、遺伝学における最も基本的な研究課題の一つである。マウスの主要組織適合抗原複合体 (MHC) 領域に位置する組換えの高頻度部位 (組換えのホットスポット) に着目し、その遺伝学的解析を行った。1.2Mb (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 コンジュニ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。即ち、標準実験用マウスの MHC ハプロタイプ (*b, d, k, s*) の間のヘテロ接合では、K-Ab 遺伝子座間での組換え頻度は 0.02% と極めて低いのに対して、この標準実験用マウス MHC とアジア産野生マウス由来の MHC ハプロタイプ *um7, cas3, cas4* とのヘテロ接合では、K-Ab 間での組換えが夫々 2.1%, 0.6%, 1.5% と高い頻度で観察される。したがって、これらのアジア産野生マウス由来の MHC ハプロタイプには K-Ab 間での組換えを促進する因子が存在し、しかもその促進因子は遺伝的に優性に働くことと結論できる。さらに K-Ab 間での組換え体の切断点を詳細に解析した結果、*um7* と *cas3* では *Lmp2* 遺伝子近傍に位置する 1~4 kb の DNA 断片に (*Lmp2* ホットスポット)、*cas4* はこれより 100 kb セントロメア側にある *Pb* 遺伝子近傍の約 40 kb の DNA 断片に (*Pb* ホットスポット) に限定し組換えが観察された。まず最初に、このような野生マウス由来 MHC 間でのヘテロ接合を用い、組換え促進因子の遺伝子量が組換えの頻度や部位に及ぼす効果を調べた。相同染色体の同一部位にホットスポットを持つ *um7* と *cas3* の間でのヘテロ接合において、総計 2970 頭の戻し交配から 35 個体の K-D 間組換え体を得 (1.2%)、21 個体の K-Ab 間組換え体を得た (0.7%)。つまり、頻度に対する *um7/cas3* の 2 遺伝子量による相加的效果は認められなかった。K-Ab 間組換え体の切断点を解析したところ、切断点は *Lmp2* ホットスポットに限られ、組換えの部位特異性は保存されていた。相同染色体の異なった部位にホットスポットを持つ *um7* と *cas4* の間でのヘテロ接合において、総計 600 頭の戻し交配から 15 個体の K-D 間組換え体を得 (2.5%)、8 個体の K-Ab 間組換え体を得た (1.3%)。この結果から、*um7/cas4* での 2 遺伝子量による頻度に対する相加的效果は認められなかった。K-Ab 間組換え体の切断点を解析した結果、切断点は *Pb* ホットスポット

---

\* 東京大学医科学研究所獣医学研究部

と *Lmp2* ホットスポットの2つの領域に分配され、*wm7* と *cas4* の交配では2つのホットスポットの両方に組換え活性があることが明らかになった。これらのことから、まず、第一に、高頻度部位特異的組換えの促進因子は、遺伝的に優勢に働くという結論を導き出した。また、*wm7* ハプロタイプはヘテロ接合の相手の MHC ハプロタイプにより *Lmp2* ホットスポットでの組換え率が異なること、ならびに、クラス II E $\alpha$  遺伝子からクラス III 補体領域での高頻度組換えを見出した。詳細は *Immunogenetics* 39: 381-389 (1994) に発表した。

*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 を用いると、*Lmp2* 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。次に、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。1) MHC に関しては B10 系統と血清学的に同じハプロタイプを持つが、バックグラウンドが B10 と遺伝的距離が大きい 129 系統を用いた場合。2) B10 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) 東南アジアの野生マウスに特徴的な MHC ハプロタイプを持つ B10.M, B10.TEN1 を交配の相手とした場合。この結果、1) 129 系統との交配では、B10, B10.A 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 と同様にほとんどが *Lmp2* 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 *Lmp2* ホットスポットでの組換えを促進すると結論できる。2) B10.D2 系統との交配では、B10, B10.A 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、B10, B10.A でみられた *Lmp2* ホットスポットにマップされた。3) B10.M, B10.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, 129, B10.D2, B10.M, B10.TEN1 ならびに B10.CAS4 の *Lmp2* 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, 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 57 bp 反復配列の数は一致しない B10.D2 と B10.CAS4 では 0.3% と低くなり、ともに *wm7* と一致しない B10.M, B10.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。以上のように、第二に、*wm7* ハプロタイプを用いた交配であってもヘテロ接合となる相手によっては、*Lmp2* ホットスポットでの組換え頻度が低いハプロタイプ (*d*) があることや、*Lmp2* ホットスポットでの組換えを示さないもの (*f*) があることを示し、組換え率は *wm7* の交配相手に依存することを明らかにし、ホットスポットでの組換え率は交配に用いた親系統の *Lmp2* ホットスポット間の塩基配列の相同性の程度に依存していることを明らかにした。さらに、挿入や欠失はホットスポットにおける組換えを阻害するが、点突然変異は組換えを阻害しないことを示唆した。詳細は *Genomics* (in press) に発表した。

前述したように、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、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 という免疫反応において重要な役割を果たす多型的な遺伝子からなる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を解析した。マウス乳ガンの形成に関与する *Int3* 遺伝子、細胞間マトリクスの 1 つである *TenascinX* 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。主にアジア産野生マウス由来の MHC と標準的な実験用マウスが持つ MHC の間でのクラス III 内組換え体 79 個体について、前述の遺伝子の DNA プローブを用いて組換え部位の分布を解析したところ、40 系統の組換え切断点がクラス III 近位端の *Int3* と *Tnx* 遺伝子の間、または、そこで重複する領域にマップされた。標準的な実験用マウスのみを用いた場合には、クラス III 近位での組換えは希であることが報告されているので、この結果は、クラス III 近位にはアジア産野生マウスに固有にみられるホットスポットが存在することを示唆しており、MHC クラス III 領域での組換えも交配に用いた MHC ハプロタイプに依存して不均等に起こることを示している。このように、第三に、免疫反応とは無関係の非多型的な遺伝子からなる領域にも組換えのホットスポットが存在することを示し、組換えのホットスポットが染色体上で普遍的な現象である可能性を示唆した。詳細は *Immunogenetics* 40: 280-286 (1994) に発表した。

b) マウス減数分裂期における相同的組換え高発部位のクロマチン構造の解析 II (水野・嵯峨井・城石): 減数分裂期に起こる組換えは染色体上において一様に起こるのではなく、ある特定の部位に集中して起こることが知られている。マウス主要組織適合抗原複合体 (MHC) のクラス II 領域には、減数分裂期の組換え高発部位 (ホットスポット) が 4 つ存在する。これら以外の領域では、ほとんど組換えを起こさない。我々は、*Pb-Ob* 遺伝子間 (約 150 kb) にあるホットスポットの高次構造の解析を行っている。このホットスポットの組換え部位は約 2kb の非常に狭い範囲に限定されることがわかっている。しかし、この組換え部位の部位特異性を決定している分子メカニズムは、未だに不明である。ホットスポットの組換え頻度は、その近傍の遺伝子の転写活性が上がることと関係があるという報告が多数ある。*Lmp2* ホットスポットは *Lmp2* 遺伝子の近くに存在するので、*Lmp2* 遺伝子の発現と *Lmp2* ホットスポットでの組換えに関連性があるかどうかを調べた。その結果、*Lmp2* 遺伝子は脾臓では発現していたが、組換えが起こっている精巣では検出することができなかった。また、組換えを起こす系統と起こさない系統における *Lmp2* 遺伝子の発現を調べてみたが系統差がなかった。従って、*Lmp2* 遺伝子の発現が直接的に *Lmp2* ホットスポットでの組換えに関与していないことがわかった。

酵母は真核生物の組換えの部位特異性についてもっとも詳しく調べられている系である。酵母のホットスポットには DNase I 高感受性部位が集中して存在し、組換えが起こりにくい領域では DNase I 高感受性部位が存在しない。また、ホットスポットの DNase I に対する高感受性は、構成的であり体細胞分裂の時から減数分裂まで維持されている。DNase I に対して感受性であるということは、クロマチン構造がゆるんでいて DNA が露出していることを意味する。酵母ではクロマチン構造によって体細胞分裂の時から組換えが起こる部位が決定されていると考えられている。そこで、マウスにおいてもホットスポットとクロマチン構造に何らかの相関関係が存在するかどうかを検討してみた。Lmp2 ホットスポットで組換えを起こす系統と起こさない系統を用いて解析を行った。その結果、体細胞における Lmp2 ホットスポット内に DNase I 高感受性部位が検出された。一方、組換えが起こっている減数分裂前期細胞では Lmp2 ホットスポットよりセントロメア側にいくつかの強い DNase I 高感受性部位が検出されたにもかかわらず、ホットスポット内に DNase I 高感受性部位は検出されなかった。

次に、Lmp2 ホットスポットでの組換えを起こす系統と起こさない系統の DNase I 高感受性部位のパターンを比較したところ、有意な差は見いだされなかった。これらのデータは、DNase I をプローブとしたクロマチンの高次構造が Lmp2 ホットスポットで組換えを起こすことと直接的に関係していないことを示唆している。これらの解析結果と酵母の結果は大きく違っており、単細胞生物である酵母と多細胞生物である哺乳類とでは減数分裂期における組換え機構が異なっていることが示唆された。

#### (4) マウス形態形成の遺伝的解析

a) マウス中軸骨格異常突然変異 *Tail-short* (*Ts*) の遺伝解析 II (城石・三田・内田・吉川\*・米川\*・P. Koopman\*\*・R. Balling\*\*\*): *Tail-short* (*Ts*) は、すでに 50 年以上も前に発見された骨格形成異常を示す優性突然変異であり、第 11 染色体の末端側にマップされる。*Ts* のヘテロ個体は、短尾・曲尾をはじめ肋骨など全身の骨格形成に異常を示す。また、ホモ個体は、桑実胚期に異常な形態を示しはじめ包胚期で発生を停止することが報告されている。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 (17q22-24) に *Ts* と類似した遺伝病である *Campomelic Dysplasia* (*CMPDI*) がマップされている。この遺伝病は、約 3 分の 2 の患者に性転換 (46XY-女性) が観察されている。昨年になり Y-染色体上にある性決定遺伝子の *Sry* と相同性を持つ *Sox9* 遺伝子がこの *CMPDI* の原因遺伝子であることを示す報告が相次いでなされた。*Sox9* の発現様式をみるとマウス発生過程において軟骨形成の起こる部位で軟骨形成に先だって観察される。従って、マウスの *Ts* 突然変異も *Sox9* が原因遺伝子である可能性が予測された。この点を連鎖解析によって検討した。このため、*Ts* をヘテロに持つ TSJ-*Ts*/+ 系統と日本産野生マウス由来の MSM 系統の F1 に C57BL/6J 系統を交配して、*Ts* の表現型と *Sox9* の遺伝的

\* 東京都臨床医学総合研究所実験動物研究室

\*\* Centre for Molecular Biology and Biotechnology, The University of Queensland

\*\*\* Institut für Säugetiergenetik, GSF-Forschungszentrum

連鎖を解析した。Sox9 の遺伝子型は、Sox9 の cDNA をプローブとしたサザン解析によって RFLP をマーカーとして検定した。以上の実験の結果、Sox9 と Ts 間で組換え体が見られ両者が遺伝的に分離できることが明らかとなった。Sox9 は、組換え率にして 5% の距離でセントロメア側に位置することがわかった。従って、表現型の類似性にも関わらず Ts は、ヒトの *CMPD1* に対応する突然変異ではないと結論された。現在、上記の交配実験に基づく詳細な Ts 遺伝子座近傍の遺伝子地図を作成している。また、Ts と組換えを示さない 2, 3 のマイクロサテライトマーカーを発見し、これらのマーカーを使った YAC ライブラリーのスクリーニングを行い合計 7 種類のポジティブクローンを得ている。これらのクローンのコンティグづくりが進行中である。

b) マウス肢芽形態形成の遺伝学的解析 (樹屋・嵯峨井・森脇・城石): 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である AER (外胚葉頂提)、ZPA (極性化領域) からのシグナルを、領域特異的な位置値として変換し、それによって骨格の形態形成が起こるためだと考えられている。現在では AER からのシグナル分子として FGF-4, FGF-2 (Fibroblast growth factor-4, 2) が作用することが明らかになっており、ZPA の活性の本体であると考えられる *Shh* (*Sonic hedgehog*) 遺伝子がクローニングされている。FGF-4 と SHH は相互にその発現を活性化し、両方のシグナルの存在下で、*Hoxd* 遺伝子群、*Bmp-2* 遺伝子が前後軸に沿って領域特異的に発現する。ZPA は肢芽後端部に位置するが、肢芽前端部の細胞もレチノイン酸処理、microdissociation 法による細胞の解離、AER の除去により ZPA 活性を持つようになる。このように ZPA を肢芽後端部に位置させるような、または、肢芽前端部の細胞を ZPA 活性を持つように変換するメカニズムについては未だ知見が少ない。

一方、四足脊椎動物での遺伝的な肢の形態形成異常において主要なグループを成すもののひとつに軸前側多指症 (母指側過剰指) がある。ヒトにおいては、軸前側多指症は第一指の重複をおこすものから、母指骨数過多を示し、脛骨など肢の前側の奇形を伴うものまでいくつかのクラスに分類されている。後者の中には肢前後軸に関する異常であると考えられるものもあるが、このような多指症をおこすメカニズムについても知見は少ない。

*Rim4* (*Recombination Induced Mutant 4*) 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、国立遺伝学研究所において発見された。この突然変異マウスは、肢前側の奇形、すなわち軸前側多指症を示す。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、その位置が既知の多指症の突然変異とは一致しないことがわかっている。今回の解析では、連鎖解析により *Rim4* 遺伝子型をおおまかに決定することにより、*Rim4* が、ヘテロ個体では後肢の母指骨数過多を伴う軸前側多指症を、ホモ個体では前後肢での母指骨数過多を伴う軸前側多指症と脛骨の形成不全を発症することがわかった。特にホモ個体では、足根骨が過剰指が形成される面に対して鏡像対象な形態を示していた。また、*Rim4* の胎仔について発生段階を追って同様な解析を行った結果、*Rim4* マウスの多指症は軟骨の凝集が起こる以前の肢芽前端部の異常な発育に起因していること



がわかった。さらに、*Rim4* マウスで分子レベルでも鏡像対象の重複が起こっているかどうかを確かめる目的で、*Rim4* の胎仔について、肢芽の後ろ側に発現している *Fgf-4*, *Shh*, *hoxd-11* をプローブとして、whole-mount *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。その結果、12.5 日胚の肢芽の前端部に *Fgf-4*, *Shh*, *hoxd-11* の異所的な発現が認められた。これらの結果は、*Rim4* の多指症が ZPA の重複によって生じる鏡像対象の重複肢であることを示しており、野生型の *Rim4* 遺伝子が肢芽前端部の細胞を ZPA 活性を持たないように制御している可能性を示唆している。今後は *Fgf-4*, *Shh*, の異所的発現の時期を詳細に特定し、*Rim4* マウスでの ZPA の重複のメカニズムについて検討を行う。

また、マウスでは軸前側多指症と脛骨の形成不全を発症する突然変異が多数記載されている。今回我々はそれらのうち、*Hx* (*Hemimelic extra toe*), *Xt* (*Extra-toe*), *Xpl* (*X-linked polydactyly*), *lx* (*luxate*) (それぞれ第 5, 13, X, 5 染色体上にマップされている) についても *Fgf-4*, *Shh* をプローブとした、whole-mount *in situ* hybridization を行った。その結果、いずれの胎仔についても肢芽前端部において *Fgf-4*, *Shh* が発現している個体が観察された。従って、これらの多指症マウスでも ZPA の重複が起こっていることがわかった。このことは肢芽前端部の細胞の ZPA 細胞への変換に多くの遺伝子が関わっていることを示している。特に *Xt* は、*Gli-3* 遺伝子の欠失による機能欠損型の突然変異であることが明らかになっているので、肢芽前端部の細胞での ZPA 活性を抑制する遺伝的カスケードの存在が示唆される。また、これらの ZPA の重複がおこっている突然変異の表現型はホモ、ヘテロによって、また同じ遺伝子型でも様々であり、殆どのタイプの軸前側多指症が ZPA の重複によって説明できることを示している。

また、*Rim4* は遺伝的な背景により、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、N/ZB > B10 = CBA > DBA > C3H > BALB/c > MSM の順に低くなることがわかっている。この結果は、*Rim4* の表現型が他の遺伝子によって修飾されていることを示している。今後さらに、C57BL/10J-*Rim4* 系統と、N/ZB, 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指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予定である。

#### (5) マウスゲノム解析

a) NOD マウスにおける糖尿病感受性遺伝子に関する研究 II\* (若菜\*\*・片貝\*\*・森脇・城石): ヒト遺伝性疾患の多くは多因子疾患であり、家系分析に基づいた原因遺伝子の同定は、その発症に多くの要因が複雑に絡み困難である。その点、疾患モデルマウスを用いた解析では、計画的な交配実験により個々の遺伝的要因を同定することが可能である。

I 型糖尿病のモデルマウスである NOD においては、Todd (1991, 1993) や Leiter (1994) らにより *Idd-1* から *Idd-14* までの糖尿病感受性遺伝子がマウスのゲノム上にマップされている。このうち、*Idd-4* は NOD と B10.H-2<sup>m7</sup> の交配実験により、マウス第 11 染

\* 共同研究費による

\*\* 実験動物中央研究所

染色体上の *Acrb-Mpo* 間にマップされ、*Idd-3* は、第3染色体上の *Il2-Tsbh* にマップされている (Todd 1991)。我々はこれらの糖尿病感受性遺伝子の詳細なマッピングを行うため、NOD と遺伝的多型性の顕著な野生マウス由来の MSM 系統を用いて NOD.*Idd-4*-MSM および NOD.*Idd-3*-MSM コンジュニック系統を作製した (現在 N12)。ところが、このコンジュニックマウスの内 NOD.*Idd-4*-MSM は、糖尿および発症率を調べても NOD と有意な差は見られなかったが、コンジュニック系統 NOD.*Idd-3*-MSM は insulinitis の発症が抑制されていた。そこでこれら2つのコンジュニック系統 NOD.*Idd-4*-MSM と NOD.*Idd-3*-MSM を交配し、ダブルコンジュニック系統を作製して糖尿及び Insulinitis の程度を調べた。その結果、ダブルコンジュニックマウスにおいてはすべての個体において insulinitis が発症し、その程度も NOD.*Idd-3*-MSM に比較して烈しかった。これらの結果から、*Idd-4* の MSM の allele は *Idd-3* の MSM allele と協調して存在すると、NOD の *Idd-4* allele よりも insulinitis の発症を促進する効果をもつことが推察された。この実験により糖尿病感受性遺伝子の中には、NOD よりも他系統の中に糖尿病を促進する効果をもつものがあることが明らかになった。

b) MHC 領域内組換え体由来する *rim2* 毛色突然変異の遺伝学的解析 (嵯峨井・森脇・城石): *rim2* は H-2 *um7* ハプロタイプの H-2 内組換え体に複数生じた自然突然変異 (RIM) の一つで、劣性の毛色変異である。親系統の B10.A(R209) に比べ全身の毛、尾、耳などの色が薄く、経時的に毛の色素を消失する。また眼については生後数日間は網膜色素上皮細胞の色素が薄く野生型より識別でき、先天的な白内障、小眼球、眼球の欠失などが有意な頻度で観察される。これらの遺伝的変異を分子レベルで解析する目的と RIM 突然変異の生成機構を知る目的で変異遺伝子の解析を行っている。*rim2* マウスと野生マウス由来の近交系 MSM との戻し交配から得た子孫についてマイクロサテライトマーカーを用いたマッピングを行った結果、*rim2* 突然変異遺伝子は第13染色体上の約0.5 cm の距離にある二つのマーカーの間に位置することがわかった。第13染色体のこの付近にはすでに *pe* (pearl) 突然変異が報告されている (O'Brien *et al.*, 1995, Mammalian Genome 6: 19-24)。*rim2* と *pearl* は表現型も極めて類似しており、両突然変異の相補性試験により、これらは互いに対立遺伝子の関係にあることがわかった。*pearl* を含む多くの毛色突然変異体は、albinism を伴う出血素因を示すヒトの血小板の storage pool disease (SPD) と類似した異常を示すことが知られている。これらの中でヒトの Hermansky-Pudlak Syndrome (HPS) は、メラノソーム、リソソーム、platelet dense granule の異常に帰因する症候群で、多くの毛色変異マウスが SPD のモデル動物となる可能性が示唆されている。また *pearl* については夜盲症に関係する視覚系の異常も報告されており、*rim2* についてもこれらの遺伝的欠陥が生じている可能性が高い。これまでに *rim2* マウスと MSM との戻し交配から得た 1280 匹についてマッピングを行ない変異遺伝子と組換えを起こさない複数のマーカーを得た。また、変異遺伝子のポジショナルクローニングを行なう目的で近接マーカーによる YAC ライブラリーのスクリーニングを行ない複数の YAC クローンを得ている。

b) *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・森脇・城石): *Rim3* は, RIM 系統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 type I 遺伝子 (*Krt-1*) が, この *D11Mit14* の近傍に位置することがわかった. この情報を基に YAC のスクリーニングし, Type-I ケラチン遺伝子に存在する 2 つのマイクロサテライトマーカーを挟む PCR によって 1 種類の陽性クローンを得た.

c) MHC 領域内組換え体由来のマウス毛色変異 (*Rim5*) の分子機構の解析 II (前田\*\*・嵯峨井・森脇・城石): 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'* (*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'* と共に第一イントロンに約 10 Kb の欠失が認められた. また, MHC 内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, *Agouti* 遺伝子の第一エクソンを含む対照の C57BL/10J マウスの *BamH1* 消化遺伝子断片と, *Rim5* 変異マウスの約 10 Kb の欠失した 10 Kb の遺伝子断片をショ糖密度勾配遠心により分画しラムダファージで遺伝子ライブラリーを作製しクローニングを行った. *Rim5* にみられた欠失が *a'* と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.

## F-b. 脊椎動物保存研究室

本研究室では空席であった助教授に遺伝情報研究センターより林茂生が配置換となり, 上田均助手は形質遺伝研究部門に配置換となった. 林助教授, 原田技官及び研究補佐員鈴木恵子によってショウジョウバエの系統の整備と保存, 配布が行なわれた. またこの 3 人に加えて総合研究大学院大学学生布施直之, 特別研究学生八木克将, 志賀靖弘が参加してショウジョウバエの発生遺伝学的研究を行なった. これらの研究は文部省重点領域研究 (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」, 「ショウジョウバエの器官形成の遺伝的制御」, 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」, 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」の支援を受けた. 林は平成 5 年 6 月 19 日から 7 月 5 日にかけてヨーロッパに出張し, EMBO ワーク

\* 実験動物中央研究所

\*\* 三島社会保険病院

ショップ「ショウジョウバエの分子発生物学」において発表し、その後ドイツ、ケルン大学、イギリス、ランカスター大学、MRC 研究所においてセミナーを行なった。

(1) ショウジョウバエ形態形成の研究

a) escargot 遺伝子の機能解析 (布施・広瀬・林)

ショウジョウバエ幼虫の体細胞は細胞分裂を伴わない DNA 合成 (endoreplication) によって成長する。一方変態後に成虫構造をつくる成虫細胞は細胞分裂を行ない 2 倍体の DNA 含量を保つ。私達は escargot (esg) 遺伝子が成虫細胞で発現し、endoreplication を阻害する事で 2 倍体を保つために必須な転写調節因子である事を明らかにしている (Fuse, N. *et al.*, 1994, Genes Dev. 8: 2270-2281)。今年度は esg の転写調節機能と細胞周期の制御機構との関係と、それらが細胞の発生運命制御とどのようにつながるかを検討した。

前年度は培養細胞において、esg 蛋白が GCACCTGT/C のコンセンサス配列 (E2 ボックス) に結合し、bHLH タイプの転写因子 Da と Sc による転写活性化を競争的に阻害する事を示した。同様の転写抑制が生体内でも起るかを成虫の感覚毛形成をアッセイ系として調べた。翅成虫原基では Ac と Sc 遺伝子が数細胞から成るグループ (proneural cluster) で発現し、Ac/Sc と Da の転写活性化能に依存して単一の細胞に限定されるようになる。この細胞が感覚母細胞として感覚毛に分化する。esg 蛋白を Da/Sc の発現領域で強制的に発現させると、esg の発現量依存的に剛毛形成が阻害された。また DNA 結合ドメインの変異蛋白を同様に発現させると DNA 結合能の程度に応じた感覚毛形成阻害が見られた。*in vitro* の結果と考え合わせると生体内でも esg は bHLH 蛋白の活性を競争的に阻害するものと考えられた。同様の機構により成虫細胞の 2 倍体が維持される事が予想される。

体細胞分裂においては M 期が S 期通過に、また S 期が M 期通過に依存する 2 つの制御機構により 2 倍体が保たれている。幼虫細胞では S 期の M 期依存性が失われ、多倍体化する。機能欠損により同様の表現型を引き起す esg は、S 期の M 期依存性を制御すると考える事ができる。Dmcdc2 は M 期の進行に必須なカイネースをコードするが endoreplication には必要とされない。Dmcdc2 の変異体の表現型を幼虫で調べてみると、すでに報告されている通り成虫細胞の増殖が阻害されていた。加えて増殖を停止した細胞は核が巨大化しており、多倍体化していると考えられた。よって Dmcdc2 は M 期の進行だけではなく、G2 期において S 期の開始を阻害している事が明かとなった。細胞周期の制御因子である Dmcdc2 の変異体が esg と同じ表現型を示した事は、esg が cdc2 の活性を制御している可能性を強く示している。

esg 変異体では腹部ヒストプラストが多倍体化する。この細胞が変態を通してどのようにふるまうかを追跡した所、周囲の幼虫細胞と同様に成虫型のクチクラを分泌している事がわかった。また別の変異体では幼虫において成虫原基の細胞の一部が多倍体化しており、これらの細胞はクチクラ様の物質を分泌していた。通常クチクラの分泌は幼虫細胞に限られている。これらの結果は esg 変異により成虫細胞が幼虫細胞の性質を持つように形

質転換したと考えられる。

今年度の研究により *cdc2* が分裂停止細胞において S 期の進行を阻害する機能を持つ事が新たに明らかとなった。 *esg* は転写レベルでこの活性を維持する事で endoreplication を阻害していると考えられる事が可能である。 *cdc2* は細胞周期を通じて定常的なレベルで存在しているが、その活性と細胞内の局在は調節サブユニットであるサイクリンによって刻々と変化する。加えて *cdc2* の活性を制御するカイネースや脱リン酸化酵素、更には阻害的に働く調節サブユニットの存在も知られている。これらの因子の多くは細胞周期を通じて合成、分解を繰り返す、転写レベルの調節を受けている。転写因子である *esg* が作用するのはこういった *cdc2* の制御因子である可能性が高い。

b) *escargot* 遺伝子の発現調節 (八木・林)

*esg* は胚、幼虫の成虫細胞、気管系及び精巣上に発現し、また胚において神経系形成の初期に強く発現する。器官の形成、保持に重要な役割を担っている *esg* の発現調節はより以前に発現している分節遺伝子や、ホメオティック遺伝子の調節を受けている可能性が高い。 *esg* の発現調節機構を明らかにして、より上位の制御因子の関わり方を明確に理解するため、 *esg* のエンハンサーのマッピングを行なった。これまでの分子遺伝的解析により *esg* の発現調節領域は遺伝子の上流約 60 kb の領域に存在する事がわかっている。 *esg* 上流の DNA 断片のエンハンサー活性をバクテリアの *lacZ* 遺伝子をレポーターとして、P 因子形質転換法により解析した。これまでに転写開始点より 3.5 kb 以内に精巣特異的エンハンサーを、更に上流に胚の神経系、腸管系の成虫細胞、気管系の先端細胞のエンハンサーを各々同定した。従って *esg* の複雑な発現は個々の組織特異的なエンハンサーの独立した作用の総和として理解する事ができる。また同定されたエンハンサーは特定組織において遺伝子発現を操作する手段として有用である。

c) ショウジョウバエ生細胞のマーカー系統の開発 (志賀・林)

ショウジョウバエ胚、幼虫の特定の細胞を生きたまま標識できれば形態形成運動の観察と実験的操作を行なう上で大きな助けとなる事が期待される。クラゲの発光タンパク green fluorescence protein (GFP) は青色光の励起により緑色蛍光を発する。GFP はすでに線虫、ショウジョウバエ卵巣で遺伝子発現のレポーターとして利用された実績がある。しかし一般的なレポーターとしての有効性が確認されるには至っていなかった。我々は遺伝情報センター石原健氏の助力を得て改変型 GFP 融合遺伝子 GFPN *lacZ* を作製した。GFPN *lacZ* を Gal4-UAS システムを利用して様々な組織で発現されると GFPN にくらべてより強い蛍光が得られ、これまでは不可能であった胚における発現も確認した。よって GFPN CAT はより一般的な生体マーカー遺伝子として利用可能な事がわかった。

d) ショウジョウバエ *argos* 遺伝子による複眼及び翅脈形成の制御 (林)

当研究は東京大学医科学研究所、岡野栄之氏らのグループと九州大学理学部谷村貞一氏らと共に進めた。 *argos* (*ago*; *strawberry* より改名) 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と考えられている。熱ショックプロモーターより誘導された *ago* 遺伝子は *ago* 変異に由来する複眼、中枢神経系の異常を救済した。更に発

現レベルを上げると野性型の個体で複眼の光受容細胞, cone 細胞の減少及び羽の翅脈の消失が見られた。この結果は ago が細胞分化の阻害因子であるという考えを支持する。

### 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)、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)”「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。

系統保存事業では、大腸菌の変異株リスト「大腸菌遺伝系統 1994年」を出版し、640ヶ所に配布した。

(1) 大腸菌の細胞分裂の時期決定機構(西村・鶴飼): 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(*cfcA1*, *cfcB1*)の解析を行った。*cfcA1|glsS*及び*cfcB1|apaH*変異株の解析から、a)正常に増殖する細胞には、Ap<sub>4</sub>Aを介してDNA複製と細胞分裂を共役させる機構がある事、b)Ap<sub>4</sub>Aによる過剰分裂は*apaG::kan*変異遺伝子の導入により更に強調される事、c)分裂停止と分裂開始のスイッチはAp<sub>4</sub>Aのレベルの変動で行われているらしい事、d)Ap<sub>4</sub>Aの変動により細胞分裂と共に鞭毛レギュロンの作動の切り替えが同調して起こる事が解った。真核細胞では細胞周期に依存してAp<sub>4</sub>Aの細胞内レベルが変動する事が知られているが、その作用機構は不明であった。またAp<sub>4</sub>A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*での合成様式は全く明らかにされていない。

(2) 細胞分裂と細胞増殖を共役させる遺伝子(鈴木・鶴飼・西村): 普通、細胞分裂が停止すると細胞増殖が停止し死滅する。これは、“細胞の狭窄そのものが細胞の生存にとって重要”なのではなくて、“細胞分裂と細胞の成長を共役させる機構が存在する”為であることを明らかにした。複製終結領域にマップされる遺伝子*sunU*を担うプラスミドは、*ftsE*、及び*ftsU349*, *cpcA58*変異株の、41°Cでのコロニー形成能の欠損を相補した。しかし41°Cで液体培養した細胞は、分裂は回復せず停止したままで、細胞の増殖のみ回復し、より長いフィラメント細胞を形成していた。つまり分裂停止と増殖停止は、*sunU*プラスミ

ドにより、二つの生体制御反応として分離できることが解った。*ftsE* 遺伝子は ABC-transpoter の保存配列、*ftsU* 遺伝子は 'gearbox' プロモーターを持つ。*ftsU349* 変異株は、41°C で分裂、増殖共に停止し、細胞質当たりの DNA 量が増加する。*cpcA58* 変異株は、*cAMP* を含む pH 5.8 の培地中 41°C で培養すると細胞分裂を停止する。Ca<sup>2+</sup> の添加により、*sunU* と同様に、より長いフィラメント細胞を形成した。この三つの遺伝子は、いずれもイオン・ポンプに関与し、*sunU* 遺伝子は、イオン・ポンプと細胞分裂の共役に係わっているのではないかと考えられる。

(3) リポ多糖合成と細胞分裂の共役機構 (鷓飼・高木・金丸・西村): DNA 複製終結領域 (ter) にマップされる大腸菌の細胞分裂の温度感受性変異株群 (*fts*) の中から *kdsA* 遺伝子上の変異が予想される 7 株について解析を行った。*kdsA* 遺伝子は、外膜の 30% を占めるリポ多糖 (LPS) のコア部分の前駆体 KDO-8-リン酸の合成酵素をコードしており、これら *fts* 変異株では膜構造の変化による影響で細胞分裂が停止している可能性が高い。これまでの研究は分裂装置タンパク質からのアプローチが主流であり、FtsZ を軸とした解析が現在急ピッチで進んでいる。その一方で、膜の合成と分裂反応の共役、膜構造の変化と分裂装置タンパク質群の機能的相関も細胞分裂を理解する上で重要な課題と思われるが、これまでそうした視点からの解析はなかった。従ってこれらの *fts* 変異株はユニークな材料といえる。しかし大腸菌の *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、大腸菌の *kdsA* 遺伝子の変異株は、現在迄に分離されていない。今年度は、変異点の決定、KDO-8-リン酸合成酵素活性の変化と温度依存性、各アリアル間での多コピークローンによる相補実験、部位特異的変異の導入実験等から、7 株の *fts* 変異株は、全て *kdsA* 遺伝子の変異株であることを確認した。

(4) 大腸菌転写因子 SdiA の機能と活性調節機構 (金丸): 分裂装置の構成因子 *ftsQAZ* はオペロンを形成し、その転写は計 6 つのプロモーターから行われている。正常な分裂反応には FtsQAZ タンパク質の存在比が重要であり、その発現量も 1 細胞周期内で変動するのみならず、増殖相が移行することによっても増加することが知られている。しかし、これらの転写制御の分子メカニズムについてはほとんどわかっていない。ここで注目しているのが、6 つのプロモーターのひとつ P2 の正の転写因子と遺伝学的に推定されているが生化学的解析について皆無の SdiA である。まず私は、*sdiA* のマルチコピー化が *ftsZ* 84<sup>+</sup> を相補することを指標に小原ライブラリーよりクローンを取得した。現在その大量発現系を構築し、精製系の確立を急いでいると同時に、欠失変異株の構築、P2 の転写活性を変化させる変異 *sdiA* 及び *sdiA* 依存的多コピーサプレッサーの取得を行い、*in vitro* 系での P2 領域への結合活性、転写活性の測定と、*in vivo* における SdiA の転写活性の調節系について明らかにすることを目指している。また SdiA はアミノ酸配列上、微生物においてその菌体密度上昇に応じて遺伝子発現を活性化する LuxR ファミリーに属するタンパク質であり、このファミリーでは化学シグナルとしてホモセリンラクトン (HSL) の誘導体が機能していることが近年明らかになりつつある。一方、大腸菌においても HSL が休止定常期特異的の  $\sigma$  因子  $\sigma^H$  の発現を増加させるという報告がなされており、SdiA と  $\sigma^H$  の

関連についても解析中であるが、少なくとも野生株中では SdiA の大量発現、或いは培地への HSL の添加による  $\sigma^P$  制御下の遺伝子の発現量の変化は観察されなかった。

### F-e. 遺伝資源研究室

当研究室では、実験生物に関するデータを収集し、専門家の協力のもとに評価した後、情報処理をしてカタログとして出版している。これらのカタログは国内外の研究者に広く配布されている。今年度はとくにショジョウバエ系統情報のカタログ化へ向けての研究事業を援助してきた。

また今年度は、当研究室の教官の異動があり、4月に藤田昌也助手が着任すると共に、9月には館野義男助教授が遺伝情報研究センター遺伝子機能研究室教授として転任した。なを、藤田助手は、アイソトープセンターの仕事にも従事している。

### F-f. 発生工学研究室

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憲夫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」、白吉安昭を代表者として奨励研究 (A) 「マウス神経系の初期発生を制御する遺伝子クローニングの試み」の交付を受けた。また中辻憲夫は重点領域研究「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)、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。

(1) マウス胎仔生殖細胞の発生分化機構及び発生工学的操作に関する研究 (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している。これを目的として、遺伝研研究会「生殖系列細胞の発生機構と発生工学」(代表者: 中辻憲夫) を開催すると共に、日本細胞生物学会大会や日本分子生物学会年会におけるシンポジウムを企画開催して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進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.*, 1994, *Devel. Biol.*, **161**: 91-95). 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, 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. 一方, 細胞分化など多面的な効果が知られているレチノイン酸が胎仔生殖細胞に対して増殖促進効果を持つことを発見する (Koshimizu, U. *et al.*, 1995, *Devel. Biol.*, **168**: 683-685) とともに, レチノイン酸やフォルスコリンと LIF との相乗効果によって胎仔生殖細胞の一部が長期間増殖を続けることを見いだした. 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と共に, これらの方法を組み合わせることによって生殖細胞を対象とする発生工学を進展させようとしている.

(2) 中枢神経系細胞の発生分化と脳組織構築機構に関する研究 (中辻・白吉): マウス着床後胚において中枢神経系原基が発生する初期に存在する幹細胞からの細胞株樹立を試みている. このために, 温度感受性不死化遺伝子を持つトランスジェニックマウス系統の胚から中枢神経系原基の細胞を取り出して培養を行っている. これまでに数種類の細胞株を得ており, 現在これらの細胞の性質と分化能を調べている. また培養細胞を再度胎仔の脳内に注入して運命を調べるなどの発生工学的実験も開始している. 一方, 脳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は, 東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. and Nakatsuji, N., 1994, *Devel. Growth Differ.*, **36**: 19-27; Ono, K. *et al.*, 1994, *Devel. Growth Differ.*, **36**: 29-38). 今後は, 果して実際の脳皮質などの発生過程で直交性コンタクトガイダンスが機能しているかどうかを解析する予定である.

(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, 中枢神経系原基の形成時期や生殖巣の性分化時期などに特有な発現様式を示す遺伝子を探したり, 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したり, 雌雄生殖巣で発現に差がある遺伝子のクローニングを行うことによって, 神経系などの胚細胞分化や生殖巣と生殖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, Notch 遺伝子と関連する int-3 遺伝子の構造決定と発現様式の解析を行い, その機能の解明を目指している. その他にもいくつかの遺伝子について

て解析を進めている。

## G. 遺伝情報研究センター

当センターは、4月1日付で新たに遺伝子機能研究室が設けられ、現在6研究室から成る。また、9月1日付で遺伝実験生物保存研究センター遺伝資源研究室助教授館野義男が遺伝子機能研究室教授に昇任し、東京大学理学部学術振興会特別研究生の今西規が4月1日付で遺伝情報分析研究室助手に採用された。また、4月1日付で当センター合成研究室助手林茂生が遺伝実験生物保存研究センター無脊椎動物保存研究室助教授に昇任した。なお、進化遺伝研究部門助教授斎藤成也がDDBJの活動に協力した。

総合研究大学院大学の第6期生として、大浪修一（遺伝子ライブラリー）、岡田聖裕（合成研究室）、藤原 学（組換え研究室）、高岸 雅（構造研究室）、竹丸憲一（合成研究室）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。

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、学術振興会特別研究員久堀智子、同博士課程3年加畑博幸および同2年鎌田勝彦同1年高岸雅とで行なわれた。また前年に引き続いて、堀内恵美が研究を補佐した。

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）、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）が参加し、また、月原武富、佐藤孝雄（徳島大学工学部）と協力して研究を行なった。

(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RNAポリメラーゼについて、転写開始に続く伸長過程は、少なくとも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。moribund複合体を解消する因子の精製を試みた。

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事ができた。

(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、この方法は、大腸菌 RNA ポリメラーゼがスライディングすることの立証に用いられている。この方法を用いて、*P. Putida* の CamR リプレッサータンパク質が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。CamR リプレッサーに対するインデューサー *d*-camphor は、特異的部位に対する結合のみ阻害し、スライディングは阻害しないことが明らかになった。この結果、特異的結合とスライディング時の結合とは異なった機構でおこり、インデューサーは前者のみを破壊することを示している。

(3) 大腸菌一本鎖 DNA 結合蛋白質 (SSB) の構造と機能 (永井宏樹・嶋本伸雄・神藤平三郎・清水光弘・杵淵 隆・月原富武・佐藤孝雄): 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。一本鎖核酸に非特異的に結合するメカニズムの解明をめざして、立体構造決定を行っている。資料となる SSB 蛋白質の大量調整系はすでに確立しており、現在、NMR による構造解析および X 線結晶構造解析が進行中である。

NMR による構造解析は、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) のままでは現在の技術では解析できない。このため、C 末端あるいは N 末端からの部分欠失変異を多数作製して、*in vitro* での多量体形成能および DNA 結合能、あるいは *in vivo* での *ssb* 変異株にたいする相補可能性を調べ、機能ドメインの同定を行った。この結果、(1) DNA との結合およびテトラマー形成には N 末端側のおよそ 110 残基の領域が関与すること、(2) C 末端側の主としてプロリンやグルタミンに富む配列は、おそらく複製装置などとの相互作用に関与する領域であることが示唆された。結果として得られた欠失変異タンパク質はいずれも溶解度が低く、NMR による解析には適さなかった (神藤平三郎、清水光弘、杵淵 隆と協同研究)。

また、X 線結晶構造解析では、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。構造決定に必要なパラメーターである位相を決定するために必要な重原子置換は、一種類の重原子の置換に成功しているものの、構造決定には他種の重原子置換も必要であり、現在これを目指している (月原富武、佐藤孝雄と協同研究)。

## 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、3 月まで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、9月まで遺伝研特別研究学生)、鈴木教郎(総合研究大学院大学生命科学研究科)、研究補佐員・長岡菜里(8月まで)に、平成6年4月より大学院生・藤原 学(総合研究大学院大学生命科学研究科)、9月より研究補佐員・杉浦麻理子(加わって、一層充実した。また、技術課所属の技官・浦崎美佐子の助けを受けた。本年度は文部省科学研究費より、重点領域研究(細胞周期)(1)「分化増殖スイッチの分子機構」(代表者:桂)、総合研究(B)「モデル実験生物系を用いた生体高次機能解析」(代表者:堀田凱樹(東大・理)、班員:桂)、重点領域研究(ショウジョウバエ)(2)「*C. elegans*の後期発生における制御機構」(代表者:西田育巧(名大・理)、班員:石原)、奨励研究(A)「線虫 *C. elegans* の神経回路の形成に異常を示す突然変異体の探索」(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, 浦崎, 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性株とほぼ同じで、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.*, 1994, *Genetics*, **136**: 145-154)

*ftr* 遺伝子の本体を解明するために、まずトランスポゾン Tc1 の挿入変異株を用い Tc1 をプローブとして *ftr-1* と *ftr-3* の遺伝子をクローニングし、次に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 cDNA クローンを分離した。*ftr-1* は、まだ部分長 cDNA しか得ていないが、予想されるアミノ酸配列は線虫の MEC-4 や DEG-1 (両者ともイオン・チャンネルと考えられている) や哺乳類のアミロリド感受性 Na チャンネルと弱いホモロジーを持つ。機能的に重要な膜貫通部位で特によく似ているので、*ftr-1* 遺伝子はイオン・チャンネルをコードすると思われる。一方、*ftr-3* は、ノザン解析で mRNA が単一種で 2 kb であることを知り、これに相当する全長 cDNA をクローニングした。この cDNA は、多くのプロテインキナーゼと相同性を示す 525 (または 589) アミノ酸残基のタンパク質をコードしていた。キナーゼコンセンサス配列(Hanks *et al.*, 1988, *Science*, **241**: 42-52) の II から XI までは比較的明瞭だが、I の ATP 結合部位に関しては、保存されていなかった。このような例は、いくつかのキナーゼやキナーゼ類似分子に見られる。

研究が進むに連れて、*ftr* 変異は神経系に影響を及ぼすことがわかってきた。*ftr* 変異を

他の神経系変異 (*unc-3*, *unc-31*, *osm-1*, *tax-2* など) と二重変異にすると, dauer 幼虫を生じる (下記 2b 参照) が, どの変異と二重変異にした場合になるかは, *f1r* 遺伝子により異なる。また, *f1r* 変異体の一部は走化性が異常なことが予備的な実験で判明した。さらに, *C. elegans* は約 45 秒に 1 回, 定期的に脱糞するが, J. H. Thomas (Washington 大) と E. Jorgensen (Utah 大) からの私信によると, 強耐性の *f1r* 変異体 (*f1r-1*, *f1r-3*, *f1r-4*) はみなこの周期が短い。これにより, *f1r* 遺伝子群は, フッ素イオン耐性・成長速度・走化性・dauer 幼虫形成・脱糞周期にも関係していることがわかった。今後は, 発現の場所・時期を調べ, 遺伝子産物間の相互作用を検出して, *f1r* 遺伝子群によるシグナル伝達機構, 成長の制御機構, 神経系における機能を解明する予定である。

(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., 1993, *Genetica*, 88: 137-146)。

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, 遺伝子断片をプローブとして cDNA ライブラリーをスクリーニングしたところ, 5'および 3'末端の位置が異なる 3 種類のクローンがとれた。3'側の違いは近接して並ぶ 2 つのポリ A 付加部位を利用していることによる。一方, 5'側の違いでは, 短い方の cDNA が末端にトランススプライシングによる SL1 配列をもっていた。プロモーターが 2 箇所あるのか, 短い方が長い方のプロセッシング産物かは今後の課題である。遺伝子産物は疎水性で, 既知のタンパク質とのホモロジーはない。

(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 神経芽細胞の移動方向が異常になるといふ, 興味ある表現型をもつ (Hedgecock, E.M. *et al.*, 1987, *Development*, 100: 365-382)。我々は, この遺伝子のトランスポゾン挿入変異株を得た (近藤和典 (創価大・工), 桂, 未発表)。そこで, 遺伝子クローニングを行い, さらに遺伝子断片をプローブとして, ノザン解析で検出される 3 kb の mRNA に対応する全長の cDNA をクローニングした。現在, 塩基配列を決定中だが, 金属プロテアーゼのコンセンサス配列が見つかっており, 細胞間マトリックスを修飾するプロテアーゼおよびウニや魚類の孵化酵素との関連が注目される。

## (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とそれを用いた変異株の分離 (石原, 藤原, 桂): GFP (クラゲ緑色蛍光タンパク質: Chalfie, M. *et al.*, 1994, *Science*, 263: 802-805) の cDNA に *C. elegans* の神経細胞特異的な転写プロモーターをつないで線虫に導入し, 特定の神経細胞の組が蛍光を発する線虫株 8 種を作成した。神経特異的なプロモーターは, プロモーター・トラップ法 (Hope I., 1991, *Development*, 113: 399-408) により 3 種, 線

虫のゲノム DNA 塩基配列を見て 5 種を得た。発現部位（プロモーターを得た遺伝子のホモロジー）は、前者については、(1) ほとんどの神経細胞（既知の遺伝子とホモロジーなし）、(2) 頭部の一対の神経細胞 (AFD)（ホモロジーなし）、(3) 頭部の G2 細胞とその子孫など（ホモロジーなし）であった。また、後者については、(4) ほとんどの神経（*unc-31* 遺伝子そのもの）、(5) 頭部の 8 個の神経細胞と尾部の PVC 神経細胞（AMPA 型グルタミン酸受容体）、(6) CEP, ADE, PDE 神経（ドーパミン・トランスポーター）、(7) ASJ, URX など数対の感覚神経細胞（cGMP 応答性チャンネル）、(8) 頭部の多数の神経（*prospero* ホモログ）であった。また、少なくとも (1) のプロモーターでは、導入遺伝子クローンに SV40 の核移行シグナルをつなぐと蛍光は細胞核に偏り、線虫の *unc-76* 遺伝子断片をつなぐと細胞質と神経突起に局在した。

(1) の線虫株（核移行シグナルが入ったもの）に EMS で突然変異を誘起し、尾部の神経細胞核の数や位置が異常なものを探した。約 1000 の独立な線虫を見て、尾部の神経細胞核が 1 対少ないもの 1 株、1 対多いもの 1 株を得た。これらは、神経細胞の系譜や移動の異常によるものと思われる。

(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耐久型の dauer 幼虫になる。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っている。

単独の変異では dauer 幼虫形成に異常がないが、二重変異にすると 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、数例知られていた。これは、dauer 形成に関する信号が複数の並列の経路をたどるためと推測される。したがって、このような変異の組み合わせを枚挙すれば、感覚情報処理経路の構造とその各部分に必要な遺伝子がわかるかもしれない。こう考えて、既存の変異の中から、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、少なくとも 39 の遺伝子の変異が、このような性質をもつことがわかった。その内訳は、(1) amphid の構造、すなわち amphid 感覚子の繊毛構造、感覚子とそれを包む sheath 細胞や socket 細胞との位置関係、または amphid 感覚神経の束形成が異常になる変異の大多数（*che-2*, *che-3*, *che-11*, *che-13*, *daf-10*, *osm-1*, *osm-3*, *osm-5*, *osm-6*, *che-10*, *che-14*, *daf-6*, *mec-1*）、(2) その他の化学受容異常変異の大部分（*che-1*, *che-6*, *che-7*, *tax-2*, *tax-4*, *tax-6*, *odr-1*, *odr-2*, *odr-4*, *odr-5*）、(3) 多くの神経が異常になる運動異常変異の一部（*unc-3*, *unc-31*, *unc-101*, *unc-104*）、(4) 神経細胞系譜変異の一部（*lin-32*）、(4) 産卵異常変異の一部（*egl-4*, *egl-32*）、(5) 脱糞異常変異の一部（*aex-3*）、(6) フッ素イオン耐性変異（*ftr-1*, *ftr-2*, *ftr-3*, *ftr-4*, *ftr-5*）、(7) 体が小さい変異の一部（*sma-2*, *sma-4*）、(8) セロトニン異常変異の一部（*cat-1*）である。現在、どのような組み合わせで dauer 幼虫を生ずるかを網羅的に調べている。また、*cat-1* が上のリストに含まれていたため、セロトニンのアンタゴニストであるケタンセリンの効果を調べたところ、予想通り

10mM ケタンセリン存在下では、野生型 *C. elegans* は dauer 幼虫にならないが、*unc-3*, *unc-31*, *osm-1*, *egl-4* の各変異体は、二重変異にしないで dauer 幼虫になることがわかった。

このような変異株を未知の変異の中に探せば、新しい神経系変異が発見できると考え、「*unc-31* 変異と組み合わせると dauer 形成が構成性になる変異株」を 44 株分離し、マッピングしている。上記 (1) の変異株は、amphid と phasmid (尾部の感覚器官) への色素浸透に異常があるので、これらの変異株についてこの表現型を調べた。その結果は、正常なものが 30 株、やや異常なものが 6 株、異常なものが 6 株あった。2 株は、まだ調べていない。

### G-c. 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協同しておこなっている。

今年は、五條堀孝教授及び池尾一穂助手と 4 月 1 日付けで着任した今西規助手が、本研究室の教官として活動した。データバンク研究事業には、これらの教官の他、遺伝子機能研究室の舘野義男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、広島市立大学知能情報システム工学科の北上始教授と農林水産省農業生物資源研究所の鶴川義弘科長がデータバンク研究事業に参加した。さらに、総合研究大学院大学の山口由美大学院生が 3 年生として、遠藤俊徳大学院生が 2 年生として、本研究室で研究を行なった。先年度に引き続き、(株) 帝人システムテクノロジー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、岩瀬正子、上田陽子、内田玲子、奥田啓子、川本たつ子、斎藤真理、佐々木美香子、佐藤由美子、仕田原容、下山メアリー、白壁則子、鈴木あかね、鈴木利紀子、大藤由紀子、筒井波留、柳楽幸子、野村貴美子、長谷川麻子、長谷川有子、服部淑恵、平島美恵子、堀江元乃、山本ゆか、渡辺昭乃が行なった。

(1) C 型肝炎ウイルスの C 遺伝子における同義置換速度の減少 (伊奈, 溝上\*, 大羽\*, 五條堀): 分子進化的解析を行なうことによって、C 型肝炎ウイルスのさまざまな単離株間の系統関係、分岐時間、進化速度等を明らかにした。世界各地から単離された C 型肝炎ウイルス株の塩基配列を用いて、分子系統樹を構築した。この系統樹から、単離された地方ごとにウイルス株は必ずしも同じクラスターを形成しないことがわかった。このウイルスは血液感染することが知られているので、このウイルスが輸血用血液等の運搬によって、世界規模で広まったものと考えられる。さらに、このウイルスのすべての主要な遺伝

\* 名古屋市立大学医学部

子について同義および非同義置換速度を推定したところ、C 遺伝子の同義置換速度 ( $1.35 \times 10^{-3}$ /サイト/年) は他の遺伝子 (たとえば E 遺伝子の  $6.29 \times 10^{-3}$ /サイト/年) より、かなり低いことが判明した。このことは、C 遺伝子の同義置換速度には、ある特定の機能的制約が働いていることを示す。この機能的制約が何であるかを調べるため、今までに知られていない ORF を探していたところ、C 遺伝子のコード領域内にリーディングフレームをずらしてオーバーラップする ORF が存在することを発見した。この ORF が C 遺伝子とオーバーラップして発現される場合には、C 遺伝子の同義置換速度が極端に減少する可能性が高いことを指摘した。また、推定された進化速度を系統樹の各枝にあてはめて、C 型肝炎ウイルスが数百年前に共通祖先ウイルスから分岐した可能性があることを示した。

詳細は、*J. Mol. Evol.* **38**: 50-56 に発表した。

(2) 注射針事故による C 型肝炎ウイルス感染の分子進化的解析 (鈴木\*, 溝上\*, 五條堀): 注射針事故によって、C 型肝炎ウイルスが患者から医療従事者に感染したかどうかを調べるため、注射針事故を起こした医療従事者及び関係する患者 3 組の C 型肝炎ウイルスをそれぞれ単離し、E2 遺伝子領域の塩基配列を決定して分子進化的解析を遂行した。この際、それぞれの個人から少なくとも 6 本のウイルスクローンを単離した。塩基置換数は 6-パラメタ法によって推定し、系統樹は近隣結合法によって構築した。この結果、C 型肝炎ウイルスのドナーとなるべき患者とレセピエントとしての医療従事者の単離株は、どれも同一系統の同じクラスターに属することがわかった。また、これは、ブートラップ法によって統計的にも有意であることを確認した。さらに、医療従事者からの単離株の塩基多様度 (nucleotide diversity) は患者より小さく、このウイルス感染は、患者から医療従事者へと起こったことと矛盾しないことがわかった。

詳細は *J. Infectious Diseases* **170**: 1575-1578 および *Gastroenterology* **107**: 1181-1182 に発表した。

(3) 同義および非同義置換速度からみた病原性ウイルスの進化 (五條堀, 山口, 池尾, 溝上\*): エイズウイルス (HIV), B 型肝炎ウイルス (HBV), C 型肝炎ウイルス (HCV), インフルエンザ A 型ウイルス, ヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV-I) について、同義置換速度と非同義置換速度についてまとめを行い、これらの病原性ウイルスの進化に関する共通的特徴を議論した。遺伝子領域全体を単離株間で比較する限り、これらの 5 つの病原性ウイルスすべてにおいて、同義置換速度が非同義置換速度よりも高いということが、共通にみられることを指摘した。

このことは、たとえこれらの病原性ウイルスの多くが宿主のゲノムより極端に高い速度で進化しているにもかかわらず、ウイルスのタンパク質全体には機能的あるいは構造的な制約が強いかかっていることを示唆する。しかし、病原性ウイルスが宿主の免疫機構から逃れるため、抗原部位のような部位や特定の遺伝子内領域には正の淘汰が働いている可能

\* 広島県立大学情報工学部



性のあることを指摘した。

詳細は, Jpn. J. Genet. 69: 481-488 に発表した。

(4) 分散化コンピュータ環境における分類データベースの統一化 (北上\*, 館野, 五條堀): 国際 DNA データバンクにおいて, DNA データベースとともに構築されているすべての「分類データベース (Taxonomy database)」は, 生物学全般において, 極めて有用な電子辞書の役割を持っている。しかし, それぞれの分類データベースは, 関係化フォーマットも全く同じではないため, データの更新や利用が難しかった。また, この分類データベースを統一化して一元管理ができるとすると, 分子レベルのデータによって構築された系統樹と形質レベルのデータによって構築された系統樹を比較することも可能になる。このため, 各データバンクに存在する分類データベース間の不一致性をなくし, 分類データベースを統一して一元管理を可能にする新しい方法を開発した。この方法は, 関係データベース管理システム SYBASE で実現される。

詳細は, Proceedings of Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology (ISMB-94) pp. 227-235 に発表した。

(5) ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型の分子進化とその人類学的関連 (五條堀, 三浦\*\*, 速水\*\*, 伊奈): ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) をインド, コロンビア, チリ, 北海道アイヌ, 中央アフリカのガボン, および西アフリカのガーナの人々から単離し, ウイルス遺伝子の塩基配列を決定することによって, それらのウイルス株間の進化的関係を明らかにするため, 分子系統樹を構築した。HTLV-I には, 日本, カリブ海, 西アフリカからの単離株を含む「コスモポリタン」型という主要なサブタイプが存在することが知られている。構築された系統樹によると, この「コスモポリタン」型はサブタイプ A, B, C の 3 つに更に分類されることがわかった。サブタイプ A は, カリブ海, 南アメリカ, 日本 (アイヌを含む), インドの単離株から成り, サブタイプ B はその他の日本人やインド人のウイルス株から成る。このことは, 日本人の HTLV-I には少なくとも 2 種類の系統が存在することを示唆する。サブタイプ C は, 西アフリカからの単離株やカリブ海からの残りの単離株から成るため, カリブ海の人々に感染している HTLV-I はすべて西アフリカから由来したものであるとは限らないことが明らかになった。さらに, ガボンから単離された HTLV-I は, チンパンジーの STLV-I と同じクラスターを系統樹において形成するため, この種のウイルスが過去に種間感染した可能性が高いことを示した。

詳細は, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91: 1124-1127 に発表した。

(6) アクアポリン遺伝子族の分子進化と腎臓における機能 (五條堀, 山口, 石橋\*\*\*, 丸尾\*\*\*): 腎細胞等における水透過型の細胞膜を介した水輸送は, いわゆる水チャンネルによって実行される。水チャンネルに関与するタンパク質を同定し, その遺伝子族の進化を探るため, 水チャンネル関連遺伝子を探索していたところ, 水だけでなく尿素やグリセ

\* 広島県立大学情報工学部

\*\* 京都大学ウイルス研究所

\*\*\* 東京医科歯科大学

ロール等も輸送する水チャンネル関連遺伝子を発見した。この遺伝子をアクアポリン 3 (AQP3) と名付け、クローニングして、塩基配列を決定した。その結果、AQP3 のアミノ酸配列は、AQP-channel-forming integral membrane protein, AQP-collecting duct, MIP (major intrinsic protein), AQP- $\gamma$  tonoplast intrinsic protein, nodulin 26, glycerol facilitator と 33% から 42% の相同性があることを明らかにし、AQP3 は MIP 遺伝子族の一員であることを示した。

詳細は Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **91**: 6269-6273 に発表した。

(7) セリンプロテアーゼとそのインヒビターの遺伝子におけるドメイン進化 (五條堀, 池尾): セリンプロテアーゼとそのインヒビターの遺伝子の分子進化において、ドメイン進化に関する興味深い問題点を指摘した。現在、多くのタンパク質は、複数の機能的ドメインによって構成されていることが知られている。たとえば、ウロキナーゼやプラスミノゲンのようなセリンプロテアーゼは、いろいろな機能的ドメインから成っており、いわゆる「モザイク・タンパク質」の典型的な例である。セリンプロテアーゼにおけるクリングル・ドメインは、セリンプロテアーゼだけでなく種類の異なる他のタンパク質にも見られることから、これらのクリングル・ドメインのアミノ酸配列を用いて分子系統樹を作成した。その結果、クリングル・ドメインは、進化の過程で重複や組み換えを頻繁に経験しているだけでなく、他の遺伝子内に移動して挿入されていることがわかった。このようなクリングル・ドメインのダイナミックな進化は、セリンプロテアーゼインヒビターの Kunitz 型のドメインにも見られ、機能的ドメインが進化的にゲノム上を動き回るといふ説を強く支持するものである。このことは、これらの機能的ドメインが、元来、祖先的な遺伝子自身であった可能性があり、機能的ドメインを進化の単位として考える必要があることを指摘した。

詳細は, Phil. Trans. R. Soc. Lond. B **344**: 411-415 に発表した。

(8) NRSub: 枯草菌ゲノムの非冗長性データベース (Perriere, 五條堀): 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の DNA 配列データを収集し、枯草菌ゲノムのデータベースを構築した。このデータベースでは、重複されたデータは全て排除されており、また互いにオーバーラップする全ての配列は、コンティグとして整理されている。また、このデータベースには、遺伝子マッピングとコドン使用頻度のデータも含まれている。このデータベースを「NRSub」と名付け、フラットファイルの型式と ACNUC データベースの型式で、アノニマス FTP によって DDBJ より公開した。この型式のもとでは、Query-win という検索プログラムで NRSub を利用することが可能である。このプログラムは、グラフィカルインターフェイスをもち、X ウィンドウ上のどの種の UNIX 機にでもインストールできるとともに、Vibrant や Motif も利用できる。

詳細は Nucl. Acids Res. **22**: 5525-5529 に発表した。

(9) インフルエンザ A 型ウイルスのヘマグルチニン遺伝子における正の淘汰の可能性について (伊奈, 五條堀): インフルエンザ A 型ウイルス (H1 サブタイプ) のヘマグルチニン 1 (HA1) 遺伝子に正の淘汰が働いているかどうかを調べるため、HA1 の 21 個の塩基

配列データを分子進化的に解析した。この塩基配列は、抗原部位と非抗原部位に分けられる。HA1 遺伝子の塩基多様度 (Nucleotide diversity) を同義サイトと非同義サイトにそれぞれ別けて推定した。その結果、非抗原部位では同義サイトの塩基多様度は非同義サイトよりも高かったため、これらの部位では分子進化の中立説が予測する通り、正の淘汰は働いていない可能性が高い。一方、抗原部位では、逆に、非同義サイトの塩基多様度は同義サイトよりも高かったため、これらの部位には正の淘汰が働いていることが示唆された。

詳細は、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91: 8388-8392 に発表した。

(10) 大規模 DNA データベースの構築と検索のシステム (北上, 山崎, 池尾, 鶴川, 新井, 斎藤, 五條堀, 館野): エントリーの数が急増しているような大規模データベースでは、データの構築, 更新, 検索をフラットファイル形式で行うことはあまり有効なことではない。DDBJ では、数年前まで DNA データベースをフラットファイルで構築していたが、米国の GenBank の援助により、関係データベース化するとともに Annotator's Workbench AWB を導入した。AWB は、関係データベース管理システム SYBASE 上のいわゆる GenBank スキーマで DNA データベースを構築するためのツールである。しかし、これらのシステムでは、特に最近大量に登録される EST (Expressed Sequence Tags) データと同時にデータをプロセスする機能がない。このため、独自の「DDBJ スキーマ」を開発した。

詳細は、Advances in Molecular Bioinformatics (S. Schulze-Kremer, ed.) pp. 123-138, IOS Press に発表した。

(11) HIV の抗原部位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。また、V3 領域の各アミノ酸座位ごとにアミノ酸置換数を推定したところ、HIV の抗原性などの性質を変化させるアミノ酸座位にアミノ酸置換が集中して起きていることがわかった。これらの観察結果は、HIV の V3 領域が、免疫系などの宿主からの淘汰圧を受けたり、増殖に有利な変異を蓄積したりして、適応的な進化をしている可能性を示唆する。これらの研究成果を、国際エイズ学会、日本遺伝学会、日本分子生物学会で発表した。

(12) 大量 DNA データ解析に基づく正の淘汰の働く遺伝子の探索 (遠藤, 池尾, 五條

堀): DNA データベースを利用した大量解析により, 正の自然淘汰の働く遺伝子の探索を行った。はじめに, DNA データベースに登録された遺伝子を, アミノ酸配列の相同性に基づいて 3,595 グループに分類し, アミノ酸配列のマルチプルアラインメント及び DNA 配列のマルチプルアラインメントを作成した。これをもとに, 各塩基配列間と同義・非同義置換数を推定し, 非同義置換数が同義置換数を上回る組がグループ内の過半数を占めるものを正の淘汰の働く遺伝子の候補とした。この結果, 16 の遺伝子グループ (0.45%) が, 正の淘汰の働く遺伝子の候補として見つかった。このうち, 半数である 8 グループは, 寄生生物あるいはウイルスの表面抗原だった。ウィンドウ解析の手法を用い, これらのうち正の淘汰の働いている可能性のある遺伝子内領域を同定したところ, 抗原決定基と一致した。従って, これらの遺伝子は, 宿主の免疫系から逃れるために, 正の淘汰の働いた可能性がある。これらの解析結果を遺伝学会大会と, Human Genome 1994 で発表した。また, ウィンドウ解析の手法を多量のアラインメントに適用できるよう改良し, 3,595 のすべてのグループに適用したところ, 正の淘汰の働く領域をもつ遺伝子グループは, 186 グループ (約 5%) 見つかった。その種類は, 細胞表面タンパク質, 酵素, サイトカイン, 細胞骨格など, 多岐に渡っていた。この結果は, 分子生物学会年会で発表した。

(13) MHC 遺伝子における遺伝子変換 (今西): ヒトの主要組織適合性複合体 (MHC) 遺伝子は, 多重遺伝子族を形成し, その多くの遺伝子座は高度な遺伝的多型を示す。この遺伝的多型が生じるメカニズムとしては, 点突然変異だけでなく, 数十塩基の長さの遺伝子断片が他の対立遺伝子や他の遺伝子座へコピーされるという, 遺伝子変換 (gene conversion) が考えられている。そこで, MHC 遺伝子で遺伝子変換が起こった可能性を検証するため, ヒト MHC の塩基配列データを系統的に解析した。特に, 特定の遺伝子座に特異的にみられる塩基置換 (locus specific substitution) と, 異なる遺伝子座の間で共有されている DNA 多型 (shared DNA polymorphism) の分布様式について解析した。その結果, クラス I 遺伝子である HLA-A, B, C の exon 2 と exon 3 では, 異なる遺伝子座の間で共有されている DNA 多型が有意に多いことがわかった。同様に, クラス II 遺伝子である HLA-DRB1, DQB1, DPB1 の exon 2 でも, 異なる座位の間で共通の DNA 多型が観察された。このことは, 異なる遺伝子座の間での遺伝子変換によるものか, あるいは自然淘汰の働きによるものと推測された。以上の結果を分子生物学会で発表した。

(14) ヒト MHC 遺伝子の多様性の研究 (今西): 高度な遺伝的多型を示すヒト MHC 遺伝子 (HLA) について, その多様性の分布様式と遺伝子の分子進化の研究を行った。新たに発見されたクラス I の HLA の対立遺伝子について, DNA の塩基配列を決定し, さらに分子系統樹の作成を中心とする解析を行った (Ishikawa, Y. *et al.*, 1994, Human Immunology, 39: 220-224)。また, 日本人集団について, DNA タイピング法による HLA の遺伝子頻度およびハプロタイプ頻度の推定を行った (Hashimoto, M. *et al.*, 1994, Tissue Antigens, 44: 166-173; Akaza, T. *et al.*, 1994, Transplantation Now, 7: s87-s99 (in Japanese))。このほか, 北東アジアのブリアートと南米のジャマイカ人における HLA の遺伝子頻度とハプロタイプ頻度を推定し, それぞれの民族の進化的起源や周辺の民族との類縁関

係を明らかにする目的で、系統樹を用いた解析を行った (Tokunaga, K. *et al.*, 1995, *Tissue Antigens*, 45: 98-102; Blank, M. *et al.*, 1995, *Tissue Antigens*, 45: 111-116). これらの解析を通して、ヒト MHC の多様性が集団レベルおよび遺伝子レベルでどのように分布しているか、そしてどのように進化してきたかを明らかにしつつある。

### G-d. 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、小原雄治助教授を中心として、安達佳樹助手、田原浩昭（総研大学院生）、満木広宣（同）、大浪修一（同）が研究に参加した。パート職員として、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、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）、重点領域研究「ゲノム情報」（小原）、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。

#### I. 研究事業

昨年にひきつづき大腸菌遺伝子ライブラリー、線虫 cDNA ライブラリー及び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・本橋・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 50 件、のべ 4,449 クローンを 11 ヶ国（アメリカ、日本、イギリス、スペイン、カナダ、韓国、インド、ドイツ、デンマーク、中国、スイス（発送数順））の研究者に送付した。これまでの累計は、30 ヶ国 688 件、のべ 91,524 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（宝酒造・Gene Mapping Membrane）が日・米・欧で市販されており、これを用いた研究からのクローンのリクエストも増えている。

(2) 線虫 *C. elegans* の cDNA ライブラリーおよびデータベース（小原・杉本・本橋）：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クローンおよびその情報は、逐次線虫統合データベース ACEDB などに送付し、公開されている。タグ配列のうち約 4,000 本は DDBJ に登録した。利用者の便、アップデートの容易さなどを考慮し、DDBJ 計算機上での WWW の構築を計画中である。

cDNA クローンについては、本年末までの4ヶ月の間に7ヶ国40件のべ143クローンを分与した。これも情報のフィードバックのみを条件にしている。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。すでに21グループに49セットを送付した。種々のフィードバックがあることを期待している。

## II. 線虫 *C. elegans* のゲノム解析 (小原・本橋・田原・杉本・渡辺)

線虫 *C. elegans* は動物発生・行動研究のすぐれたモデル系である。この全遺伝情報は100Mbのゲノム(染色体6本)に書き込まれており、この解読のため、英米2グループの共同作業で全ゲノムDNAの塩基配列決定計画が1998年完成をめざして進行中である。

一方われわれは、ゲノムシーケンシンググループと緊密な連絡のもとに、発現遺伝子側の解析のセンターとして活動を進めてきた。すなわち、全遺伝子に対応するcDNAクローンの単離と同定、その構造、発現様式の解析、更には遺伝子破壊実験による生物機能の検定、というcDNAの系統的解析である。これは、単なるEST配列の集積ではなく、cDNAの塩基配列情報、類似遺伝子情報(BLAST検索)、スプライシングの制御に関する情報、発現時期、発現細胞の情報、将来的には遺伝子破壊結果の情報を、ゲノムマップ(究極的には塩基配列)上に統合化し、ゲノムの発現マップを構築するものである。また上述のように、ここで得られたクローンは内外の研究者からの請求に応じ配布をしているので、そこからのフィードバック情報も追加される。このような情報の集積が進むと、ゲノム軸、(発生)時間軸、細胞系譜(空間)軸などのいろいろな軸での検索が縦横にできるようになる。例えば、ある時期のある細胞で発現が始まるあるモチーフをもつ遺伝子群を検索する、といったことも可能になってくるだろうし、逆にそのような発現様式を支配する調節領域をゲノムDNA配列から推測することも可能になってくる。そして、線虫ではこれらの結果を実験的に検証することが可能である。本研究はこのような目的で *C. elegans* のcDNA情報の集大成と統合化を行うものである。

### 1. cDNA データの収集

#### (1) cDNA クローンの分類、同定

3種のcDNAライブラリーからランダムにクローンを取り上げ、5'-タグ、3'-タグの両方のシーケンシングをおこない、3'-タグを比較することにより、クローンの分類を行った。これまでに、約10,000クローンを処理した結果、7,647クローンについてクリーンな3'-タグが得られ、3,324種(遺伝子)に分類した。これは、15,000と推定される全遺伝子の20%にあたる。今年度増加分は1816種であった。解析の進行に伴って、同一遺伝子由来のクローンの飽和が生ずるので、約4,000クローン解析する毎に、それまでの解析で4個以上同一遺伝子由来のクローンが出現したものについて、cDNAクローンの高密度グリッドフィルターに対してハイブリダイゼーションをおこないヒットしたものを除いていった。

#### (2) マッピング

ゲノムへのマッピングは1,700種について決定できた。今年度は整列YACフィルター

だけでなく、サンガーセンターから提供されたコスミドシーケンス 317 個分、計約 8 Mb 分 (ショットガンの途中のものも含む) を用いても行った。その結果、cDNA 種 3,096 のうち 459 種 (15%) がこの 8 Mb (8%) の領域にヒットした。染色体中央部のクラスターとよばれる "gene rich region" にマップされるものが多く、組換え頻度が抑制されているだけでなく、実際に遺伝子頻度が高い領域であることが明らかになりはじめた (後述)。

### (3) 類似遺伝子の検索

主として 5'-タグを用い、BLASTX で東大医科研ヒトゲノム解析センターのタンパクデータベース (nr-aa) を検索した。これまでの累計では、3,324 種のうち 1,235 種について有意な類似遺伝子が見いだされた。

### (4) 発現パターンの解析

今年度ようやく *in situ* ハイブリダイゼーションが動きだした。これは whole mount 法であり、いろいろな発生時期の胚を 1 枚のスライドガラス上で観察できるので便利である。試しに、データベース検索で類似遺伝子の見つからなかった cDNA 種 13 個について *in situ* ハイブリダイゼーションを行ったところ、5-6 種で非常に特異的な発現が見られた。そこで、次項で述べるように、マルチウェル方式で、1 枚のスライドガラス上で多数の cDNA 種について調べられるよう改良を進めた。

## 2. cDNA データの情報解析—遺伝子密度とゲノム編成の関係

カナダ McGill U. の T. Barnes らとの共同研究で、遺伝子密度と遺伝的組換え頻度、ゲノム構成との関連を調べた (論文投稿中)。C. elegans の染色体は 5 本の常染色体と 1 本の X (性) 染色体からなるが、多くの遺伝子が染色体中央部にマップされ、当初よりクラスター領域とよばれていた。しかし、物理的な距離と比較すると、クラスター領域では組換え頻度がほぼ一定でかつ著しく低くなっていることが示された。例えば第一染色体は全長約 13 Mb であり、遺伝的組換え距離は 50 cM である (したがって平均 260 Kb/cM)。クラスター領域は 2.2~8.7 Mb の間の 6.5 Mb であり、この間の遺伝的組換え距離は 6 cM であった (~1,100 Kb/cM)。この領域にマップされた 22 個の遺伝子について Kb/cM でプロットしたところ、ほぼ直線になり、一定の組換え頻度であることがわかった。一方、クラスターの外側のアームとよぶ領域では組換え頻度は一定ではなく、100~300 Kb/cM であった。これは他の常染色体でも同様であった。ただし、X 染色体では明瞭なクラスターは見いだされていない。

このクラスターの中身をはっきりさせるためにマップされた cDNA クローンを用いて、実際の遺伝子頻度を測定した。その結果、遺伝子頻度はクラスター領域では明かに高く (35~52 cDNA ヒット/Mb)、アーム領域に入ると急激の落ちること (5~30 cDNA ヒット/Mb) がわかった。X 染色体ではやはり明確に遺伝子頻度の高い領域は見いだされなかった。全遺伝子の 15% の cDNA データを元にしており、遺伝子頻度のばらつきも大きい。同定 cDNA の数が増えても全体の傾向には変化が見られないので、クラスター領域の遺伝子密度は実際に高いものと考えられる。逆にこれらのことから遺伝子頻度は、クラスター領域では平均 220 遺伝子/Mb (4.5 Kb に 1 個)、アーム領域では 25 遺伝子/Mb

(40 Kb に 1 個) と推定した。

このように、組換え頻度が低い領域=遺伝子密度の高い領域、というのは哺乳動物などの場合と正反対である。この機構については、*C. elegans* 染色体には明確なセントロメア構造が見られないこと(多分テロメアに存在する)、雌雄同体であり自家受精が基本であること(雄も低頻度で存在し、交配もできる)、などを考慮したモデルをたて、現在検討中である。

### III. 線虫 *C. elegans* 発生における遺伝子発現制御の解析 (田原・本橋・小原)

#### 1) 線虫胚でのマルチウェルフォーマット *in situ* ハイブリダイゼーション法の開発

線虫胚は固い卵殻でおおわれており、固定操作に必須である卵殻、ヴィテリン膜の除去が難しいためこれまで再現性のよい whole mount *in situ* ハイブリダイゼーション法がなかった。そこで昨年度われわれが先に割球分離のために開発した方法をもとに、*in situ* ハイブリダイゼーション法の開発をおこなった。特徴は、親虫をアルカリ・ブリーチ処理で溶かし、胚を取りだし、キチナーゼ処理で卵殻を溶かし、適当な時点で短時間の vortexing によってヴィテリン膜を壊すことである。通常の freeze fracture 法に較べ少し面倒であるが、固定処理や蛋白分解酵素処理の程度の調節が容易で、高い S/N 比の結果が得られる。また、大量の胚試料を準備できるので、本年度は多数のプロープを解析できるように以下のようなマルチウェル化をはかった。

すべて市販品でまかなうことを考え、スライドグラスには FLOW 社の 8 ウェルテストスライド(通常のスライドグラスに 4 ウェル×2 列=8 ウェルが 96 ウェルフォーマットの間隔で印刷してある)、ハイブリダイゼーションのために S&S 社の 96 ウェルドットプロッターを用いた。8 ウェルテストスライドは事前にポリリシンコートし、各ウェルに卵殻、ビテリン膜を除去した胚集団を付着させ、固定操作をおこなう。4 枚の 8 ウェルスライドを 96 ウェルドットプロッター(各ホールには O-リングが装着されている)にウェルとホールが重なるようにはさみこみ、ハイブリダイゼーションをおこなう。このようにして 1 台のドットプロッターで 32 の異なるプロープを解析できるようにした。

プロープには DIG (ディゴキシゲニン) 標識 cDNA を短くして用い、発色法で検出しているが、今後は多重標識を考慮して蛍光標識プロープとレーザー स्क্যান顕微鏡の使用も検討している。

#### 2) カタログ化 cDNA クローンの *in situ* ハイブリダイゼーション解析

上述の *C. elegans* cDNA 解析プロジェクトで分類同定した約 3,500 種(全遺伝子の約 25%)の遺伝子について、マルチウェルフォーマットの *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて、発現パターンのスクリーニングを開始した。3 台のドットプロッターを用いて、少なくとも 96 遺伝子/週 の速度でスクリーニングが可能になった。現在の所、大体 10~20 遺伝子に 1 個の割合で、非常に特異的な発現パターンを示す遺伝子が同定されている。その中には、第一卵割時に後極側に移動して局在する遺伝子が見つかり、非常に興味を持たれるので現在詳細な解析を進めている。また、当初は、ハウスキープ遺伝子は除外する予定であったが、例えばリボソームタンパクの遺伝子には腸で特異的な発現が



見られるものがあつたので、むしろ全遺伝子の発現パターンを解析することにした。このようなやり方は一見遠まわりに見えるが、全遺伝子の網羅をめざすゲノムプロジェクトと組み合わせることにより、特異的発現遺伝子を確実に集めることができる、むしろ早道であると考えている。

### 3) ディファレンシャルディスプレイ法の単一割球からの増幅 cDNA への応用

昨年度までの解析の結果、単一胚から増幅した cDNA は十分元の組成を保っていることが確認できた。そこで、発生初期の各割球から cDNA を増幅し、ディファレンシャルディスプレイ法を試みた。第一卵割期の前後割球で、比較的長いプライマーを用いたところ、いくつかのバンドの差が見つかったので、現在解析中である。

### IV. 線虫 *C. elegans* の遺伝子破壊法の開発と応用 (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失した変異体の解析が必要である。この目的のため、トランスポゾン Tc1 挿入変異体バンクを作成したことを昨年度報告した。これは、*C. elegans* のトランスポゾン Tc1 転移頻度の高い 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とし、残り個体から各プールごとの PCR 用 DNA を調製したものである。PCR を用いたスクリーニングで、このバンクより目的遺伝子への Tc1 挿入突然変異体を得ることができる。またこの変異体からは、PCR スクリーニングにより、Tc1 の転移に伴い目的遺伝子の一部もしくは全部を欠失した突然変異体を得ることもできる。

本年度は、mutator 株 MT3126 の 192 プール (約 20,000 個体に相当) からなる突然変異体バンクより、いくつかの遺伝子での破壊を試みた。まず変異による表現型が致死であると知られている細胞膜レセプター *let-23* 遺伝子について Tc1 挿入突然変異体を得た。しかし挿入部位がイントロン内であったためか、致死性を示さなかった。この変異体より更に、細胞内キナーゼドメインに対応する C 末領域の欠失変異体を得たところ、この変異についてホモ接合体が現れなかった。このことからこの変異は劣性致死であることがわかり、この方法で致死変異体も分離、維持できることを確認できた。機能未知遺伝子への適用の試みとして、ホモオボックス配列を持つ *ceh-16*, *ceh-19*, *ceh-23* 遺伝子、Wnt ホモログである *wnt-1*, *wnt-2* 遺伝子を選び出した。これら遺伝子について Tc1 挿入変異体バンクを調べたところ、*ceh-19* 遺伝子を除く 4 遺伝子に対し、*wnt-1* 遺伝子への 3 変異体を含む計 6 変異体を得た。この内 *ceh-23*, *wnt-1* 遺伝子への各 1 変異体における Tc1 挿入部位はエキソン内であった。*ceh-23* 遺伝子については更に、N 端からホモオボックス前半部の欠失変異体を得た。これら変異体に生存率、形態、運動性での異常は見い出せず、更に詳しい表現型の解析が必要と思われる。今回分離した Tc1 挿入突然変異体を含め、この突然変異体バンクからは調べた 14 遺伝子の内 11 遺伝子について 12 変異体が分離され、調べた領域の約 3.4 kbp につき 1 変異体の頻度であった。また各プールに対応する DNA の PCR によるスクリーニングの結果は、上記の他ほぼ同数の Tc1 挿入突然変異体の存在を示唆しており、実際の Tc1 挿入頻度はこの 2 倍までが期待される。

### G-e. 遺伝子機能研究室

当室では、遺伝子の塩基配列やタンパク質のアミノ酸配列を通してみた遺伝子や生物の進化についての研究を進めている。その具体例として、以下にグルタミン合成酵素遺伝子の進化の研究結果を紹介する。

グルタミン合成酵素遺伝子の分子進化：グルタミン合成酵素 (GS) は、生命活動の中核となる窒素代謝に必須な酵素である。GS は、グルタミンを生成する唯一の酵素であるだけでなく、プリンやピリミジンの生成にも関与している。動物では不用窒素化合物の廃棄に、植物では pH の調節にも欠かせない酵素である。これらの事実は、GS 遺伝子が非常に長い進化を経てきていることを示唆している。GS には約 550 のアミノ酸からなる原核型 (GSI) と約 400 のアミノ酸からなる真核型 (GSII) があるが、最近原核生物にも GSII が存在することが分かってきた。一方、真核生物が GSI をもっているという報告は未だない。

さて、本研究では、これらの知見をもとにして、この遺伝子はどの位前に誕生したのか、どのような進化を経てきたのか等の問題を解明し、真核生物と原核生物の分岐以前の進化に迫ることを目的とした。

私達は先ず放線菌の一種である *Streptomyces viridochromogenes* の GSI 遺伝子の配列を決定した。これにより、同じ種の GSI と GSII 両遺伝子の塩基配列が初めて明らかになった。次に、DNA データバンクから全ての GS 遺伝子の塩基配列を抽出し、アミノ酸配列に変換してアラインメントを行った。私達の配列を含めて、種々の生物種から合計 30 の GS がアラインメントされた。*Salmonella typhimurium* の GS では特定の 4 箇所の部分配列が活性中心を構成しているが、この 4 箇所が全ての配列について共通することが分かった。つまり、他の種の GS も同じような活性部位をもっていることがほぼ確実となった。そして、このこととアミノ酸配列の相同性が高いことから、全ての GS 遺伝子は共通の祖先から分化してきたことが歴然となった。上記 *Salmonella typhimurium* の GSI の単体高次構造はすでにわかっているが、今回得られた結果は、GSII の単体高次構造も GSI とよく似ていることを示している。

また、4 箇所の機能的に重要な部位のアミノ酸配列が進化過程でよく保存されていることが明らかになった。また、コドンの第 3 番目での塩基置換率が他に比べて非常に高くなっていることも分かった。これらのことは、この遺伝子が中立突然変異によって進化してきたことを物語るだろう。

さらに、アラインメントの結果から欠失部を除きそれぞれの組み合わせについて塩基置換数を求め、30 の遺伝子についての遺伝子系統樹を推定した。中立進化する遺伝子は、時間に比例して塩基置換数を増やしていくことが分かっているので、得られた系統樹から分岐時間の推定ができる。このためには、基準分岐時間の設定が必要であるが、ここでは植物と動物の分岐時間 12 億年を基準とした。その結果、系統樹は、哺乳類の分岐、鳥類の分岐、原核生物と真核生物の分岐について従来の推定値と合致する推定時間を示した。

さて、この系統樹は、GSI と GSII 遺伝子の遺伝子重複が真核生物と原核生物の分岐以

前に起こったことを示しており、真核生物も GSI 遺伝子をもっていることを予測している。ただし、GSII 遺伝子だけあれば生存に充分なので、GSI 遺伝子は儀遺伝子化している可能性もある。あるいは、進化の初期段階で失われたか、この決着はもちろん実験によってつけられるが、このような議論は分子系統学によって可能となる。

さらに興味あることに、この系統樹は GSI と GSII 遺伝子の遺伝子重複が 35 億年前に遡ることを示した。原核生物と真核生物の分岐の 10 億年以前である。38 億年前に既に生命体が存在していたという報告もあるので、この推定値は、大きな推定誤差はあるにしても、全くでたらめでもないと思われる。また、そんな昔に GS のような大きな分子存在していたとは考えにくいかも知れないが、現在のような複雑な形ではないにしても原核生物と真核生物の分岐以前に誕生したことは確かであろう。つまり、GS は現在機能している遺伝子の中で最も古い遺伝子の一つであるといえる。

いま仮に原核生物と真核生物の直接の祖先を前原核生物 (Preprokaryote) と呼ぶと、この生物は、現在のように巧妙な手段ではないにしても、何らかの形で窒素代謝を行っていたといえる。今までの遺伝子や生物種の進化の研究は、ほとんど原核生物と真核生物の分岐以降を対象としてきている。しかし、前原核生物の進化が解明されない限り、生命の起源から現在に至るまでの生物進化の道筋が理解されたとはいえない。この方面の研究が進めば、生命の科学的理解が飛躍的に促進するであろう。

ここで紹介した仕事は、新たに台頭してきている生命情報学分野における研究と捉えることができる。この学問の誕生には、DNA の配列情報が世界的な協調のもとで収集され、評価・編集された後、世界の研究者に研究資料として還元されるというシステム (国際 DNA データバンク) がうまく働いてきていることが大きなきっかけとなっている。そして、DNA データの急激な増加がこれにはずみをつけたものと思われる。

当研究室も国際 DNA データバンクの一翼 (DNA Data Bank of Japan, DDBJ) を担う研究活動に参画しているので、この活動を通して世界の研究室から時々刻々と入ってくる新しいデータを研究に利用できる。例えば、上記 GS の DNA 情報についても、研究の各段階で新たな生物種についてこの遺伝子が国際データバンクに登録されていないか検索することができる。このようにして、ほとんど real time で情報を検索しながら研究を進めることが可能となる。

## H. 放射線アイソトープセンター

当センターでは放射線施設の管理運営に携わるかたわら、細胞分化を行う枯草菌を用いて遺伝子の自己保全性と機能発現に関する以下のような研究を行っている。人事面では平成 6 年 4 月より福山大学から藤田昌也が助手として着任し、微生物細胞の分化における転写制御の研究を開始した。以下の研究は、東京農工大学・小林泰夫教授、筑波大学・山根國男教授、福山大学・藤田泰太郎教授との共同研究である。

枯草菌はグラム陽性の孢子形成菌で分子遺伝解析が非常に進んだバクテリアであり、菌体外に大量の蛋白を分泌するため有用微生物としても知られている。枯草菌に形質転換が

発見され、これを用いて詳細な遺伝子解析がなされると共に染色体複製の遺伝的方向が決定されるにおよび、多くの研究者が分子遺伝学の好材料として枯草菌を用いるようになった。なかでも枯草菌胞子形成の分子遺伝学は微生物で分化の機構を研究できるため特に注目を集めていたが、永い準備年月を経てようやく細胞分化の分子遺伝学として市民権を得たようである。この生物では炭素源や窒素源の枯渇による増殖の抑制がシグナル伝達を経て新しい転写制御因子の誘導合成を促し不等分裂と細胞機能の分化を引き起こす。シグナル伝達、転写制御因子の誘導合成、細胞分化といった現象の裏にはカタボライトリプレッション、緊縮制御、染色体複製、修復、細胞分裂、蛋白分泌、形質転換、遺伝子組み換え、分子シャペロンといった古くからの難問がからんでいることがしだいに明らかにされつつあり、細胞分化のプロトタイプである胞子形成を理解するためにはいままでの分子遺伝学上の知見を総動員しなければならなくなってきている。一方日欧を中心として全ゲノムの配列決定のプロジェクトが進行中であり、枯草菌はまさに細胞分化する微生物の代表としての地位を揺るぎないものとしつつあり、1つの細胞の全機能の解明がなされようとしている。当研究室では、この生物の特長を利用して遺伝子の自己保全性と機能発現機構の研究を行っている。

#### (1) 枯草菌の胞子形成における転写制御に関する研究 (藤田, 定家)

枯草菌は生育環境の栄養源の枯渇にともない生育を停止し、もとの細胞(栄養細胞、のちの母細胞)とは形態的に異なる胞子の形成を行う。この過程には、約50個の遺伝子(胞子形成遺伝子)が関与する。枯草菌の胞子形成は単細胞レベルでの細胞分化のモデル系として研究されている。日欧米の研究グループの長年にわたる精力的な研究の結果、胞子形成のシグナル(最初のシグナルの実体は不明)は、制御の最上流に位置するKinA, KinB, KinCの3つのキナーゼおよび、その下流に位置するSpo0F→Spo0B→Spo0Aへのリン酸リレーにより、転写因子としてのSpo0Aの活性化に至ることが明らかになった。一方、実際に転写を担うRNAポリメラーゼに注目すると、栄養増殖期(対数増殖期)に発現する遺伝子は主要シグマ因子 $\sigma^A$ を含むRNAポリメラーゼによって転写される。引き続き、胞子形成が開始(即ち栄養源の枯渇にともなう増殖の停止;定常期)すると、まず胞子形成期特異的シグマ因子 $\sigma^H$ が活性化し、次いで、 $\sigma^E, \sigma^F, \sigma^G, \sigma^K$ が母細胞あるいは胞子特異的に逐次的に活性化され胞子形成遺伝子の転写がなされる。ごく初期の胞子形成遺伝子(*spo0*)の転写は、正および負の転写因子Spo0AとAbrB、シグマ因子 $\sigma^A$ と $\sigma^H$ により、厳密に発現制御されている。

当研究室では、上記の事実を踏まえ、蛋白質因子と遺伝子間のコミュニケーション、あるいは遺伝子間の発現ネットワークについて分子レベルで明らかにするため、遺伝学および生化学的手法による研究を開始した。本年度は、まず、枯草菌*in vitro*転写系の構築を目指し、必要な因子の精製と検定を行った。枯草菌の栄養増殖期細胞よりRNAポリメラーゼホロ酵素E $\sigma^A$ 、胞子形成開始3時間後の細胞よりE $\sigma^E$ を精製した。あわせて、大腸菌の大量発現系を用いて $\sigma^A, \sigma^H$ を精製した。転写の鋳型プロモーターDNAとしては、現在までに報告されている遺伝子のうち、 $\sigma^A, \sigma^E, \sigma^H$ に依存する(と推定される)ものをPCR

で増幅して用いた。その結果、RNA ポリメラーゼ以外の転写因子を要求しないプロモーターについてはその転写強度の測定が可能になった。胞子形成初期遺伝子 *abrB* については  $E\sigma^A$  の転写系にて、Spo0A が負に作用することを明らかにした。一方、 $E\sigma^E$  に依存する胞子形成中期遺伝子のプロモーターについて転写因子 SpoIIID の影響を調べたところ、胞子形成期特異的な染色体再構成を司る DNA 組換え酵素の遺伝子 *spoIVCA* は正の制御を、大腸菌 FtsW 及び RodA と相同性を持つ蛋白質遺伝子 *spoVE* は負の制御を受けることを明らかにした。

### (2) 枯草菌 *secA* の胞子形成における役割の研究 (定家, 藤田)

枯草菌 *secA* は蛋白分泌のみならず、細胞分裂、胞子形成、形質転換、胞子発芽後成長に深くかかわっていることが、温度感受性変異株 *secA341* の解析から明らかになっている。この遺伝子は少なくとも *prfB* (peptide releasing factor B) とオペロンを形成している。このオペロンの転写開始点を S1 マッピング法で決めたところ翻訳開始点から 110b 上流であった。in vitro の転写では  $\sigma^A$  依存であった。以前このオペロンの転写開始点を S1 マッピングと逆転写酵素法で決めたが、開始点は今回のものより下流であった。このときに抽出した mRNA はリゾチーム法であったため、調製段階で 5' 端が急速かつ特異的に分解されたと考えられる。新しく同定された開始点からの転写は胞子形成期に入ると減衰するが、SecA 蛋白を SecA 抗体で調べると常時存在していることが分かった。胞子形成期にはいと SecA の翻訳レベルの誘導がかかるのか、SecA 蛋白の寿命が長くなるのかいまのところ分からない。温度感受性 SecA341 蛋白の寿命は 37°C において野生株のものより極端に短い。恐らく細胞内で蛋白分解酵素の消化を受けやすいのであろう。

37°C で温度感受性変異株 *secA341* は胞子形成を示さない。T3 期以降に温度上昇 (30°C から 37°C へ) させると胞子形成するので胞子形成には SecA 蛋白が T3 期までは必要であることが分かった。すなわち転写が減衰しても SecA 蛋白がすくなくとも T3 期までは存在することが必要である。さらに 37°C における温度感受性変異株 *secA341* での *kinA*, *spo0A*, *spolIG*, *spolIIG*, *spo0H* の転写を *lacZ* リポーターで観察すると *spo0H* の転写は見られたがそれ以外の遺伝子の転写は見られなかった。これらの遺伝子群の発現にはリン酸化型 Spo0A 蛋白と  $\sigma^H$  蛋白が必要であるので、SecA 蛋白は  $\sigma^H$  蛋白が作動する時に必要であると解釈すれば説明がつく。このことは 37°C における温度感受性変異株 *secA341* の多面的な欠損を従来から知られていた SecA の機能である蛋白局在化能の欠損だけでなく、 $\sigma^H$  の機能欠損によって説明できるかも知れない。目下  $\sigma^H$  蛋白の機能に SecA 蛋白がどのようにからんでいるのか解明中である。

### (3) 枯草菌ゲノム解析 (定家, 谷田, 藤田)

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り、当研究室も *sigB-cotA* 領域のシーケンスを担当している。Long and Accurate PCR 法により pNEXT26-*rrmE*-pSOFT8 間の方向が分かり、*phoAIII* (*phoB*) 遺伝子は染色体複製方向と逆向きであることが分かった。*rrmE* の遺伝子群と pSOFT8 上の glycoprotease の遺伝子は順方向であることが分かった。目下この領域

50 kb をシーケンス中である。

## I. 実 験 圃 場

実験圃場は植物関連研究の圃場、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、実験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・宮林の各技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

- Gotoh, H., Shiroishi, T. and Moriwaki, K.: Genetic Manipulation of a lethal mutation associated with steroid 21-hydroxylase deficiency in mice. In "Genetics in Wild Mice" (Moriwaki, K., Shiroishi, T. and Yonekawa, H. eds.), pp. 153-158, Japan Sci. Soc. Press/Karger, Tokyo/Basel, 1994.
- 広瀬 進: クローン化した DNA の突然変異操作. 分子生物学プロトコール (小池克郎ほか編), pp. 191-198, 南江堂, 1994.
- 広瀬 進: 転写産物の解析. 分子生物学プロトコール (小池克郎ほか編), pp. 217-220, 南江堂, 1994.
- 宝来 聡: 遺伝子からみた日本人. 学振新書「先史モンゴロイドを探る」, 赤沢 威編, 日本学術振興会, 53-68, 1994.
- 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.), in press.
- Kanno, R., Mizutani, Y., Saitou, N., Koseki, H., Makino, Y., Adachi, Y., Akasaka, T., Kanno, M., Shiroishi, T., Moriwaki, K. and Taniguchi, M.: Evolution of Va14 TCR gene family in mice. In "Genetics in Wild Mice" (Moriwaki, K., Shiroishi, T. and Yonekawa, H. eds.), pp. 193-202, Japan Sci. Soc. Press/Karger, Tokyo/Basel, 1994.
- Kitakami, H., Tateno, Y. and Gojobori, T.: Toward unification of taxonomy databases in a distributed computer environment. In "Proceedings of the Second International Conference on Intelligent System for Molecular Biology" (R. Altman, D. Brutlag, P. Karp, R. Lathrop, and D. Searls, eds.), pp. 227-235, AAAI Press, Menlo Park, California, 1994.
- 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. In "Advances in Molecular Bioinformatics" (S. Schulze-Kremer ed.), pp. 123-138, IOS Press, Amsterdam, 1994.
- 小原 雄治: 線虫 *C. エレガンス* の細胞死の遺伝子カスケード, 「アポトーシスの分子医学」(橋本嘉幸, 山田 武編) pp. 26-36. 羊土社, 印刷中.
- Morishima, H.: Polymorphism of bacterial blight resistance in the populations of

- wild and cultivated rice: A lesson from natural-ecosystems. In "Toward Enhancement and Sustainable Agricultural Productivity in the 2000s: Breeding Research and Biotechnology. (S. C. Hsieh, ed.) pp. 139-144 SABRAO, Taipei, 1994.
- 森脇和郎: シンテニーマップ、疾患モデルマウス・マニュアル, (山村研一, 勝木元也, 相沢慎一編), 中山書店, 1994.
- 森脇和郎: トランスジェニックマウスの命名法. 疾患モデルマウス・マニュアル, (山村研一, 勝木元也, 相沢慎一編), 中山書店, 1994.
- Obata, Y.: TL genes in Asian wild mice: The evolutionary conserved nonclassical class I genes of the major histocompatibility complex. In "Genetics in Wild Mice" (Moriwaki, K., Shiroishi, T. and Yonekawa, H. eds.), pp. 159-178, Japan Sci. Soc. Press/Karger, Tokyo/Basel, 1994.
- Ohta, T.: Early evolution of genes and genomes. In "Early Life on Earth" (Bengtson, S. ed.), pp. 135-142, Columbia Univ. Press, 1994.
- 奥村克純: 「FISH実験プロトコール—ヒト・ゲノム解析から染色体、遺伝子診断まで—」. 第2部第10章 YAC を含むトータル Yeast DNA をプローブとする FISH 法: 124-127. 第2部第12章冷却 CCD カメラを用いた FISH 法: 137-142. 第2部第14章 DNA ファイバーを用いた近接クローンの解析: 151-154. 第3部第7章 FISH 法を用いた DNA 複製時期の判定: 211-215. 松原謙一, 吉川 寛編, 細胞工学, 別冊, 秀潤社(1994).
- Sagai, T., Sakaizumi, M., Miyashita, N. Shiroishi, T. and Moriwaki, K.: The Polymorphism of the H-2 class I antigen in Japanese wild mouse. In "Genetics in Wild Mice" (Moriwaki, K., Shiroishi, T. and Yonekawa, H. eds.), pp. 1131-1140, Japan Sci. Soc. Press/Karger, Tokyo/Basel, 1994.
- 斎藤成也: モンゴロイド諸集団の遺伝的近縁関係. 赤澤 威編, 『先史モンゴロイドを探る』(学術新書), 11-25 頁. 日本学術振興会, 東京, 1994.
- 斎藤成也: 人類の分子進化. 今泉洋子編, 『人間の遺伝学入門』第8章, 139-153 頁. 培風館, 東京, 1994.
- 斎藤成也: 空の世界—中立論からみた生物進化. 盛永宗興編, 『禅と生命科学』, 237-262 頁. 紀伊國屋書店, 東京, 1994.
- 瀬野悞二: 核と DNA: ユビキチンと細胞周期「Annual Review 細胞生物学」(矢原一郎ら編), pp. 20-31. 中外医学社, 1994.
- 嶋本伸雄編著: ナノバイオロジー入門 時間と空間の生物学, 講談社, 1994.
- Shiroishi, T., Koide, T., Yoshino, M., Sagai, T. and Moriwaki, K.: Hotspots of homologous recombination in mouse meiosis. Adv. Biophysics. vol. 31, pp. 119-131, Japan Sci. Soc. Press/Elsvier, Tokyo/Limerick, 1994.
- Shiroishi, T., Sagai, T. and Moriwaki, K.: Recombinational hotspots in H-2 haplotypes



derived from Asian wild mouse. In "Genetics in Wild Mice" (Moriwaki, K., Shiroishi, T. and Yonekawa, H. eds.), pp. 141-152, Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Basel, 1994.

Takahata, N. (eds.): *Motoo Kimura. Selected Papers on Population Genetics and Molecular Evolution*. The Chicago University Press, 1994.

Takahata, N.: Polymorphism at MHC loci and isolation by the immune system in vertebrates. In *Non-neutral Evolution*, (Golding, B. ed.): Theories and Molecular Data. Chapman and Hall, 1994.

Takahata, N. and Kimura, M.: The Neutral Theory of Molecular Evolution. In *Principles of Medical Biology*, Vol. 1B, Bioethics, (Bitter, E. E. and Bittar, N. eds.), pp. 203-232, JAI Press Inc., Connecticut, 1994.

館野義男, 山崎由紀子: 「分子の進化」(翻訳), 広川書店, 1994.

館野義男: 太古遺伝子の分子系統学, 蛋白質・核酸・酵素 臨時増刊号「エボルーション」, 39, 2715-2723, 1994.

## 2) 論文

Abo, T. and Ohtsubo, E.: Characterization of the functional sites in the *oriT* region involved in DNA transfer promoted by sex factor plasmid R100. *J. Bacteriol.*, in press, 1995.

Akaza, T., Imanishi, T., Fujiwara, K., Tokunaga, K., Juji, T., Yashiki, S. and Sonoda, S.: HLA allele and haplotype frequencies in Japanese. *Transplantation Now*, 7, s87-s99, 1994 (in Japanese).

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.

Aramaki, H., Fujita, M., Sagara, Y., Amemura, A. and Horiuchi, T.: Heterologous expression of the cytochrome P450 cam hydroxylase operon and the repressor gene of *Pseudomonas putida* in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 123, 49-54, 1994.

Ariyoshi, M., Vassilyev, D. G., Iwasaki, H., Nakamura, H., Shinagawa, H. and Morikawa, K.: Atomic structure of the RuvC resolvase: a Holliday junction-specific endonuclease from *E. coli*. *Cell*, 78, 1063-1072, 1994.

Asano, Y., Mizumoto, K., Maruyama, T. and Ishihama, A.: Photoaffinity labeling of influenza virus RNA polymerase PB1 subunit with 8-azido GTP. *J. Biochem.*, 117(3), 677-682, 1995.

Attey, A., Belyaeva, T., Savery, N., Hoggett, J., Fujita, N., Ishihama, A. and Busby, S.: Interactions between the cyclic AMP receptor protein and the alpha

- subunit of RNA polymerase at the *Escherichia coli* galactose operon *PI* promoter. *Nucleic Acids Res.*, **22**(21), 4375-4380, 1994.
- Blank, M., Blank, A., King, S., Yashiki, S., Kuwayama, M., Fujiyama, C., Gongora, D., Zaninovic, V., Cranston, B., Hanchard, B., Imanishi, T., Manns, A., Blattner, W. A., Tajima, K., Hayami, M., Fujiyoshi, T. and Sonoda, S.: Distribution of HLA antigens and haplotypes of Colombian and Jamaican black populations. *Tissue Antigens*, **45**, 111-116, 1995.
- Busby, S., West, D., Lawes, M., Webster, C., Ishihama, A. and Kolb, A.: Transcription activation by the *Escherichia coli* cyclic AMP receptor protein: Receptors bound in tandem at promoters can interact synergistically. *J. Mol. Biol.*, **241**, 341-352, 1994.
- Chiquet-Ehrismann, R., Hagios, C. and Matsumoto, K.: The tenascin-like gene family. *Perspect. Dev. Neurobiol.*, **2**, 3-7, 1994.
- Ding, Q., Kusano, S., Villarejo, M. and Ishihama, A.: Promoter selectivity control of *Escherichia coli* RNA polymerase: Differential recognition of osmoregulated promoters between  $E\sigma^D$  and  $E\sigma^S$  holoenzymes. *Mol. Microbiol.*, **16**(4), 649-656 (1995).
- Claudine Fraipont, Maggy Adam, Martine Nguyen-Distèche, Wolfgang Keck, Jozef van Beeumen, Juan A. Ayala, Bent Granier, Hiroshi Hara, and Jean-Marie Ghuysen: Engineering and overexpression of periplasmic forms of the penicillin-binding protein 3 of *Escherichia coli*. *Biochem. J.*, **298**, 189-195, 1994.
- Fujita, M., Tanaka, K., Takahashi, H. and Amemura, A.: Transcription of the principal sigma-factor genes, *rpoD* and *rpoS*, in *Pseudomonas aeruginosa* is controlled according to the growth phase. *Mol. Microbiol.*, **13**, 1071-1077, 1994.
- Fujita, N., Mori, H., Yura, T. and Ishihama, A.: Systematic sequencing of the *Escherichia coli* genome: analysis of the 2.1-4.1 min (110,917-193,643bp) region. *Nucleic Acids Res.*, **22**(9), 1637-1639, 1994.
- Fukagawa, T., Sugaya, K., Matsumoto, K., Okumura, K., Ando, A., Inoko, H. and Ikemura, T.: A boundary of long-range G+C % mosaic domains in the human MHC locus; pseudoautosomal boundary-like sequence exists near the boundary. *Genomics*, **25**, 184-191, 1995.
- Fuse, N., Hirose, S. and Hayashi, S.: Diploidy of *Drosophila* imaginal cells is maintained by a transcriptional repressor encoded by *escargot*. *Genes Dev.*, **8**, 2270-2281, 1994.
- 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*, **344**, 411–415, 1994.
- 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.*, **69**, 481–488, 1994.
- Goto, Y., Tsugane, K., Tanabe, Y., Nonaka, I. and Horai, S.: A new point mutation at nucleotide pair 3291 of the mitochondrial tRNA<sup>Leu</sup>(UUR) gene in a patient with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **202**(3), 1624–1630, 1994.
- Gotoh, H., Kusakabe, M., Shiroishi, T. and Moriwaki, K.: Survival of steroid 21-hydroxylase-deficient mice without endogenous corticosteroids after neonatal treatment and genetic rescue by transgenesis as model system for treatment of congenital adrenal hyperplasia in humans. *Endocrinology*, **135**, 1470–1476, 1994.
- Greenstein, D., Hird, S., Plasterk, R. H. A., Andachi, Y., Kohara, Y., Wang, B., Finney, M. and Ruvkun, G.: Targetted mutations in the *Caenorhabditis elegans* POU homeo box gene *ceh-18* cause defects in oocyte cell cycle arrest, gonad migration, and epidermal differentiation. *Genes and Devel.*, **8**, 1935–1948, 1994.
- Harada, K., Kinoshita, A., Ab Shukor, N. A., Tachida, H. and Yamazaki, T.: Genetic variation estimated in three *Shorea* species by the RAPD analysis. *Jpn. J. Genet.*, **69**, 713–718, 1994.
- Hashimoto, M., Kinoshita, T., Yamasaki, M., Tanaka, H., Imanishi, T., Ihara, H., Ichikawa, Y. and Fukunishi, T.: Gene frequencies and haplotypic associations within the HLA region in 916 unrelated Japanese individuals. *Tissue Antigens*, **44**, 166–173, 1994.
- Hatta, M. and Takeichi, M.: Complex Cell Type-Specific Transcriptional Regulation by the promoter and an Intron of the Mouse P-Cadherin Gene. *Develop. Growth and Differ.*, **36**, 509–519, 1994.
- Hattori, Y., Goto, Y., Sakuta, R., Nonaka, I., Mizuno, Y. and Horai, S.: Point mutations in mitochondrial tRNA genes: sequence analysis of chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO). *J. Neurol. Sci.*, **125**, 50–55, 1994.
- Hayashizaki, Y., Shibata, H., Hirotsune, S., Sugino, H., Okazaki, Y., Sasaki, N., Hirose, K., Imoto, H., Okuizumi, H., Muramatsu, M., Komatsubara, M., Shiroishi, T., Moriwaki, K., Katsuki, M., Hatano, N., Sasaki, H., Ueda, 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 Genet.*, **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.*, **237**, 388-400, 1994.
- Higashitani, A., Higashitani, N. and Horiuchi, K.: A cell division inhibitor SulA of *Escherichia coli* directly interacts with FtsZ through GTP hydrolysis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press.
- Higashitani, A., Higashitani, N., Yasuda, S. and Horiuchi, K.: A general and fast method for mapping mutations on the *Escherichia coli* chromosome. *Nucleic Acids Res.*, **22**, 2426-2427, 1994.
- Hirai, H., Yamamoto, M.-T., Ogura, K., Satta, Y., Yamada, M., Taylor, R. W. and Imai, H. T.: Multiplication of 28S rDNA and NOR activity in chromosome evolution among ants of the *Myrmecia pilosula* species complex. *Chromosome*, **103**, 171-178, 1994.
- 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.
- Hirano, H.-Y., Tabayashi, N., Matsumura, T., Tanida, M., Komeda, Y. and Sano, Y.: Tissue-dependent expression of the rice *wx*<sup>+</sup> gene promoter in transgenic rice and petunia. *Plant Cell Physiol.*, **36**, 37-44, 1995.
- Imai, H. T., Taylor, R. W. and Crozier, R. H.: Experimental bases for the minimum interaction theory. I. Chromosome evolution in ants of the *Myrmecia pilosula* species complex (Hymenoptera: Formicidae: Myrmeciinae). *Jpn. J. Genet.*, **69**, 137-182, 1994.
- Imai, S., Okumoto, M., Iwai, M., Haga, S., Mori, N., Miyashita, N., Moriwaki, K., Hilgers, J. and Sarkar, N. H.: Distribution of mouse mammary tumor virus in asian wild mice. *J. Virol.*, **68**, 3437-3442, 1994.
- Ina, Y.: ODEN: a program package for molecular evolutionary analysis and database search of DNA and amino acid sequences. *Comput. Applic. Biosci.*, **10**, 11-12, 1994.
- Ina, Y. and Gojobori, T.: Statistical analysis of nucleotide sequences of the hemagglutinin gene of human influenza A viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **91**, 8388-8392, 1994.
- Ina, Y., Mizokami, M., Ohba, K. and Gojobori, T.: Reduction of synonymous substitutions in the core protein gene of hepatitis C virus. *J. Mol. Evol.*, **38**, 50-

56, 1994.

- Inamoto, S., Fukuda, H., Abo, T. and Ohtsubo, E.: Site- and strand-specific nicking at *oriT* of plasmid R100 in a purified system: Enhancement of the nicking activity of TraI (Helicase I) with TraY and IHF. *J. Biochem.*, **116**, 838-844, 1994.
- Ishibashi, K., Sasaki, S., Fushimi, K., Uchida, S., Kuwahara, M., Saito, H., Furukawa, T., Nakajima, K., Yamaguchi, Y., Gojobori, T. and Marumo, F.: Molecular cloning and expression of a member of the aquaporin family with permeability to glycerol and urea in addition to water expressed at the basolateral membrane of kidney collecting duct cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 6269-6273, 1994.
- Ishihama, A. and Barbier, P.: Molecular anatomy of viral RNA-directed RNA polymerases. *Arch. Virol.*, **134**, 235-258, 1994 (review).
- Ishikawa, Y., Tokunaga, K., Lin, L., Imanishi, T., Saitou, S., Kimura, A., Kashiwase, K., Akaza, T., Tadokoro, T. and Juji, T.: Sequences of four splits of HLA-A 10 group: Implications for serologic cross-reactivities and their evolution. *Human Immunology*, **39**, 220-224, 1994.
- Iwata, A., Tsuchiya, T., Ueda, S., Ishihama, A., Zhu, G.-S. and Hirai, K.: Nucleotide sequence and transcription organization of the tumor-associated genes from Marek's disease virus. *J. Virol.*, in press.
- Izuhara, K., Feldman, R. A., Greer, P. and Harada, N.: Interaction of the c-fes proto-oncogene product with the interleukin-4 receptor. *J. Biol. Chem.*, **269**, 18623-18629, 1994.
- Kadowaki, T., Kadowaki, H., Mori, Y., Tobe, K., Sakuta, R., Suzuki, Y., Tanabe, Y., Sakura, H., Awata, T., Goto, Y., Hayakawa, T., Matsuoka, K., Kawamori, R., Kamada, T., Horai, S., Nonaka, I., Hagura, R., Akanuma, Y. and Yazaki, Y.: A subtype of diabetes mellitus associated with a mutation of mitochondrial DNA. *New Eng. J. Med.*, **330**, 963-968, 1994.
- Kajitani, M., Kato, A., Wada, A., Inokuchi, Y. and Ishihama, A.: Regulation of the *Escherichia coli* *hfq* gene encoding the host factor for phage Q<sub>β</sub>. *J. Bacteriol.*, **176**(2), 531-534, 1994.
- Kamisugi, Y., Nakayama, S., Nakajima, R., Ohtsubo, H., Ohtsubo, E. and Fukui, K.: Physical mapping of the 5S ribosomal RNA genes on rice chromosome 11. *Mol. Gen. Genet.*, **245**, 133-138, 1994.
- Kanamaru, K., Kashiwagi, S. and Mizuno, T.: A copper-transporting P-type ATPase found in the thylakoid membrane of the cyanobacterium *Synechococcus* species PCC7942. *Mol. Microbiol.*, **13**, 369-377, 1994.

- Kashiwagi, S., Irie, J., Kanamaru, K. and Mizuno, T.: Cloning and Sequencing of a *Synechococcus* gene encoding a protein very similar to mammalian aldehyde dehydrogenase. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 2299–2300, 1994.
- Kato, A., Fujino, M., Nakamura, T., Ishihama, A. and Otaki, Y.: Gene organization of chicken anemia virus. *Virology*, **209**, 480–488, 1995.
- 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.
- Kawakami, Y., Sakuta, R., Hashimoto, K., Fujino, O., Fujita, T., Hida, M., Horai, S., Goto, Y. and Nonaka, I.: Mitochondrial myopathy with progressive decrease in mitochondrial tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> mutant genomes. *Ann. Neurol.*, **35**, 370–373, 1994.
- Kawase, E., Suemori, H., Takahashi, N., Okazaki, K., Hashimoto, K. and Nakatsuji, N.: Strain difference in establishment of mouse embryonic stem (ES) cell lines. *Int. J. Devel. Biol.*, **38**, 385–390, 1994.
- 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.
- Kimura, M., Fujita, N. and Ishihama, A.: Functional map of the alpha subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase: Deletion analysis of the amino-terminal assembly domain. *J. Mol. Biol.*, **242**(1), 107–115, 1994.
- Kimura, M. and Ishihama, A.: Functional map of the alpha subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase: Insertion analysis of the amino-terminal assembly domain. *J. Mol. Biol.*, **248**, 756–767, 1995.
- Kitakami, H., Tateno, Y. and Gojobori, T.: Toward unification of taxonomy databases in a distributed computer environment. "The Stanford conference, ISMB94". AAAI Press, pp. 227–235, 1994.
- Kobayashi, M., Toyoda, T., Adyshev, D. M., Azuma, Y. and Ishihama, A.: Molecular dissection of influenza virus nucleoprotein: Deletion mapping of the RNA binding domain. *J. Virol.*, **68**(12), 8433–8436, 1994.
- Kolb, A., Kotlarz, D., Kusano, S. and Ishihama, A.: Selectivity of the *Escherichia coli* RNA polymerase E $\sigma^{38}$  for overlapping promoters and ability to support CRP activation. *Nucleic Acids Res.*, **23**(5), 819–826, 1995.
- Koshimizu, U., Watanabe, M. and Nakatsuji, N.: Retinoic acid is a potent growth activator of mouse primordial germ cells *in vitro*. *Devel.*, **168**, 683–685, 1995.

- Kumar, A., Grimes, B., Fujita, N., Makino, K., Malloch, R. A., Hayward, R. S. and Ishihama, A.: Role of the  $\sigma^{70}$  subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase in transcription activation. *J. Mol. Biol.*, **235**(2), 405-413, 1994.
- Lawley, B., Fujita, N., Ishihama, A. and Pittard, A. J.: The TyrR protein of *Escherichia coli* is a class I transcription activator. *J. Bacteriol.* **177**, 238-241, 1995.
- Li, F. Q., Sun, G. C., Ueda, H. and Hirose, S.: Sequences of two cDNAs encoding silkworm homologues of *Drosophila melanogaster squid* gene. *Gene*, in press.
- Li, F. Q., Ueda, H. and Hirose, S.: Mediators of activation of fushi tarazu gene transcription by BmFTZ-F1. *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 3013-3021, 1994.
- Luo, J., Fujita, N., Ishihama, A. and Krakow, J. S.: Molecular anatomy of the  $\beta'$  subunit of *E. coli* RNA polymerase: Identification of the regions involved in assembly. *Biochemistry*, in press.
- Maekawa, T. and Ohtsubo, E.: Identification of the region that determines the specificity of binding of the transposases encoded by Tn3 and  $\gamma\delta$  to the terminal inverted repeat sequences. *Jpn. J. Genet.*, **69**, 269-285, 1994.
- Marie, S. K. N., Goto, Y., Passos-Bueno, M. R., Zats, M., Carvalho, A. A. S., Carvalho, M., Levy, J. A., Paulo, V. B., Campiotto, S., Horai, S. and Nonaka, I.: A Caucasian family with 3271 mutation in mitochondrial DNA. *Biochem. Med. Metabol. Biol.*, **52**, 136-139, 1994.
- Masuda, Y. and Ohtsubo, E.: Mapping and disruption of the *chpB* locus in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **176**, 5861-5863, 1994.
- Matsuda, Y., Moriwaki, K., Chapman, V. M., Hoi-Sen, Y., Akbarzadeh, J. and Suzuki, H.: Chromosomal mapping of mouse 5S rRNA genes by direct R-banding fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet.* **66**, 246-249, 1994.
- Matsumoto, K., Saga, Y., Ikemura, T., Sakakura, T., and Ehrismann R. C.: The distribution of tenascin-X is distinct and often reciprocal to that of tenascin-C. *J. Cell Biol.*, **125**, 483-493, 1994.
- Miura, T., Fukunaga, T., Igarashi, T., Yamashita, M., Ido, E., Funahashi, S., Ishida, T., Washio, K., Ueda, S., Hashimoto, K., Yoshida, M., Osame, M., Singhal, B. S., Zaninovic, V., Cartier, L., Sonoda, S., Tajima, K., Ina, Y., Gojobori, T. and Hayami, M.: Phylogenetic subtypes of human T-lymphotropic virus type I and their relations to the anthropological background. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 1124-1127, 1994.
- Mizokami, M., Gojobori, T. and Lau, J. Y. N.: Molecular Evolutionary Virology: Its

- Application to Hepatitis C. Virus. *Gastroenterology*, **107**, 1181-1182, 1994.
- Mizumoto, K., Muroya, K., Takagi, T., Omata-Yamada, T., Shibuta, H. and Iwasaki, K.: Protein factors required for in vitro transcription of Sendai virus genome. *J. Biochem.* **117**, 527-534 1995.
- Mizuta, K., Suzuki, H., Ina, Y., Yazaki, N., Sakamoto, M., Katsushima, N. and Numazaki, Y.: Six-year longitudinal analysis of adenovirus type 3 genome types isolated in Yamagata. *Japan. J. Med. Virol.*, **42**, 198-202, 1994.
- Morikawa, K., Ariyoshi, M., Vassilyev, D. G., Katayanagi, K., Nakamura, H., Doi, T., Horai, N. and Ohtsuka, E.: Crystal structure of T4 endonuclease V. in "DNA Damage" (Wallace, S. S., van Houten, B. and Kow, Y. W., ed.), pp. 198-207, The New York Academy of Sciences, New York, 1994.
- Morishima, H.: Observations at permanent study-sites in the suburb of Bangkok. *Tropics* **3**, 227-234.
- Morishima, H.: Rice in the Mekong delta. *Tropics* **3**, 211-216, 1994.
- Moriwaki, K.: Introductory remarks: Wild mouse from a geneticist's viewpoint. In "Genetics in Wild Mice" (Moriwaki, K., Shiroishi, T. and Yonekawa, H., eds.), pp. xiii-xxv, 1994.
- Moriwaki, K., Shiroishi, T. and Yonekawa, H. (Edt.): *Genetics in Wild Mice*, pp. 1-333, Japan Sci. Soc. Press. Tokyo/S. Karger, Basel, 1994.
- Murakami, A.: Growth Phenomena in *Bombyx mori* (L.) with a special reference to genetic factors responsible for growth acceleration and mouliticism (A review paper). *Indian J. Sericulture* **33**(1), 12-14, 1994.
- 村上昭雄: 無脊椎動物の成長と遺伝, 成長, **33**, 67-75, 1994.
- Murakami, T., Shimomura, Y., Fujitsuka, N., Nakai, N., Sugiyama, S., Ozawa, T., Sokaba, M., Horai, S., Tokuyama, K. and Suzuki, M.: Enzymatic and genetic adaptation of soleus muscle mitochondria to physical training in rats. *Am. J. Physiol.* **267** (Endocrinol. Metab. 30), 388-395, 1994.
- Nakagawa, Y., Kimura, N., Toyoda, T., Mizumoto, K., Ishihama, A., Oda, K. and Nakada, S.: The RNA polymerase PB2 subunit is not required for replication of the influenza virus genome but is involved in capped mRNA synthesis. *J. Virol.*, **69**, 728-733, 1995.
- 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, 1994.
- 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.
- Nakashima, H., Sakai, M., Inaba, R. and Imamura, T.: Dinucleotide repeat polymorphism at the D18S336 locus. *Hum. Mol. Genet.*, **3**, 390, 1994.
- Nakashima, H., Sakai, M., Inaba, R. and Imamura, T.: Isolation and fluorescence in situ hybridization mapping of 60 cosmid clones on human chromosome 18. *Genomics*, **19**, 577–580, 1994.
- Negishi, T., Fujita, N. and Ishihama, A.: Structural map of the alpha subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase: Structural domains identified by proteolytic cleavage. *J. Mol. Biol.*, **248**, 723–728, 1995.
- Newfeld, S. J., Tachida, H. and Yedvobnick, B.: Drive-selection equilibrium: Homopolymer evolution in the *Drosophila* gene mastermind. *J. Mol. Evol.*, **38**, 637–641, 1994.
- Nishimiya-Fujisawa, C., and Sugiyama, T.: Genetic Analysis of Developmental Mechanisms in Hydra: XX. Cloning of Interstitial Stem Cells Restricted to the Sperm Differentiation Pathway in *Hydra magnipapillata*. *Develop. Biol.*, **157**, 1–9, 1993.
- Obata, Y., Satta, Y., Moriwaki, K., Shiroishi, T., Hasegawa, H., Takahashi, Y. and Takahata, N.: The structure, function and evolution of mouse **TL** genes, nonclassical class I genes of the major histocompatibility complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 6589–6593, 1994.
- Ohara, M. and Shimamoto, Y.: Some ecological and demographic characteristics of two growth forms of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc). *Can. J. Bot.*, **72**, 486–492, 1994.
- Ohkubo, T., Sakashita, H., Sakuma, T., Kainosho, M., Sekiguchi, M. and Morikawa, K.: Methylation dependent functional switch mechanism newly found in the *Escherichia coli*. *J. Amer. Chem. Soc.*, **116**, 6035–6036, 1994.
- Ohno, C., Ueda, H. and Petkovich, M.: The *Drosophila* nuclear receptor FTZ-F1  $\alpha$  and FTZ-F1  $\beta$  compete as monomers for binding to a site in the *fushi tarazu* gene. *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 3166–3175, 1994.
- Ohta, T.: Further examples of evolution by gene duplication revealed through DNA sequence comparisons. *Genetics*, **138**, 1331–1337, 1994.
- Ohta, T.: On hypervariability at the reactive center of proteolytic enzymes and their inhibitors. *J. Mol. Evol.*, **39**, 614–619, 1994.
- Ohtsubo, H. and Ohtsubo, E.: Involvement of transposition in dispersion of tandem repeat sequences (TrsA) in rice genomes. *Mol. Gen. Genet.*, **245**, 449–455, 1994.
- 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.
- Onozawa, T., Danjo, I., and Fujiyama, A.: Biochemical Similarity of *Schizosaccharomyces pombe* ras1 Protein with RAS2 Protein of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, in press.
- Perriere, G., Gouy M. and Gojobori, T.: NRSUB: a non-redundant data base for the *Bacillus subtilis* genome. *Nucleic Acids Research*, **22**(25), 5525–5529, 1994.
- Sabramanya, G. and Murakami, A.: Climatic differential phenotypic expression of voltine genes in *Bombyx mori* L. *Indian J. Sericulture*, **33**(2), 000–000, 1994.
- Saitou, N., Omoto, K., Du, C. and Du, R.: Population genetic study in Hainan Island, China. II. Genetic affinity analyses. *Anthropol. Sci.*, **102**, 129–147, 1994.
- Saitou, N. and Ueda, S.: Evolutionary rate of insertions and deletions in non-coding nucleotide sequences of primates. *Mol. Biol. Evol.*, **11**, 504–512, 1994.
- Sakurai, T., Katoh, H., Moriwaki, K., Noguchi, T. and Noguchi, M.: The ter primordial germ cell deficiency mutation maps near Grl-1 on mouse chromosome 18. *Mammal. Genome*, **5**, 333–336, 1994.
- Sano, Y., Sano, R., Eiguchi, M. and Hirano, H.-Y.: Gamete eliminator adjacent to the *wx* locus as revealed by pollen analysis in rice. *J. Hered.* **85**, 310–312, 1994.
- Sassmuzz, E., Nakamura, T., Xuan, X., Ihara, T., Ishihama, A. and Ueda, S.: T cell epitope analysis of glycoprotein gIII of Pseudorabies virus. *J. Virol.*, in press.
- Satta, Y., O'hUigin, C., Takahata, N. and Klein, J.: Intensity of natural selection at the major histocompatibility complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 7184–7188, 1994.
- Savoysky, E., Mizuno, T., Sowa, Y., Watanabe, H., Sawada, J-I., Normura, H., Ohsugi, Y., Handa, H. and Sakai, T.: The retinoblastoma binding factor I (RBF-I) site in RB gene promoter binds preferentially E4TF1, a member of the Ets transcription factors family. *Oncogene*, **9**, 1839–1846, 1994.
- Sawada, J-I., Goto, M., Sawa, C., Watanabe, H. and Handa, H.: Transcriptional activation through the tetrameric complex formation of E4TF1 subunits. *EMBO J.*, **13**, 1396–1400, 1994.
- Sawamoto, K., Okano, H., Kobayakawa, Y., Hayashi, S., Mikoshiba, K. and Tanimura, T.: The function of argos in regulating cell fate decisions during the *Drosophila* eye and wing vein development. *Dev. Biol.* **164**, 267–276,

- 1994.
- Sekine, Y., Eisaki, N. and Ohtsubo, E.: Translational control in production of transposase and in transposition of insertion sequence IS3. *J. Mol. Biol.*, **235**, 1406-1420, 1994.
- Sekino, N., Sekine, Y. and Ohtsubo, E.: IS1-encoded proteins, InsA and the InsA-B'-InsB transframe protein (transposase): Functions deduced from their DNA-binding ability. *Adv. Biophys.*, **31**, 149-162, 1995.
- Shimizu, H. and Bode, H. R.: Nematocyte Differentiation in Hydra: Commitment to Nematocyte Type Occurs at the Beginning of the Pathway. *Dev. Biol.*, **169**, 136-150.
- Shimizu, H., Bode, P. M. and Bode, H. R.: Patterns of oriented cell division show that epithelial cells rearrange continuously in both layers of adult hydra. *Dev. Dynamics* (in press).
- Sharif, K. A., Fujita, N., Jin, R., Igarashi, K., Ishihama, A. and Krakow, J. S.: Epitope mapping and functional characterization of monoclonal antibodies specific for the  $\alpha$  subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *J. Biol. Chem.*, **269**, 23655-23660, 1994.
- 島田 順, 黄色俊一, 村上昭雄: カイコ幼虫斑紋によるクワコヤドリバエ寄生虫の相違, **63**(3), 235-239, 1994.
- Shin-i, T., Ikeo, K., Tateno, Y. and Gojobori, T.: DNA Data Bank of Japan and its bioinformatic activities. *The Biochemist* (in press)
- Song, K.-J., Nerurkar, V. R., Saitou, N., Lazo, A., Blakeslee, J. R., Miyoshi, M. and Yanagihara, R.: Genetic analysis and molecular phylogeny of simian T-cell lymphotropic virus type I: evidence for independent virus evolution in Asia and Africa. *Virology*, **199**, 56-66, 1994.
- Sudha, T., Tsuji, H., Sameshima, M., Matsuda, Y., Kaneda, S., Nagai, Y., Yamao, F. and Seno, T.: Abnormal integrity of nucleolus associated with cell cycle arrest owing to the temperature-sensitive ubiquitin-activating enzyme E1. *Chromosome Res.*, **3**, 115-123, 1995.
- Sugaya, K., Fukagawa, T., Matsumoto, K., Mita, K., Takahashi, E., Ando, A., Inoko, H. and Ikemura, T.: Three genes in the human MHC class III region near the junction with the class II: 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*, **23**, 408-419, 1994.
- Sugiyama, T.: Spontaneous Loss of Interstitial Stem Cells from Hydra Tissue. *Dev. Biol.*, **163**, 302-308, 1994.

- Sugiyama, T. and Wanek, N.: Genetic Analysis of Developmental Mechanisms in Hydra: XXI. Enhancement of Regeneration in a Regeneration-Deficient Mutant Strain by the Elimination of Interstitial Cell Lineage. *Dev. Biol.*, **160**, 64-72, 1993.
- Sumi, Y., Shiroya, T., Fujimoto, K., Wada, T., Handa, H. and Kawaguchi, H.: Application of cationic latex particles for protein purification. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2**, 419-427, 1994.
- 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.*, **162**, 426-437, 1994.
- Suzuki, K., Mizokami, M., Lau, J. Y. N., Mizoguchi, N., Kato, K., Mizuno, Y., Sodeyama, T., Kiyosawa, K. and Gojobori, T.: Confirmation of Hepatitis C Virus Transmission through Needlestick Accidents by Molecular Evolutionary analysis. *The Journal of Infectious Diseases*, **170**, 1575-1578, 1994.
- Tachida, H.: Decay of linkage disequilibrium in a finite island model. *Genet. Res.*, **64**, 137-144, 1994.
- Tajima, F. and Takezaki, N.: Estimation of evolutionary distance for reconstructing molecular phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, **11**, 278-286, 1994.
- Tajima, F., Tokunaga, T. and Miyashita, N. T.: Statistical methods for estimating the effective number of alleles, expected heterozygosity and genetic distance in self-incompatibility locus. *Jpn. J. Genet.*, **69**, 281-289, 1994.
- Takahashi, K., Hattori, T., Nakanishi, T., Nohno, 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.
- Takahata, N.: Comments on the detection of reciprocal recombination or gene conversion. *Immunogenetics*, **39**, 146-149, 1994.
- Takahata, N.: A genetic perspective on the origin and history of humans. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **26**, 343-372, 1995.
- Takahata, N.: MHC diversity and selection. *Immunological Review*, 1995 (in press).
- Takahata, N.: Repeated failures that led to the eventual success in human evolution. *Mol. Biol. Evol.*, **11**, 803-805, 1994.
- Takahata, N., Satta, Y. and Klein, J.: Divergence time and population size in the lineage leading to modern humans. *Theor. Popul. Biol.*, 1995 (in press).
- Takamatsu, H., Nakane, A., Oguro, A., Sadaie, Y., Nakamura, K. and Yamane, K.: A truncated *Bacillus subtilis* SecA protein consisting of the N-terminal 234 amino acid residues forms a complex with *Escherichia coli* SecA51 (ts) protein and complements the protein translocation defect of the *secA51*

- mutant. *J. Biochem.*, **116**, 1287–1294, 1994.
- Takamatsu, H., Nakane, A., Sadaie, Y., Nakamura, K. and Yamane, K.: The rapid degradation of mutant SecA protein in the *Bacillus subtilis secA341* (ts) mutant causes a protein translocation defect in the cell. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1845–1850, 1994.
- Tanaka, K., Kusano, S., Fujita, N., Ishihama, A. and Takahashi, H.: Promoter determinants for *Escherichia coli* RNA polymerase holoenzyme containing  $\sigma^{38}$  (the *rpoS* gene product). *Nucleic Acids Res.*, **23**(5), 827–834, 1995.
- Tateno, Y.: Evolution of glutamine synthetase genes is in accordance with the neutral theory of molecular evolution. *Jpn. J. Genet.* **69**, 489–502, 1994.
- Tenzen, T., Matsuda, Y., Ohtsubo, H. and Ohtsubo, E.: Transposition of *TnrI* in rice genomes to 5'-PuTAPy-3', duplicating the TA sequence. *Mol. Gen. Genet.*, **245**, 441–448, 1994.
- Tokunaga, K., Sideltseva, E. W., Tanaka, H., Uchikawa, C., Nieda, M., Sideltsev, V. V., Zhuravleva, E., Imanishi, T., Itoh, K., Akaza, T., Takahashi, K., Khalturin, V., Alexeev, L. P. and Juji, T.: Distribution of HLA antigens and haplotypes in the Buryat population of Siberia. *Tissue Antigens*, **45**, 98–102, 1995.
- Toriyama, S., Takahashi, M., Sano, Y., Shimizu, T. and Ishihama, A.: Nucleotide sequence of RNA 1, the largest genomic segment of rice stripe virus, the prototype of the tenuiviruses. *J. Gen. Virol.*, **75**, 3569–3579, 1994.
- Toyoda, T., Asano, Y. and Ishihama, A.: Role of GTPase activity of Mx1 protein in nuclear localization and antiviral activity. *J. Gen. Virol.*, in press.
- 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.*, **136**(3/4), 269–286, 1994.
- Toyoda, H., Koide, N., Kamiyama, M., Tobita, K., Mizumoto, K. and Imura, N.: Host factors required for internal initiation of translation on poliovirus RNA. *Archiv. Virol.*, **138**, 1–15, 1994.
- Ueshima, R., Horai, S. and Ishihama, A.: Introgression of mitochondrial DNA across a narrow hybrid-zone in land snails of the *Luchuphaedusa* (*Oophaedusa*) *ophydoon* species complex suggests in double hybridizations. *J. Mol. Evol.*, in press.
- Umetsu, K., Yuasa, I., Suzuki, T., Sun, C-Shan, Pan, I-Hung, Ishida, T., Saitou, N. and Horai, S.: Polymorphisms of complement component I and C1R sub-component of C1 in nine aboriginal Taiwanese populations. *Human*

- Biology, **66**(2), 339-348, 1994.
- Wang, W., Omori, M., Hayashibara, T., Shimoike, K., Hatta, M., Sugiyama, T. and Fujisawa, T.: Isolation and Characterization of a Mini-collagen Gene Encoding a Nematocyst Capsule Protein from a Reef-building Coral, *Acropora donei*. *Gene*, **152**, 195-200, 1995.
- Xuan, X., Nakamura, T., Ihara, T., Sato, I., Tuchiya, K., Noretto, E., Ishihama, A. and Ueda, S.: Characterization of pseudorabies virus glycoprotein gII expressed by recombinant baculovirus. *Virus Res.*, **36**, 151-161, 1995.
- Yasuda, J., Bucher, D. J. and Ishihama, A.: Growth control of influenza A virus by M1 protein: Analysis of transfectant viruses carrying the chimeric M gene. *J. Virol.*, **68**(12), 8141-8146, 1994.
- Yoshino, M., Kanai, Y., Kurohmaru, M., Azuma, S., Toyoda, Y., Goto, H., Moriwaki, K. and Hayashi, Y.: Fetal ovotestes in XX $\Rightarrow$ XY chimeric mice develop into testes in adults. *J. Reprod. Develop.*, **40**, 39-48, 1994.
- Yoshino, M., Sagai, T., Fischer Lindahl, K., Toyoda, Y., Shiroishi, T. and Moriwaki, K.: No dose effect of recombinational hotspots in the mouse MHC. *Immunogenet.*, **39**, 381-389, 1994.
- Yoshino, M., Sagai, T., Fischer Lindahl, K., Moriwaki, K. and Shiroishi, T.: Recombination in the class III region of the mouse major histocompatibility complex. *Immunogenet.*, **40**, 280-286, 1994.
- Zou, C., Fujita, N. and Ishihama, A.: Asymmetric arrangement of two alpha subunits within *Escherichia coli* RNA polymerase: Involvement of one alpha subunit in contact with cAMP receptor protein. *J. Mol. Biol.*, **236**, 1283-1288, 1994.

### 3) その他

- Akimoto, M., Ohara, M., Shimamoto, Y. and Morishima, H.: Genetic structure of natural populations of *Oryza glumaepatula* distributed in the Amazon basin. *Rice Genet. Newsl.*, **11**, 74-76, 1994.
- 新井 理, 五條堀 孝: DDBJ データベースと遺伝情報解析ソフトウェア, 蛋白質・核酸・酵素, **39**(11), 1927-1943, 1994.
- 檀上 稲穂, 藤山秋佐夫: バイオサイエンスライブラリーシリーズ, rab・羊土社.
- 藤山秋佐夫: 分子細胞生物学事典 (村松正實編), 分担執筆.
- 深川 竜郎, 菅谷 公彦, 中村 保一, 池村 淑道: DNA と染色体バンドレベルの進化の総合的理解. 蛋白質・核酸・酵素, 増刊「エボルーション」, **40**(15), 2490-2501, 共立出版, 1994.
- 五條堀 孝: 生命情報科学の発展と生物進化. FINIPED 79 号, 特集「情報と人体 II」, 5-9, 1994.

- 五條堀 孝, 池尾一穂: 分子進化時計, 別冊・数理科学「生命・情報・数理」, pp. 121-1261, 1994.
- 五條堀 孝, 池尾一穂: 遺伝情報からみた進化—ウイルス遺伝子からヒトゲノムまで. 蛋白質・核酸・酵素, 臨時増刊号「エボルーション」, 39(15), 2418-2426, 1994.
- 五條堀 孝, 岩槻邦男, 高畑尚之, 中辻憲夫編集: 蛋白質・核酸・酵素, 臨時増刊号「エボリューション」, 1994.
- 五條堀 孝, 清水恵美: 分子遺伝生態学入門—集団生物学と分子遺伝学の融合をめざして, 南江堂, 1994.
- 浜松千賀, 石浜 明: アンピセンス RNA をゲノムにもつイネ縞葉枯ウイルス. ウィルス, 44, 19-25, 1994.
- 早坂謙二, 宝来 聰: ミトコンドリア DNA の特徴. 「生体の科学」特集「ミトコンドリア」, 45(6), 659-667, 1994.
- 東谷篤志, 東谷なほ子, 堀内賢介: 大腸菌繊維状ファージの DNA 複製開始機構. 蛋白質・核酸・酵素, 39, 2189-2197, 1994.
- 宝来 聰: DNA を手掛かりとするヒト集団の進化と移動—アメリカ先住民はいつベーリンジアを渡ったか. 増刊号「エボルーション」「蛋白質・核酸・酵素」, 39(15), 387-396, 1994.
- 宝来 聰: ヒト上科ミトコンドリア DNA の全塩基配列の解析によるヒトの起源. 「Organ Biology」, 1(2), 19-27, 1994.
- 宝来 聰: PCR 直接シーケンス法. 「現代化学」増刊「遺伝子診断と遺伝子治療」, 23, 21-234, 1994.
- 宝来 聰: 全塩基配列からみたヒトミトコンドリア DNA の多型. 「臨床科学」, 30(4), 437-442, 1994.
- 今井弘民: 高等生物の染色体進化 (最小作用説). 蛋白質・核酸・酵素, 39, 108-117, 1994.
- 今村 孝: 血液疾患—サラセミア, 異常ヘモグロビン症. 日本臨床, 1994 年特別号, 629-633, 1994.
- 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.
- 石浜 明: 子孫へ伝える—遺伝情報の伝達—. 電子情報通信学会誌, 77, 2-6, 1994.
- 石浜 明: ウィルスに対する抵抗性. 第 8 回大学と科学公開シンポジウム, 67-76, 1994.
- 出原賢治, 原田登之: インターロイキン 4 とそのレセプター. 現代医療, 26, 3877-3882, 1994.
- 加畑博幸, 嶋本伸雄: DNA-タンパク質複合体の動態を探る. Molecular Electronics & Bioelectronics, 5, 251-262, 1994.
- 加畑博幸, 嶋本伸雄: ナノバイオテクノロジー—生体機構を直接目で見る技術. 臨床検

- 査, 38, 1322-1333, 1994.
- 桂 勳: 行動測定法概論. 生体の科学, 45, 602-605, 1994.
- 桂 勳: 線虫: 神経系変異. BRAIN MEDICAL, 6, 103-109, 1994.
- 小清水右一, 中 辻 憲 夫: 生殖巣の発生分化と生殖細胞形成関連のモデルマウス, マニュアル疾患モデルマウス (編集: 山村研一, 勝木元也, 相沢慎一), 168-174, 1994.
- Morishima, H. and Martins P. S.(ed.): Investigations of plant genetic resources in the Amazon basin with the emphasis on the genus *Oryza*. Special Rep., NIG, pp. 100, 1994.
- 森 脇 和 郎: いま何故マウスなのか? 生命の科学 (中山書店), 3(9), 4-5, 1994.
- Nakamura, Y., Fukagawa, T., Sugaya, K. and Ikemura, T.: Eptimation of protein-production levels for ORFs found by E. coli and yeast genome projects, basing on levels of "optimal codon" usage, in connection with feasibility of their protein coding ability and with assignment to foreign-type genes. "Proceeding Genome Informatics Wokshop Series No. 5" (Takagi, T. *et al.*, eds.), p. 243, Universal Academy Press, Inc. Tokyo, 1994.
- 中 辻 憲 夫: 遺伝子ターゲティングと形態形成研究. 遺伝別冊 6, 149-156, 1994.
- 中 辻 憲 夫: マウス初期胚発生の概略: マニュアル疾患モデルマウス (編集: 山村研一, 勝木元也, 相沢慎一), 22-29, 1994.
- Saitou, N.: A note on the neutralism. Jpn. J. Genet., 69, 503-512, 1994.
- 斎 藤 成 也: 分子系統進化学と分子系統樹作成法. 日本農芸化学会誌, 68, 72-74, 1994.
- 斎 藤 成 也: 塩基配列の挿入欠失による進化と突然変異のメカニズム. 蛋白質・核酸・酵素, 1994年11月号増刊「エボルーション」, 39(15), 2706-2714, 1994.
- 斎 藤 成 也: 遺伝子から見た人類集団. 週刊朝日百科「動物たちの地球」136号, 「広がりゆく人類集団」, 104-107, 1994.
- 颯 田 葉 子, 高 畑 尚 之: 分子で探る生物の進化 (集団遺伝学の視点から). 小学館, 1995 (印刷中).
- 嶋 本 伸 雄: ナノバイオロジーの目標と成立の背景, 蛋白・核酸・酵素, 39, 2-9, 1994.
- 嶋 本 伸 雄, 石 浜 明: DNA と相互作用する蛋白質. 蛋白・核酸・酵素, 39, 1202-1208, 1994.
- 嶋 本 義 也: 北海道に分布するツルマメーその生態と遺伝構造一, 東北大学遺伝生態研究センター通信, 25, 1-4.
- 城 石 俊 彦: マウス相同染色体間組換えのホットスポット, 生科学, 166, 1142-1145, 1994.
- Suh, H. S. and Morishima, H.: Classification of weed-rice strains based on isozyme variation. Rice Genet. Newsl., 11, 72-73, 1994.
- 高 畑 尚 之: 分子古人類学. 小学館, 1995 (印刷中).



- 高畑尚之: 人類進化の試行錯誤. 岩波書店「科学」, 1994.
- 高畑尚之: Motoo Kimura (Obituary). Immunogenetics, Journal of Evolutionary Biology, 蛋白質・核酸・酵素, 共立出版, 1994.
- 高畑尚之: 生命体の歴史的拘束性. 蛋白質・核酸・酵素, 増刊号「エボルーション」, 共立出版, pp. 2416-2417, 1994.
- 高畑尚之: 脊椎動物免疫系の起源と進化. 裳華房, 1995 (印刷中).
- 山口由美, 五條堀 孝: ヘテロ二本鎖 DNA の移動度分析により決定される遺伝的関係—HIV-1 の外被膜蛋白質遺伝子の解析. Medical Briefs in virus Infection, 7(3), 5-6, 1994.

## B. 発表講演

- Adyshev, D., 豊田哲也, 石浜 明: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子解剖: サブユニット間結合部位の同定. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 秋本正博, 大原 雅, 森島啓子, 島本義也: アマゾン河流域に分布する野生イネ *Oryza glumaepatula* の発芽特性. 平成 6 年度札幌農林学会作物部会, 札幌, 12 月.
- 安達佳樹, 小原雄治: トランスポゾン挿入異体バンクを用いた線虫の遺伝子破壊, 第 17 回日本分子生物学会年会, 1994 年 12 月 13 日, 神戸.
- Aoki, F., Sudha, T., Kishi, T. and Seno, T.: DNA repair capacity is impaired in the *temperature-sensitive* ubiquitin-activating enzyme mutant of mouse cell, but increased mutation frequency is not accompanied—budding yeast mutant rad6-like phenotype. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- Aoki, F., Sudha, T., Kishi, T. and Seno, T.: DNA repair capacity is impaired in the *temperature-sensitive* ubiquitin-activating enzyme mutant in mammalian cells, but increased mutation frequency is not accompanied—Yeast mutant Rad6-like phenotype. The 10th DNA Replication workshop/The 12th TOYOBO Biotechnology Workshop “International Workshop on DNA Replication and Chromosome partition”, 金沢, 10 月.
- 青木文子, Sudha, T., 瀬野惇二: マウス細胞のユビキチン系酵素変異株における DNA 修復能と突然変異誘発能の低下. 日本環境変異原学会第 23 回大会, 静岡, 11 月.
- 浅野 敏, 東谷篤志, 堀内賢介: 繊維状ファージにおける複製開始蛋白の構造と機能. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 浅野幸康, 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: P 蛋白大腸菌発現系の開発. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.

- 永口 貢, 佐野 芳雄: *dw<sub>3</sub>* 遺伝子による浮きイネ性発現の初期過程. 第 86 回日本育種学会, 宮崎, 10 月.
- 遠藤 俊徳, 池尾 一穂, 五條堀 孝: 大量の相同塩基配列情報に基づく同義・非同義塩基置換数の推定, 日本遺伝学会第 66 回大会, 大阪, 10 月
- Endo, T., Ikeo, K. and Gojobori, T.: A large-scale search for adaptively evolving genes by use of cDNA multiple alignment database. Human Genome Conference, Washington, D. C., 10 月.
- 遠藤 俊徳, 池尾 一穂, 五條堀 孝: 正の自然淘汰を受けて進化する遺伝子の探索, 第 17 回日本分子生物学会, 神戸, 12 月.
- 藤沢 千笑, 杉山 勉: ヒドラの多能性幹細胞から生殖幹細胞への分化: 日本発生生物学会第 27 回年会, 仙台, 5 月.
- 藤田 昌也, 雨村 明倫: 緑膿菌の熱ショック応答遺伝子の発現制御. 日本農芸化学会 1994 年度大会, 東京, 3 月.
- 藤田 昌也, 花浦 良彦, 雨村 明倫: *Pseudomonas putida* RNA ポリメラーゼ主要シグマ因子遺伝子 *rpoD* の構造と発現制御. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 藤田 昌也, 定家 義人, 佐藤 勉, 小林 泰夫: 枯草菌孢子形成遺伝子の *in vitro* 転写解析, 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 藤田 昌也, 田中 寛, 高橋 秀夫, 雨村 明倫: 緑膿菌 RNA ポリメラーゼ主要シグマ因子遺伝子 *rpoD* および *rpoS* の増殖相に応じた転写制御. 日本農芸化学会 1994 年度大会, 東京, 3 月.
- Fujita, N., Kimura, M., Negishi, T. and Ishihama, A.: Domain-structure analysis of the  $\alpha$  subunit of *E. coli* RNA polymerase. The 16th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, New Delhi, India, September.
- Fujita, N., Kimura, M., Negishi, T. and Ishihama, A.: Functional map of the  $\alpha$  subunit of *E. coli* RNA polymerase: Deletion analysis of the amino-terminal assembly domain. The 3rd Asian Conference on Transcription, Bangalore, India, September.
- 藤山秋佐夫, 天前 豊明, 池村 淑道, 許 昭俊, 前島ひとみ, 檀上 稻穂: ヒト染色体特異的ライブラリの構築とその利用 (II), 第 17 回日本分子生物学会大会, 神戸, 12 月.
- Fujiyama, A., Yoshikawa, H. and Matsubara, K.: Towards Human Genome Analysis Using Chromosome Specific Two-Dimensional Method, The First Japan-France Genome Workshop, Tokyo, December.
- 深川 竜郎, 中村 保一, 菅谷 公彦, 安藤 麻子, 猪子 英俊, 松本 健一, 池村 淑道: ヒトゲノムに存在する巨大 G+C% モザイク構造境界領域に見出した Pseudoautosomal 領域境界と類似な配列の解析. 日本遺伝学会第 66 回大

- 会, 大阪, 10月.
- 深川竜郎, 中村保一, 菅谷公彦, 松本健一, 安藤麻子, 猪子英俊, 池村淑道: ヒトゲノムを構成する巨大G+C%モザイク構造境界に見出した性染色体 pseudoautosomal 領域境界と類似な配列の解析. 第67回日本生化学会大会, 大阪, 9月.
- 深川竜郎, 中村保一, 菅谷公彦, 松本健一, 奥村克純, 安藤麻子, 猪子英俊, 池村淑道: ヒトゲノムを構成する巨大G+C%モザイク構造境界領域に見出された性染色体 pseudoautosomal 領域境界と類似な配列の構造と発現. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- Fukagawa, T., Nakamura, Y., Sugaya, K., Matsumoto, K., Okumura, K., Ando, A., Inoko, H. and Ikemura, T.: XY pseudoautosomal boundary (PAB1X and PAB1Y)-like sequence exists near boundary of long-range G+C% mosaic domains in the human MHC locus. International Workshop on Chromosome Structure and Function, Chiba, November.
- Fukagawa, T., Sugaya, K., Matsumoto, K., Ando, A., Inoko, H. and Ikemura, T.: Complete form of PAB (XY pseudoautosomal boundary)-like sequence exists near boundary of long-range G+C% mosaic domains in the human MHC locus. International Society of Molecular Evolution. Workshop on "Open Questions in molecular Evolution", Costa Rica, April.
- 深川竜郎, 菅谷公彦, 中村保一, 松本健一, 安藤麻子, 猪子英俊, 池村淑道: 高等動物の染色体レベルと分子レベルの進化. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 深町伸子, 水本清久: RNA ポレメラーゼIIによる転写開始機構—転写開始複合体へのキャッピング酵素の組み込み—第17回日本分子生物学会年会, 1994年12月, 神戸.
- 福地準一, 柏木敬子, 山岸正裕, 石浜 明, 五十嵐一衛: スペルミジン蓄積による spermidine acetyltransferase 欠損株の cell viability の低下. 第67回日本生化学会大会, 大阪, 9月.
- Fuse, N., Hirose, S., Hayashi, S.: DNA binding activity of escargot protein is essential for maintenance of diploidy of imaginal cells. 35th Annual Drosophila Research Conference. Chicago, Illinois. April.
- 布施直之, 広瀬 進, 林 茂生: excargot と snail の成虫発生における役割. 第17回日本分子生物学会, 神戸, 12月.
- 布施直之, 広瀬 進, 林 茂生: ショウジョウバエ excargot の2倍体の維持における役割. 第27回日本発生生物学会, 仙台, 5月.
- 五條堀 孝: 病原性ウイルスの進化とその感染症対策への応用, 第7回サイトカイン研究

会セミナー，東京，2月。

- 五條堀 孝：病原性ウイルスの起源と進化—エイズウイルスとC型肝炎ウイルスを中心に—群馬大学公開セミナー，群馬大学，前橋市，2月。
- 五條堀 孝：DDBJ network for HIV variations. Tenth International Conference on AIDS, International Conference on STD. 横浜，8月。
- Gojobori, T.: Evolution of homeotic genes with special reference to domain evolution. IIAS Symposium「生命体の多様性」，京都，10月。
- 五條堀 孝：Tracing Biological Evolution in Protein and Gene Structures. 谷口シンポジウム，名古屋，10月。
- Gojobori, T.: Human genetic diversity and its evolutionary implication. Second South-North Human Genome Conference, Beijing, China, 11月。
- 五條堀 孝：大量遺伝情報解析から見た生命の起源と進化，第17回情報理論とその応用シンポジウム(SITA'94)，広島，12月。
- 五條堀 孝：病原性ウイルスの進化と分子疫学，第17回日本分子生物学会年会，神戸，12月。
- Gojobori, T., Endo, T. and Ikeo, K.: Evolution of genes and the DNA database—its implication on bioremediation—OECD Workshop, Tokyo, 10月。
- Gojobori, T. and Yamaguchi, Y.: Patterns of amino acid substitutions in the third variable envelope region for HIV within a host. Tenth International Conference on AIDS, Yokohama, August.
- 後藤 英夫，柴垣 芳夫，水本 清久：酵母 mRNA キャッピング酵素  $\alpha$  サブユニットの構造と—GMP 結合部位近傍への点変異導入とその活性に及ぼす影響—，第67回日本生化学会大会，1994年9月，大阪。
- 後藤 英夫，柴垣 芳夫，水本 清久：酵母 mRNA キャッピング酵素  $\alpha$  サブユニットの構造と—活性中心近傍のアミノ酸変異と活性に与える影響—，第17回日本分子生物学会年会，1994年12月，神戸。
- Goto, Y., Horai, S. and Nonaka, I.: MELAS syndrome and point mutations in mitochondrial leucine (UUR) transfer RNA gene. VIII International Congress on Neuromuscular diseases, Kyoto, July.
- Goto, Y., Nonaka, I. and Horai, S.: Insertion near the mitochondrial tyrosine tRNA gene in patients with mitochondrial diseases. 1994 Annual Meeting of American Society of Human Genetics, Montreal, Canada, October.
- 後藤 雄一，田辺 雄三，埜 中 征 哉，宝 来 聰：日本人 MELAS の第3のミトコンドリア DNA 変異，第36回日本小児科学会総会，東京，6月。
- 後藤 雄一，埜 中 征 哉，宝 来 聰：ミトコンドリア DNA3243 変異をもつ慢性進行性外眼筋麻痺症候群に認めた挿入変異の検討，第17回日本小児遺伝医学会，長崎，11月。

- 後藤雄一, 埜中征哉, 宝来 聰: 疾患特異的ミトコンドリア DNA 変異の遺伝的背景の検討. 第35回日本神経学会総会, 福岡, 5月.
- 後藤雄一, 作田亮一, 埜中征哉, 宝来 聰: ミトコンドリア DNA3243 変異を有する100例の臨床的検討. 第97回日本小児科学会学術集会, 札幌, 5月.
- 原 弘志, 安部紀子, 中小路雅代, 西村行進, 堀内賢介: 大腸菌の Prc プロテアーゼ欠失による低浸透圧下高温感受性のサプレッサーはペニシリン結合蛋白質7の遺伝子である. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 服田昌之, 坂口雅彦, 小早川義尚, 岸本康之, 杉山 勉: 分子マーカーで見るヒドラの体軸と細胞極性. 日本動物学会第65回大会, 名古屋, 10月.
- 服田昌之, 坂口雅彦, 小早川義尚, 杉山 勉: ヒドラ細胞接着コンポーネントの同定. 日本分子生物学会, 第17回大会, 神戸, 12月.
- 早坂謙二, 藤井邦彦, 宝来 聰: ミトコンドリア DNA からみたマカカ属の系統関係. 第10回日本霊長類学会学術大会, 東京, 6月.
- Hayashi, S.: Control of Imaginal Cell development by escargot gene. ENBO Workshop "Molecular and Developmental Biology of Drosophila", Crete Greece, June.
- 林 茂生, 岡田浩一, 太田 力, 広瀬 進: 組織特異的に ER に局在するショウジョウバエ reticulocalbin/SCF 蛋白の機能. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- Hayward, R. S., Ishihama, A., Kumar, A., Grimes, B., Fujita, N., Smillie, D. A., Malloch, R. A. and Williamson, H. W.: Sigma-70 of *E. coli*: Promoter specificity factor and coactivator. Canterbury Biochemical Society/Society for General Microbiology Joint Meeting of RNA Polymerase, Canterbury, England UK, Srptember.
- Hayward, R. S., Kumar, A., Grimes, B., Fujita, N., Smillie, D. A., Williamson, H. S., Malloch, R. A. and Ishihama, A.: Structure and function in *Escherichia coli* RNA polymerase subunits of the sigma-70 family. The 3rd Asian Conference on Transcription, Bangalore, India, September.
- 東谷篤志, 堀内賢介: 大腸菌 SOS 応答における細胞増殖の制御機構. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 東谷篤志, 堀内賢介: SOS 応答における細胞増殖の制御機構. 第4回細胞制御ワークショップ, 三河, 1月.
- Hirano, H.-Y. and Sano, Y.: Gene expression at the rice *waxy* locus is enhanced in response to cool temperatures. 4th International Congress of Plant Molecular Biology, Amsterdam, June.
- 平野博之, 国枝素司, 佐野芳雄: イネ *Wx* 遺伝子の弱低温における活性化. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.

- Hirano, H.-Y., Kuni-eda, M. and Sano, Y.: Regulation of the *Wx* gene in rice—Response to cool temperatures. 4th International Work Shop on Rice Molecular Biology, Tokyo, August.
- Hirose, S.: Protein-protein interactions through transcriptional mediators. Workshop “Protein-protein Communications in Transcription”, Mishima, March.
- 広瀬 進: 形態形成遺伝子 *fushi tarazu* の転写制御. 産業医科大学セミナー, 北九州市, 5月.
- 広瀬 進, 李 豊情, 上田 均: 転写因子 FTZ-F1 のメディエーター. 第17回日本分子生物学会年会シンポジウム「遺伝子発現調節—転写因子の活性化—」, 神戸, 12月.
- 菱田 竜一, 石原 健, 近藤和典, 桂 勳: 線虫 *C. elegans* の *ut102* 変異株の解析. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- Horai, S.: Evolution of man inferred from complete sequences of hominoid mitochondrial DNA. Asia-Pacific Conference on Medical Genetics, Bangkok, Thailand, July.
- 宝来 聰: 古代人のDNAと人類の進化I. ワークショップ「分子系統進化学の諸問題」, 東京, 1月.
- 宝来 聰: 生命史の解説. イブニングフォーラム「生命史への挑戦」, 日本生化学会第67回大会, 9月.
- 宝来 聰, 早坂謙二, 近藤るみ, 梅根一夫, 高畑尚之: ヒト上科ミトコンドリアDNA全塩基配列に基づくホモサピエンスの起源の年代. 日本人類遺伝学会第39回大会, 10月.
- 宝来 聰, 早坂謙二, 林 誠司, 竹中 修: ミトコンドリアDNAからみたテナガザルの系統関係. 第10回日本霊長類学会学術大会, 東京, 6月.
- Horiuchi, K. and Higashitani, A.: Multiple DNA conformational changes induced by an initiator protein in a rolling circle replication origin. International Workshop on DNA Replication and Chromosome Partition. Kanazawa, October.
- 堀内賢介: 一本鎖DNAフェージによるSOS応答の誘発. 公開シンポジウム「ストレスへの適応機構—原核細胞からの解析」, 東京, 1月.
- 堀内賢介, 東谷篤志: 繊維状フェージのDNA複製開始機構. 第17回日本分子生物学会年会シンポジウム, 神戸, 12月.
- 池畑広伸, 永井由貴子, 金田澄子, 山尾文明, 瀬野悍二, 小野哲也, 花岡文雄: 哺乳類細胞のDNA修復に関与しているユビキチン結合酵素E2の検出. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 池村淑道, 深川竜郎, 中村保一, 菅谷公彦, 松本健一, 安藤麻子, 猪子英

- 俊: MHC 領域の巨大 GC 含量モザイク境界近傍に見いだした偽常染色体部位境界様配列. 日本人類遺伝学会第 39 回大会, 幕張, 10 月.
- 池尾一穂, 高橋 敬, 五條堀 孝: クリングル構造を持つセリン・プロテアーゼ類における活性化機構の分子進化, 日本遺伝学会第 66 回大会, 大阪, 10 月.
- 今西 規: MHC 遺伝子における遺伝子変換, 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 伊奈康夫: 同義および非同義置換数の推定. 日本遺伝学会第 66 回大会, 大阪, 10 月.
- Inoko, H., Ando, A., Kimura, M., Kikuchi, Y., Kawata, H., Sugaya, K., Fukagawa, T., Matsumoto, K., Nagata, T., Taketo, M., Fujimoto, H., Okumura, K., Imai, T., Soeda, E. and Ikemura, T.: Cloning and characterization of new genes in the human major histocompatibility complex (MHC) region. International Symposium "Large Scale DNA Sequencing", Tokyo, March.
- Ishihama, A.: DNA-protein and protein-protein contacts in transcription activation. The 16th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Symposium "DNA-Protein Recognition", New Delhi, India, September.
- Ishihama, A.: The molecular anatomy of RNA polymerases from prokaryotes, eukaryotes and viruses. Univ. Melbourne Seminar, Dept. Microbiol., Melbourne, February.
- Ishihama, A.: Protein-protein communications within transcription apparatus. CSIRO Seminar, Div. Biomol. Engineer., Sydney, February.
- Ishihama, A.: Transcription activation mechanisms: Protein-DNA and protein-protein interactions. The 16th Lorne Genome Conference, "The Organization and Expression of the Genome", Lorne, Victoria, Australia, February.
- Ishihama, A., Ding, Q., Yamagishi, M., Sakurai, H., Fujita, N., Tanaka, K., Wada, A., Igarashi, K. and Aimoto, S.: Genetic strategies for stationary-phase survival in *Escherichia coli*. International Symposium "From Log to Stationary", Tokyo, January.
- Ishihama, A., Kusano, S., Ding, Q., Jishage, M., Tanaka, K. and Fujita, N.: Promoter selectivity of *E. Coli* RNA polymerase: Cooperation and competition between  $\sigma^{70}$  (RpoD) and  $\sigma^{38}$  (RpoS). The 1994 Meeting "Molecular Genetics and Bacteria and Phage", Madison, USA, August.
- 石浜 明: 細菌の飢餓適応—殖えもせず生きつづけるための遺伝戦略. 文部省科学研究費重点領域研究「ストレス応答の分子機構」公開シンポジウム. 東京, 1 月.
- 石浜 明: ウイルスと宿主生物とコミュニケーション: ウイルスに対する抵抗性. 第 8 回「大学と科学」公開シンポジウム, 東京, 2 月.

- 石原 健, 鈴木教郎, 川上 穰, 浦崎美佐子, 菱田竜一, 藤原 学, 桂 勳: C. エレガンスの神経の形態と感知情報処理. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- Iwama, M. and Mizumoto, K.: *In vitro* transcription of Sendai virus genome: Host factors required for leader RNA synthesis. Ninth International Conference on Negative Strand Viruses, Estoril, Portugal, October, 2-7, 1994.
- 岩間美奈子, 水本清久: センダウイルス (HVJ) の転写・複製機構: リーダー RNA (RNA) 合成に必要な宿主因子の部分精製とその性質. 第 67 回日本生化学会大会, 1994 年 9 月, 大阪.
- 岩間美奈子, 水本清久: センダウイルス (HVJ) の転写・複製機構: リーダー RNA (RNA) 合成に関与する宿主因子の部分精製. 第 42 回日本ウイルス学会総会, 1994 年 10 月, 東京.
- 岩間美奈子, 水本清久: センダウイルス (HVJ) の転写・複製機構: リーダー RNA (RNA) 合成に要求される宿主因子. 第 17 回日本分子生物学会年会, 1994 年 12 月, 神戸.
- Kabata, H. Shimamoto, N., Kurosawa, O., Arai, I., Washizu, M., Aramaki, H.: Visualized sliding of *P. putida* CamR repressor along DNA and a role of an Inducer. The Third Asian Conference on Transcription, Bangalore, India, 9 月.
- 加畑博幸, 荒牧弘範, 黒沢 修, 鷲津正夫, 嶋本伸雄: DNA 上のタンパク質のスライディング: リプレッサータンパク質に対するインデューサーの役割. 第 32 回日本生物物理学会年会, 横浜, 9 月.
- 加畑博幸, 荒牧弘範, 黒沢 修, 鷲津正夫, 嶋本伸雄: リプレッサータンパク質の DNA 上のスライディングとインデューサーの効果, 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 影山裕二, 広瀬 進, 上田 均: ショウジョウバエ FTZ-F1 遺伝子の *cis* 制御領域の検索. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 春日卓郎, 高木敏光, 岩間美奈子, 坂井優子, 永井美之, 水本清久: センダイウイルス (HVJ)mRNA キャッピング機構.
- 桂 勳: 神経系変異の遺伝学と神経回路構造. 日本生物物理学会第 32 回年会, 横浜, 9 月.
- 桂 勳, 浦崎美佐子, 石原 健, 鈴木教郎: 線虫 *C. elegans* の神経情報処理と遺伝子一耐性幼虫形成を指標として. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 勝亦 淳, 岩田 晃, 石浜 明, 上田 進: マレック病ウイルス 1 型の複製開始始点の解析. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 川瀬栄八郎, 白吉安昭, 小清水右一, 橋本光一郎, 中辻憲夫: マウス移動期始原生殖細胞の増殖制御に関わる因子の解析. 日本発生物学会第 27 回大会, 仙台,



5月.

- 梶谷正行, 井口義夫, 石浜 明: Q $\beta$  フェージ RNA レプリカーゼ宿主因子 (HF-1) の機能解析. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 金丸研吾, 高木秀幸, 西村昭子: 大腸菌における細胞分裂とリボ糖合成の共役機構の解析, 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 金丸研吾: 分子遺伝学, 東邦大学理学部講義, 船橋, 7 月.
- Kanaya, S., Ikemura, T., Kudo, Y.: Relationship between gene function and codon usage in *Escherichia coli* on the basis of principal component analysis. Genome Informatics Workshop 1994, Yokohama, December.
- 川上 穰, 石原 健, 近藤和典, 天野寿一, 桂 勳: 線虫 *C. elegans* の成長速度と神経機能に関わる *flr-3* 及び *flr-1* 遺伝子. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- Kawashima, T., Miyashita, N., Gotoh, H., Wu, S-L., Jin, M-L., Wang, F-S., Kryukov, A. P. and Moriwaki, K.: C-DNA primary structure of a novel Hbb haplotype frequently distributed in northern China. 9th International Workshop of Molecular Genetics of the Mouse, Edinburgh, July 4, 1994.
- Kikuti, Y. Y., Maruyama, C., Kawata, H., Ando, A., Mizuki, N., Abe, K., Ikemura, T., Okumura, K., Tsuji, K., Inoko, H., Kimura, M.: Mapping of 200 kb in the human MHC class II region and sequencing of 30 kb which include HKE 4, HKE6 and RING1 genes: 第 17 回日本生物学会年会, 神戸, 12 月.
- Kimura, M., Fujita, N. and Ishihama, A.: Functional map of the alpha subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase: Deletion and insertion analysis of the amino-terminal assembly domain. The 1994 meeting "Molecular Genetics of Bacteria and Phage", Madison, USA, 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: 挿入変異導入によるサブユニット集合ドメインの解析. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 木村 穰, 安藤麻子, 水木信久, 菊池イアール幸江, 河田寿子, 安部訓也, 奥村克純, 武藤 誠, 菅谷公彦, 深川竜郎, 池村淑道, 猪子英俊: ヒト MHC 領域の遺伝子構成. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 杵 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 結合蛋白質 (SSB) の分子解剖: 欠失変異体 SSB を用いた機能ドメインの解析. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 木ノ内順子, 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルス (HVJ) の転写機構: ウシ脳抽出液からの宿主因子の部分精製とその性質. 第 17 回日本分子生物学会年会, 1994 年 12 月, 神戸.
- 岸 努, 山尾文明, 瀬野悍二: 出芽酵母 CDC34 の温度感受性変異のサブレッ

- サー遺伝子のクローニング. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 岸本康之, 服田昌之, 杉山 勉: 分離したヒドラの外, 内胚葉組織の再接触後の形態形成 I. Epiboly 運動とその阻害因子. 日本発生物学会第27回年会, 仙台, 5月.
- Kitakami, H., Tateno, Y. and Gojobori, T.: Toward unification of taxonomy databases in a distributed computer environment. マウイ, ハワイ, 1月.
- 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. パロアルト, カリフォルニア, 8月.
- 鬼頭 稲穂, 藤山秋佐夫: ファルネシル基転位酵素はC松 CAAX モチーフのみを認識するか?, 第17回日本分子生物学会大会, 神戸, 12月.
- Kobayashi, M., Ohta, T., Hayashi, S., Okada, K. and Hirose, S.: DNA supercoiling factor requires  $Ca^{2+}$  for its activity. International Workshop on Chromosome Structure and Function, Nagara-Furusatomura, November.
- 小林正友, 広瀬 進: 超らせん化因子の機能ドメイン. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 小林正友, 広瀬 進: DNA 超らせん化因子の活性に及ぼす  $Ca^{2+}$  の効果. 第11回染色体ワークショップ, 孺恋村, 2月.
- 小清水右一, 川瀬栄一郎, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウス始原生殖細胞から生殖原細胞への分化制御機構の解析. 日本発生物学会第27回大会, 仙台, 5月.
- 小清水右一, 田中 聡, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウスの雌雄生殖原細胞形成機構の解析. 日本分子生物学会第17回年会, 神戸, 12月.
- Kohara, Y.: Towards an expression map of the *C. elegans* genome. The 1st France-Japan Bilateral Genome Workshop, December, 7-8 (1994), Tokyo.
- 小原雄治: ゲノム情報の総合的解読—線虫 *C. エレガンス* からの報告, 第17回日本分子生物学会年会シンポジウム, 1994年12月15日, 神戸.
- 小原雄治: 線虫 *C. エレガンス* の DNA レポジトリとその利用. 第66回大会シンポジウム, 大阪, 10月.
- 小原雄治, 本橋智子, 杉本章子, 渡辺寿子, 田原浩昭: 線虫 *C. エレガンス* ゲノムの発現マップ, 第17回日本分子生物学会年会, 1994年12月13日, 神戸.
- Kubori, T., Shimamoto, N.: Branched pathway of early process of transcription elongation. The Third Asian Conference on Transcription, Bangalore, India, 9月.
- 久堀智子, 嶋本伸雄: Abortive synthesis を担う新しい転写複合体 1, 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- Kumar, A., Jishage, M., Fujita, N., Hayward, R. S. and Ishihama, A.: Promoter

selectivity determinants of RNA polymerase sigma subunits. International Symposium "From Log to Stationary", Tokyo, January.

- 黒沢 修, 鷺津正夫, 嶋本伸雄: レーザー切断 DNA の酵素による修復. 第 23 回日本生物物理学会年会, 横浜, 9 月.
- 草野秀一, 寺社下美樹, 丁 清泉, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌 RNA ポリメラーゼ各種  $\sigma$  サブユニットの機能の比較. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- Li, F. Q., Ueda, H. and Hirose, S.: Mediators of activation of fushi tarazu gene transcription by BmFTZ-F1. The third Asian Conference on Transcription, Bangalore, India, September.
- Marie, S. K. N., Goto, Y., Passos-Bueno, M. R., Zata, M., Carvalho, A. A. S., Carvalho, M., Levey, J. A., Palou, V. B., Campiotto, S., Horai, S. and Nonaka, I.: A Brazilian family with 3271 mutation in mitochondrial DNA. VIII International Congress Neuromuscular diseases, Kyoto, July.
- 榎屋啓志, 嵯峨井知子, 若菜茂晴, 森脇和郎, 城石俊彦: 新しい突然変異体 *Rim4* を用いたマウス四肢形態形成の遺伝学的解析. 日本発生物学会第 27 回大会, 仙台, 5 月.
- 榎屋啓志, 嵯峨井知子, 若菜茂晴, 森脇和郎, 城石俊彦: 過剰指突然変異体を用いたマウス四肢形態形成の遺伝学的解析. 日本遺伝学会第 66 回大会, 吹田, 10 月.
- 松本健一, 白石安昭, 山本博士, 池村淑道, 中辻憲夫: 細胞外マトリックス・テネイン X の機能解析. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- Miura, T., Fukunaga, T., Igarashi, T., Yamashita, M., Ido, E., Funahashi, S.-I., Ishida, T., Washio, K., Ueda, S., Hashimoto, K.-I., Yoshida, M., Osame, M., singhal, B. S., Zaninovic, V., Cartier, L., Sonoda, S., Tajima, K., Ina, Y., Gojobori, T. and Hayami, M.: Phylogenetic subtypes of human T-lymphotropic virus type I and their relations to the anthropological background. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **91**, 1124-1127, 1994.
- 宮林登志江, 森島啓子: 野生イネの持つイネ白葉枯病抵抗性の遺伝子分析. 日本育種学会第 85 回大会, 4 月, 調布.
- 宮尾武孝, 東 慶直, 桜井仁美, 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 5 遺伝子 *rpb5* の単離とその遺伝子産物の解析. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.
- 水木信久, 宮田昌二, 佐藤恵美, 渡辺幸治, 野村 徹, 小野綾子, 安藤麻子, 菊池イア-ラ幸江, 奥村克純, 高田 肇, 大野重昭, 猪子英俊, 木村 穰: HLA-C 遺伝子近傍のクラス I 遺伝子領域の構造解析. 第 17 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月.

- Mizumoto, K.: Host factors required for Sendai virus transcription. 第17回日本分子生物学会年回シンポジウム, 1994年12月, 神戸.
- Mizumoto, K. and Shibagaki, Y.: Active site localization of yeast mRNA capping enzyme. Third Asian Conference on Transcription (ACT III), Bangalore, India, September.
- Mizumoto, K., Takagi, T. and Iwama, M.: *In vitro* transcription of Sendai virus genome: Isolation and characterization of transcription initiation complex. Ninth International Conference on Negative Strand Viruses, Estoril, Portugal, October.
- 水野健一, 嵯峨井知子, 城石俊彦, 森協和郎: マウス減数分裂期における相対的組換え高発部位のクロマチン構造の解析. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 森島啓子: 抵抗性にコストはかかるか. 岩手生物工学研究センターセミナー, 北上, 6月.
- 森島啓子: 野生イネ集団は環境攪乱に対してどう反応するか. 日本育種学会第86回大会, 10月, 宮崎.
- 森島啓子, 宮林登志江: 抵抗性であるにはコストがかかるか? —イネ白葉枯病の場合. 日本育種学会第85回大会, 4月, 調布.
- 森島啓子, 島本義也, 大原 雅, Martins, P. S., Ando, A., Oliveira, G. C. X.: アマゾン河に分布する野生イネの生活史特性. 第4回日本熱帯生態学会, つくば, 6月.
- Moriwaki, K.: Mouse Models for Biomedical Functions with Transgenes and Wild-derived Genes. International Symposium on Laboratory Animals Resource Development. Experimentation and Welfare. Hyderabad, September.
- Moriwaki, K.: Wild, fancy and laboratory rodents. 8th International Workshop of Rat alloantigens. Sapporo, August.
- Moriwaki, K., Shiroishi, T., Miyashita, N. and Mita, A.: MSM strain with many polymorphic genes established from Japanese wild mouse. 8th International Mouse Genome Conference, London, November.
- 森協和郎: 遺伝生物資源としてのマウス固体. 第66回日本遺伝学会大会シンポジウム, 大阪, 平成6年10月10日.
- 森協和郎: 遺伝子から見ればマウスはヒトと遠くない. 蘭州生物製品研究所特別講演会, 蘭州, 平成6年12月13日.
- 森協和郎: 遺伝子と病気. 日本医科大学歯学会学術講演会, 新潟, 平成6年5月18日.
- 森協和郎: コンジェニックマウスと生物機能モデル. 第10回日本毒性病理学会技術セミナー, 広島, 平成6年1月28日.

- 森脇和郎: マウス固体レベルにおける発癌研究の意義. 広島大学原医研講演会, 広島, 平成6年7月15日.
- 森脇和郎: ネズミの遺伝子とヒトの遺伝子. 第65回日本動物学会公開講演会, 名古屋, 平成6年10月8日.
- 村上昭雄: カイコの成長にみられるホメオティシス. 第26回成長談話会大会, つくば市, 11月.
- 村上昭雄: 無脊椎動物の成長と遺伝. 第26回成長談話会大会シンポジウム「ヒトの成長の背景を考える一昆虫から人間まで」, つくば市, 11月.
- 村手源英, 岸本康之, 杉山 勉, 岩永ひろみ, 岩永敏彦, 藤田恒夫: 分離したヒドラの外, 内胚葉組織の再接触後の形態形成 II. 電子顕微鏡観察. 日本発生物学会第27回年会, 仙台, 5月.
- 村上勝彦, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌CRPによるRNAポリメラーゼ活性化機構. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 永田 功, 白尾智明, 石龍 徳, 中辻憲夫: ラミニン上で遊走する神経芽細胞間で観察された会合—解離の接触挙動. 日本細胞生物学会第47回大会, 長崎, 9月.
- 中川 恭, 水本清久, 豊田哲也, 石浜 明, 小田鈞一郎, 中田 進: インフルエンザウイルスのPB2サブユニットはRNAキャップ構造付加活性を持つ. 第42回日本ウイルス学会総会, 東京, 10月.
- 中井弘和, 百瀬 豊, 加藤泰三, 佐藤洋一郎, 米倉賢一, 浅井辰夫, 新 久紀, 森島啓子: 自然農法におけるイネ品種の適応性の評価 I. 主要農業形質について. 日本育種学会第86回大会, 10月, 宮崎.
- 中井弘和, 中川祥治, 米倉賢一, 八嶋信子, 浅井辰夫, 佐藤洋一郎: 自然農法におけるイネ品種の適応性と米品質について. 日本育種学会第86回大会, 10月, 宮崎.
- 中島 衡, 今村 孝: 18番染色体遺伝子ライブラリーの作成と発現遺伝子のマッピング. 人類遺伝学会第39回大会, 東京, 10月18日.
- Nakamura, Y., Fukagawa, T., Sugaya, K. and Ikemura, T.: Estimation of protein-production levels for ORFs found by *E. coli* and yeast genome projects, basing on levels of "optimal codon" usage, in connection with feasibility of their protein coding ability and with assignment to foreign-type genes. Genome Informatics Workshop 1994, Yokohama, December.
- 中村保一, 深川竜郎, 菅谷公彦, 松本健一, 奥村克純, 安藤麻子, 猪子英俊, 池村淑道: ヒトゲノムに存在する性染色体 pseudoautosomal region 境界の類似配列と巨大GC含量モザイク構造の境界との関連の解析. 第17回日本分子学会年会, 神戸, 12月.
- 中辻憲夫: 哺乳動物におけるゲノム伝達の制御: Overview. 日本分子生物学会第17回

年会, 神戸, 12月.

中辻憲夫, 川瀬栄八郎, 小清水右一, 白吉安昭: 哺乳類生殖細胞を使った発生工学の展望. 日本遺伝学会第66回年会, 大阪, 10月.

中辻憲夫, 川瀬栄八郎, 小清水右一, 白吉安昭: 哺乳類生殖細胞の発生機構の研究と発生工学への展望. 日本細胞生物学会第47回大会, 長崎, 9月.

根岸智史, 藤田信之, 石浜明: 大腸菌 RNA ポリメラーゼの $\alpha$ サブユニットの構造マッピング. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.

西村昭子, 鶴飼英樹: 大腸菌の細胞分裂の時間的制御機構. シンポジウム「細胞複製装置のダイナミクス」, 日本分子生物学会第17回大会, 神戸, 12月.

Ohta, T.: Evolutionary mechanisms through gene study. IUBMB meeting, New Delhi, September.

Ohta, T.: Synonymous and nonsynonymous substitutions in mammalian genes and the nearly neutral theory. ISME meeting, Costa Rica, April.

奥村克純, 菱田浩司, 野上正弘, 田口寛, 安藤麻子, 猪子英俊, 深川竜郎, 菅谷公彦, 松本健一, 池村淑道: FISHによるヒトMHC領域のDNA複製時期の解析. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.

逢坂文男, 山尾文明, 瀬野悍二: 分裂酵母ユビキチン結合酵素(E2s)分子ファミリーの酵素活性を指標とした系統的検索. 第17回日本分子生物学会, 神戸, 12月.

大山彰, 陶山明, 古畑芳晶, 萩谷正巳, 伊藤隆司, 藤山秋佐夫, 服部正平, 榊佳之, 高木利久: Contig地図作成システム(Contig Maker)及びND法による配列結合編集システム(SAND), 第17回日本分子生物学会大会, 神戸, 12月.

Park, J. T., Huang, L.-J. and Hara, H.: Very few molecules of PBP3 are needed to form a septum. EMBO Workshop on Bacterial Cell Cycle, Sandhamn, Sweden, June.

李倩豊, 上田均, 広瀬進: 転写メディエーターMBF1とMBF2のcDNAのクローン化. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.

定家義人, 藤田昌也: 枯草菌*secA*の孢子形成期における発現制御. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.

嵯峨井知子, 若菜茂晴, 森脇和郎, 城石俊彦: マウスMHC領域内組換え体に生じた自然突然変異の遺伝学的解析. 日本遺伝学会第66回大会, 吹田, 年10月.

斎藤成也: 近隣結合法と最大節約法およびその応用. ワークショップ「分子系統進化学の諸問題」, 統計数理研究所, 東京, 1月14日.

斎藤成也: 遺伝子系統樹の作成-生命現象を進化から総合的にとらえる第一歩. 日本放線菌学会第10回講演会, 北里本館, 東京, 2月18日.

- 斎藤成也: ABO式血液型遺伝子の分子進化的解析. 創価大学生命科学研究所セミナー. 八王子, 6月1日.
- Saitou, N.: Evolutionary rate of insertions and deletions in nucleotide sequences of primates. ASN-SMBE-SSE-SSB Joint Annual Meeting, Athens, Georgia, U.S.A., June 18.
- 斎藤成也: 遺伝子系統樹の推定法. 日本比較生理生化学会第5回大会若手の会シンポジウム, 東京工業大学, 東京, 6月30日.
- 斎藤成也: 人類多地域進化説はなぜ間違っているのか. 国際高等研究所サマースクール, 京都, 7月27日.
- 斎藤成也: 分子系統樹とその作成法. 東北大学遺伝生態センター, 仙台, 8月1日.
- 斎藤成也: ABO式血液型遺伝子の進化. 日本人類学会民族学会連合大会第48回大会一般講演, 鹿児島, 10月9日.
- 坂田宏子, 佐藤 威, 盛 君, 上田重晴, 山口由美, 五條堀 孝, 小船富美夫: HA 蛋白の遺伝子解析による麻疹ウイルスの経時的変異, 第42回日本ウイルス学会総会, 東京, 10月.
- Sakuta, R., Goto, Y., Nonaka, I. and Horai, S.: Prognosis of mitochondrial encephalomyopathies. VIII International Congress on Neuromuscular diseases, Kyoto, July.
- 作田亮一, 後藤雄一, 埜中征哉, 宝来 聰: ミトコンドリア脳筋症(特にMELAS)の予後—全国アンケート調査による検討—. 第36回日本小児科学会総会, 東京, 6月.
- 佐野芳雄: イネの花粉キラー因子. 第85回日本育種学会, 府中, 4月.
- 佐野芳雄: イネの交雑不親和性遺伝子(*Lcr*)の発育遺伝. 第86回日本育種学会, 宮崎, 10月.
- 佐藤 滋, 梶屋啓志, 五條堀 孝, 池尾一穂, 竹内拓司, 山本博章: チロシナーゼ遺伝子の構造と発現の系統解析, 日本遺伝学会第66回大会, 大阪, 10月.
- 佐藤洋一郎: ジャポニカは‘スーパーレジスタント’. 日本育種学会第86回大会, 10月, 宮崎.
- 佐藤洋一郎, 平林涼子, 平田敦子, 中井弘和: イネ・*indica* および *japonica* の樹木由来フィトンチッドにたいする感受性—その進化的意義—. 日本育種学会第85回大会, 4月, 調布.
- Savery, N., Belyaeva, T., Ishihama, A. and Busby, S.: The alpha subunit of *E. coli* RNA polymerase interacts with an upstream element at the galactose operon *PI* promoter. UK Biochemical Society Meeting on RNA Polymerase, Canterbury, England UK, September.
- Seno, T., Aoki, F., Osaka, F., Sudha, T., Kishi, T., Seino, H. and Yamao, F.: DNA repair capacity is impaired in a *temperature-sensitive* ubiquitin-activating

enzyme mutant of mouse cells, but enhanced mutation frequency is not accompanied—Budding yeast mutant Rad6-like phenotype. The 18th Symposium on Eukaryote DNA “DNA replication, DNA repair and tumor suppressor genes” 小田原, 11月.

瀬野 悍二, Sudha, T., 辻 秀雄, 鮫島正純, 松田洋一, 岸 努, 山尾文明: ユビキチン活性化酵素温度感受性変異株における細胞周期停止と核小体動態異常. 第47回日本細胞生物学会大会, 長崎, 9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— $\alpha$  サブユニットの挿入変異体—. 第67回日本生化学大会, 1994年9月, 大阪.

志賀 靖弘, 林 茂生: ショウジョウバエの発生研究における生体マーカーとして green fluorescent protein (GFP). 第17回日本分子生物学会, 神戸, 12月.

嶋本 伸雄: 1分子ダイナミクスでみた DNA と RNA ポリメラーゼ, リプレッサーとの相互作用機構. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.

島本 義也, 阿部 純, 安藤 利夫: 日本に分布するツルマメの遺伝子頻度の特徴. 日本育種学会第85回大会, 4月, 調布.

島本 義也, 佐藤美幸, 三上 哲夫: ペレニアルライグラスの mtDNA の RFLP の品種間と品種内の多型. 日本育種学会第86回大会, 10月, 宮崎.

島本 義也, 滝野 元信: ペレニアルライグラスの耐凍性とハードニング後の生葉中の脂肪酸組成の変化との関係. 平成6年度日本草地学会大会, 長陽村, 9月.

清水 裕, Bode, H.: ヒドラ刺細胞分化パターンの Nearest Neighbor 解析: 日本発生生物学会第27回年会, 仙台, 5月.

新川 英典, 稲田 普宣, 藤田 信之, 石浜 明, 新見 治: 放線菌 *Streptomyces griseus* の主要シグマ遺伝子は *dnaK* オペロンを転写する. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.

白吉安昭, 湯浅喜博, 菅谷公彦, 城石俊彦, 池村淑道, 中辻憲夫: マウス Notch 型遺伝子 *int-3* のクローニング. 日本分子生物学会第17回年会, 神戸, 12月.

Shiroishi, T., Sagai, T., Mizuno, K., Yoshino, M. and Moriwaki, K.: Recombinational hotspots in the mouse major histocompatibility complex. 9th International Workshop “Molecular Genetics of the Mouse”, Edinburgh, UK, July.

城石 俊彦: マウス MHC 領域内組換えと高頻度可視突然変異. 第33回日本網膜剥離学会総会, 仙台, 9月.

城石 俊彦: マウス相同組換えのホットスポット, 第9回遺伝的組換えとその制御ワークショップ, 函南, 10月.

城石 俊彦, 嵯峨井知子, 水野健一, 吉野正康, 森協和郎: マウス MHC 領域内にお



- ける組換えのホットスポットのクロマチン構造. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- Sudha, T., Tsuji, H., Sameshima, M., Matsuda, Y., Yamao, F. and Seno, T.: Abnormal integrity of nucleolus associated with cell cycle arrest due to the *temperature-sensitive* ubiquitin-activating enzyme E1. International Workshop on Chromosome Structure and function, 千葉, 11月.
- Sudha, T., 鮫島正純, 山尾文明, 瀬野惇二: ユビキチンストレスによる細胞周期G2停止と核小体へ集積するHSP70蛋白質. 第53回日本癌学会総会, 名古屋, 10月.
- Sugaya, K., Fukagawa, T., Matsumoto, K., Ando, A., Inoko, H. and Ikemura, T.: Three human MHC class III genes found near the junction with the class II locus; RAGE (receptor of advanced glycosylation end products) gene, HOX12 (PBX2 homeobox gene) and Notch3 (human counterpart of mouse mammary tumor gene *int-3*). The Eighth International Conference of the International Society of Differentiation, Hiroshima, October.
- 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の新遺伝子; RAGE, HOX12およびNotch3. 第67回日本生化学会大会, 大阪, 9月.
- 菅谷公彦, 深川竜郎, 中村保一, 安藤麻子, 猪子英俊, 松本健一, 池村淑道: ヒトMHC領域に存在するGC含量変化部位の構造解析. 日本遺伝学会第66回大会, 大阪, 10月.
- 菅谷公彦, 深川竜郎, 中村保一, 安藤麻子, 猪子英俊, 松本健一, 池村淑道: ヒトMHC領域に存在するGC含量変化部位の構造解析と新遺伝子の探索. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 杉山 勉, 藤沢敏孝, 服田昌之, 清水 裕, 宗岡洋二郎, 高橋俊雄, 小泉修: ヒドラのペプチド性シグナル分子の大規模スクリーニングI. ペプチド分離. 日本発生物学会第27回年会, 仙台, 5月.
- 杉山 勉, 藤沢敏孝, 服田昌之, 清水 裕, 宗岡洋二郎, 高橋俊雄, 小泉修: ヒドラのペプチド性シグナル分子の大規模スクリーニングII. 活性検索. 日本発生物学会第27回年会, 仙台, 5月.
- Suh, Hak Soo and Morishima, H.: Variations in morpho-physiological traits and isozymes of weedy rice collected from Korea. 日本育種学会第86回大会, 10月, 宮崎.
- Suyama, A., Oyama, A., Hagiya, M., Furuhashi, Y., Ito, T., Fujiyama, A., Hattori, M., Sakaki, Y. and Takagi, T.: Contig Maker and SAND: Software Tools for Genome Mapping and Sequencing, Genome Informatics Workshop 1994, Yokohama, Dec.

- 鈴木啓子, 鶴飼英樹, 西村昭子: 細胞分裂と細胞増殖を共役させる遺伝子. 日本分子生物学会第17回大会, 神戸, 12月.
- 鈴木教郎, 石原 健, 桂 勳: 二重変異により耐性幼虫となる突然変異体の分離. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 館田英典: 分子進化のほぼ中立モデル. 研究集会「数理物理・数理生物における確率解析」, 東京, 10月.
- 館田英典: SINE 配列の進化についての集団遺伝学的研究. 日本遺伝学会第66回大会, 大阪, 10月.
- 田原浩昭, 小原雄治: 線虫の whole mount in situ hybridization 法の開発と初期胚における遺伝子発現パターンの解析, 第17回日本分子生物学会年会, 1994年12月15日, 神戸.
- Tajima, F.: Genealogy and DNA polymorphism in the neutral theory. Workshop on "Mathematical Population Genetics", University of Minnesota, Minneapolis, USA, January.
- 田嶋文生: 進化速度の一定性を検定するための統計的方法. 九州大学理学部生物学教室セミナー, 福岡, 2月.
- 田嶋文生: 集団遺伝学におけるノンランダムサンプリングのパラメータ推定に及ぼす影響. 日本遺伝学会第66回大会, 大阪, 10月.
- 高畑尚之: 地球共生系 第2部. 座談会, 京都, 10月.
- 高畑尚之: 遺伝子の系図と種の系統関係 (霊長類を中心として). 種生物学会, 神戸, 2月.
- 高畑尚之: 歴史的拘束と歴史の解読. 第67回日本生化学会大会シンポジウム「生命史の挑戦」, 大阪, 9月.
- 高畑尚之: シンポジウム「数理物理・数理生物における確率解析」(Stochastic Calculus in Mathematical Physics and biology.), 東京, 10月.
- 高畑尚之: Trichotomy revisited. Tübingen, Germany, November.
- 館野義男: タンパク質高次構造からみたグルタミン合成酵素の進化. 日本遺伝学会第66回大会, 大阪, 10月.
- 天前豊明, 池村淑道, 藤山秋佐夫: デュアルレーザーセルソーターにより分画されたヒト6番及びX染色体の特異的ライブラリーの構築とその利用, 第17回日本分子生物学会大会, 神戸, 12月.
- Toyoda, T., Kobayashi, M. and Ishihama, A.: Molecular dissection of the influenza virus RNA polymerase: PB1 alone is able to catalyze RNA synthesis. The 9th Negative-strand Virus Meeting, Estoril, Portugal, October.
- 豊田哲也, 小林麻己人, 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: PB1は単独でRNA合成を行う. 第42回日本ウイルス学会総会, 東京, 10月.

- 豊田哲也, 水木清久, 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: PB1・PB2 複合体は転写ユニットである. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- 上田 均, 村田武英, 孫 冠誠, 影山裕二, 広瀬 進: エクダイソンで誘導される転写因子 FTZ-F1 の機能解析. 第17回日本分子生物学会年会シンポジウム「発生と転写制御」, 神戸, 12月.
- 和田 明, 五十嵐一衛, 相本三郎, 石浜 明: Ribosome modulation factor (RMF) による 100S リボソームの *in vitro* 形成. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- Wakeley, J., Otto, S., Cummings, M.: Sampling properties of DNA sequences in phylogenetic analysis. 日本遺伝学会第66回大会, 大阪, 10月.
- 八木克将, 広瀬 進, 林 茂生: ショウジョウバエ *escargot* 遺伝子の発現制御. 第17回日本分子生物学会, 神戸, 12月.
- 山岸正裕, 水本清久, 石浜 明: 出芽酵母メッセンジャー RNA キャッピング酵素の変異体. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- Yamaguchi, Y. and Gojobori, T.: Darwinian evolution operates on the V3 region of HIV within a single host. Tenth International Conference on AIDS, Yokohama, August.
- 山口由美, 五條堀 孝: HIV の宿主内進化における抗原部位の役割. 日本遺伝学会第66回大会, 大阪, 10月.
- 山口由美, 五條堀 孝: HIV の抗原部位の宿主内でのアミノ酸置換のパターン. 第17回日本分子生物学会, 神戸, 12月.
- 山尾文明, 金田澄子, 瀬野悍二: ユビキチン系による細胞周期制御は CDC2 キナーゼによる制御系とカップルする. 第53回日本癌学会総会, 名古屋, 10月.
- 安田二郎, 豊田哲也, 石浜 明: 膜蛋白 M1 によるインフルエンザウイルスの増殖制御. 第42回日本ウイルス学会総会, 東京, 10月.
- 安井 潔, 東 慶直, 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: *rpb3* に変異を持つ温度感受性株の解析. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月.
- Yoshikawa, H., Matsubara, K. and Fujiyama, A.: Identification and chromosome specific assignment of *not1* recognition sites by two-dimensional gel electrophoresis method: coverage of the entire human genome using flow-sorted chromosomes. Cold Spring Harbor Meeting, Cold Spring Harbor, NY, May.
- Yoshino, M., Sagai, T., Moriwaki, K. and Shiroishi, T.: Non-random recombinations in the class III region of the mouse MHC. 8th Mouse Genome Conference, London, UK, November.

吉野正康, 嵯峨井知子, 城石俊彦, 森脇和郎: ホットスポットでの組換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, 豊田 裕, 白吉安昭, 松本健一, 菅谷公彦, 池村淑道, 城石俊彦, 森脇和郎: マウス主要組織適合抗原複合体クラス III 領域での組換えの分布. 第17回日本分子生物学会年会, 神戸, 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
森山悦子	ショウジョウバエ核遺伝子の分子進化的研究	アメリカ合衆国	6. 1. 1～ 6. 3.31
森島啓子	タイ野生イネの生態遺伝学的調査及び日本学術振興会論博事業にかかわる研究指導	タイ	6. 1.23～ 6. 1.29
田嶋文生	ミネソタ大学の数学及び応用数学研究所が行う「確率の新たな応用」の研究集会に出席	アメリカ合衆国	6. 1.23～ 6. 1.30
石浜 明	ローネゲノム会議(オーストラリア分子生物学会第16回年会)に出席・講演及び研究交流	オーストラリア	6. 2.12～ 6. 2.23
池尾一穂	アメリカ合衆国におけるDNAデータバンクの運営とデータベース利用に関する調査及び研究連絡	アメリカ合衆国	6. 3. 4～ 6. 3.16
石浜 明	国際共同研究「RNAポリメラーゼの分子解剖」の研究実施	連 合 王 国	6. 3.18～ 6. 3.29
五條掘 孝	DNAデータバンク国際諮問委員会出席及びアメリカ合衆国におけるデータバンクの運営とデータベース利用に関する調査	アメリカ合衆国	6. 3.21～ 6. 3.28
舘野義男	DNAデータバンク国際諮問委員会出席及びアメリカ合衆国におけるデータバンクの運営とデータベース利用に関する調査	アメリカ合衆国	6. 3.21～ 6. 3.28
池村淑道	分子進化のこれからの課題に関する研究集会に出席・発表	コスタリカ	6. 4.16～ 6. 4.25
太田朋子	分子進化のワークショップに出席・講演	コスタリカ	6. 4.17～ 6. 4.26
五條掘 孝	分子進化のこれからの課題に関する研究集会に出席・発表	コスタリカ	6. 4.17～ 6. 4.26
佐藤洋一郎	河姆渡文化に関する国際シンポジウムに出席・講演	中華人民共和国	6. 4.22～ 6. 4.30
藤山秋佐夫	Cold Spring Harbor 研究所におけるヒトゲノム構造に関する国際会議に出席	アメリカ合衆国	6. 5.11～ 6. 5.16
広瀬 進	カリフォルニア大学ロサンゼルス校においてセミナーを行うと共に、A. Berk 教授と共同研究	アメリカ合衆国	6. 6. 1～ 6. 6. 6
富澤純一	米国立衛生研究所における生物学研究状況の視察及び調査	アメリカ合衆国	6. 6. 2～ 6. 6. 8
斎藤成也	進化学関連4学会合同大会に出席・発表	アメリカ合衆国	6. 6.15～ 6. 6.21
今西 規	進化学関連4学会合同大会に出席	アメリカ合衆国	6. 6.15～ 6. 6.21
池尾一穂	進化学関連4学会合同大会に出席・発表	アメリカ合衆国	6. 6.15～ 6. 6.21

氏 名	内 容	渡 航 先	期 間
林 茂 生	ショウジョウバエ分子発生生物学会及びケルン大学、ランカスター大学にて発表及び討議	ギリシヤ・ドイツ連合王国	6. 6.17～ 6. 7. 7
佐藤洋一郎	日本学術振興会論博事業にかかわる研究指導	タイ	6. 6.19～ 6. 6.26
城石俊彦	第9回マウス分子遺伝学国際ワークショップに出席・発表及び Wellcome/CRC 研究所において研究連絡	連 合 王 国	6. 6.28～ 6. 7.12
堀内賢介	繊維状ファージに関する共同研究	アメリカ合衆国	6. 6.30～ 6. 7.14
實来 聰	アジア・太平洋地域における医学分野の遺伝学会議及び熱帯地域における周産期医療の問題打合せ	タイ・インドネシア	6. 7.25～ 6. 8. 7
石浜 明	「細菌とファージの分子遺伝学」に関する研究集会に出席・講演及び研究連絡	アメリカ合衆国	6. 7.29～ 6. 8.12
舘野義男	スタンフォード大学でオブジェクト指向言語 DNA データベースへの適用に関する打合せ及び国立ゲノム資源センターで DNA データベースの構築についての打合せ	アメリカ合衆国	6. 8.13～ 6. 8.22
小原雄治	サンガーセンターで行われる線虫ゲノム解析の国際合同会議に出席・討論のため	連 合 王 国	6. 8.31～ 6. 9. 7
嶋本伸雄	第16回国際生化学・分子生物学会及び第3回アジア転写会議に出席・発表並びに細胞分子生物学研究所において研究打合せ	イ ン ド	6. 9.15～ 6.10. 5
石浜 明	「日本・インド自然科学協力事業」による分子生物学分野の研究協力計画協議	イ ン ド	6. 9.18～ 6.10. 2
藤田信之	第16回国際生化学・分子生物学会及び第3回アジア転写会議に出席・発表	イ ン ド	6. 9.18～ 6.10. 1
太田朋子	第16回国際生化学・分子生物学会に出席・発表	イ ン ド	6. 9.19～ 6. 9.24
広瀬 進	第3回アジア転写会議に出席・発表	イ ン ド	6. 9.24～ 6. 9.29
豊田哲也	第9回国際ネガティブストウンドウイルス学会に出席・発表及びキュリー研究所においてセミナー・研究打合せ	ポルトガル フ ラ ン ス	6.10. 1～ 6.10.14
池尾一穂	アメリカの DNA データバンクである Gen Bank において DNA データバンクの構築・運営についての打合せ	アメリカ合衆国	6.10. 1～ 6.10. 7
石浜 明	「転写開始後の RNA ポリメラーゼ機能」に関する第7回研究集会に出席・講演及び研究交流	アメリカ合衆国	6.10.12～ 6.10.18
藤山秋佐夫	韓国遺伝子工学研究所及び韓国遺伝学会において講演並びに研究打合せ	大 韓 民 国	6.11. 2～ 6.11. 4
城石俊彦	第8回国際ゲノム会議に出席・発表	連 合 王 国	6.11. 4～ 6.11.12
五條堀 孝	第2回南北ヒトゲノム会議に出席・講演	中華人民共和国	6.11. 6～ 6.11.10

氏名	内容	渡航先	期間
舘野義男	EBI データバンクとの実務者協議	連 合 王 国	6.11.13~ 6.11.18
斎藤成也	EBI データバンクとの実務者協議	連 合 王 国	6.11.13~ 6.11.18
池尾一穂	EBI データバンクとの実務者協議	連 合 王 国	6.11.13~ 6.11.18
今西規	EBI データバンクとの実務者協議	連 合 王 国	6.11.13~ 6.11.18
今井弘民	キバハリアリ類における染色体進化と種分化に関する学術調査	オーストラリア	6.11.17~ 6.12.21
村上昭雄	韓国蚕糸試験場においてカイコの突然変異の遺伝学的分析研究の打合せ	大 韓 民 国	6.11.21~ 6.11.29
森島啓子	国際学術研究に関する調査研究	タ イ	6.12. 8~ 6.12.13
堀内賢介	米国ロックフェラー大学において大腸菌フェージの増殖機構に関する共同研究	アメリカ合衆国	6.12.28~ 7. 1. 6

## 2) ほかの機関における講義

氏名	機関名	期間	担当科目
石浜明	山口大学農学部	6. 4. 1~6. 9.30	農芸化学特別講義
森島啓子	九州大学農学部	6. 4. 1~7. 3.31	遺伝子資源工学特論
小原雄治	京都大学農学部	6.10. 1~7. 3.31	農林生物学特別講義
森島啓子	東北大学理学部	6. 4. 1~7. 3.31	植物生態学特選科目 II 生物学特別講義 IID
斎藤成也	京都大学理学部	6.10. 1~7. 3.31	進化
桂勲	千葉大学理学部	6. 4. 1~7. 3.31	生化学特別講義 I
石浜明	大阪大学理学部	6. 4. 1~7. 3.31	遺伝子形質発現
石浜明	東京大学分子細胞生物学研究所	6. 4. 1~7. 3.31	遺伝情報の転写制御機構に関する研究
中辻憲夫	鳥取大学医学部	6. 4.11~7. 3.31	細胞工学
五條堀孝	鳥取大学医学部	6. 4.11~7. 3.31	細胞工学
今村孝	浜松医科大学	6. 4. 1~7. 3.31	人類遺伝学
定家義人	浜松医科大学	6. 4. 1~7. 3.31	放射線医学
今村孝	東京医科歯科大学	6. 4. 1~7. 3.31	人類遺伝学
斎藤成也	東京大学教養学部	6.10. 1~7. 3.31	基礎科学第二システム 科学特別講義
桂勲	東京大学大学院理学系研究科	6. 4. 1~7. 3.31	動物学特別講義 I 生物化学特論 II
瀬野悍二	静岡大学大学院理学研究科	6. 6. 1~6. 6.30	生物学特別講義
嶋本伸雄	京都工芸繊維大学	6. 7. 1~6. 9.30	応用生物学特別講義

氏 名	機 関 名	期 間	担 当 科 目
森 島 啓 子	岐阜大学農学部	6.10. 1～7. 3.31	生態遺伝学
桂 勲	東京大学大学院理学系研究科	6.10. 1～7. 3.31	生物化学特論 II
佐 野 芳 雄	東京大学農学部	6.10.21～7. 3.31	特別講義 II



## VI. 共同研究事業

### A. 共同研究

- (1) RecA 蛋白の素活性に関与するアミノ酸残基の同定と蛋白機能の分子機構の解析  
小川智子 (大阪大学), 小川英行 (同), 富沢純一 (遺伝研)
- (2) 8-アジド-GTP 類の合成と RNA ポリメラーゼの構造・機能解析への応用  
丸山徳見 (徳島文理大学), 石浜 明 (遺伝研), 豊田哲也 (同)
- (3) 放線菌 RNA ポリメラーゼの多様性とプロモーター選択性の解析  
新見 治 (広島大学), 新川英典 (同), 石浜 明 (遺伝研), 藤田信之 (同)
- (4) インフルエンザウイルス遺伝子複製の分子機構  
永田恭介 (東京工業大学) 石浜 明 (遺伝研)
- (5) 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), 山岸正裕 (同)
- (6) 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)
- (7) Q $\beta$  ファージ RNA 複製酵素宿主因子 (HF-I) の宿主細胞内機能の研究  
梶谷正行 (帝京大学), 井口義夫 (同), 石浜 明 (遺伝研)
- (8) 大腸菌 *nar* オペロンの転写制御に対する IHF の効果: *nar-narK* 間の転写方向制御との関連性  
高橋浩二郎 (岡山大学), 服部高子 (同), 中西 徹 (同), 石浜 明 (遺伝研), 藤田信之 (同)
- (9) 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)
- (10) 増殖定常期大腸菌 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), 林 邦彦 (同), 石浜 明 (遺伝研), 藤田信之 (同)
- (11) 細胞周期変異株を用いた核小体構築のダイナミクス  
鮫島正純 (東京都臨床医学総合研究所), 瀬野悍二 (遺伝研)
- (12) 「Selected Proteolysis」による細胞周期制御の研究  
田中啓二 (徳島大学), 山尾文明 (遺伝研)
- (13) 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), 山尾文明 (遺伝研), 瀬野悍二 (同)
- (14) 大腸菌の蛋白質分解酵素 Prc の作用標的  
西村行進 (東邦大学), 堀内賢介 (遺伝研), 原弘志 (同)

- (15) 大腸菌ペプジル-プロリルシス・トランスイソメラーゼの生理機能  
藤崎真吾 (東邦大学), 堀内賢介 (遺伝研), 東谷篤志 (同)
- (16) 複製過程における DNA-蛋白質, 蛋白質-蛋白質の相互作用の研究  
廣川秀夫 (上智大学), 堀内賢介 (遺伝研), 原弘志 (同), 東谷篤志 (同)
- (17) ヒドラ解離上皮細胞を用いた細胞の接着性と再生現象の研究  
前田美加 (理化学研究所), 田代英夫 (同), 塚原保夫 (東北大学), 澤田康次 (同), 内田理之 (理化学研究所), 杉山 勉 (遺伝研)
- (18) ヒドラの刺胞細胞の分化過程及びその調節機構の分子マーカーを用いての研究  
小早川義尚 (九州大学), 小泉 修 (福岡女子大学), 坂口雅彦 (信州大学), 杉山 勉 (遺伝研), 服田昌之 (同)
- (19) ヒドラ形態形成の電子顕微鏡による解析  
岩永敏彦 (新潟大学), 岩永ひろみ (同), 杉山 勉 (遺伝研)
- (20) DNA から見たサングの系統分類  
大森 信 (東京水産大学), 藤沢敏孝 (遺伝研)
- (21) ヒドラのペプチド性シグナル分子の単離と機能解析  
宗岡洋二郎 (広島大学), 高橋俊雄 (同), 藤沢敏孝 (遺伝研), 杉山 勉 (同), 清水 裕 (同), 服田昌之 (同)
- (22) 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素  
米村 勇 (東京医科歯科大学), 本山十三生 (麻布大学), 岩淵喜久男 (東京農工大学), 柳平坦徳 (信州大学), 村上昭雄 (遺伝研)
- (23) 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)
- (24) 動物種の成長様式について遺伝学および生理学的比較研究  
吉田高志 (国立予防衛生研究所), 後藤伸男 (同), 高田啓介 (信州大学), 海老原史樹文 (名古屋大学), 小林哲也 (埼玉大学), 村上昭雄 (遺伝研)
- (25) 集団構造をもつ生物種における遺伝的多型の研究  
石和貞男 (お茶の水大学), 田嶋文生 (遺伝研), 高野敏行 (同)
- (26) 植物固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 (久留米大学付属高校), 寺内良平 (京都大学), 田嶋文生 (遺伝研)
- (27) コドン利用の差異に注目した生物の特異性の解析  
工藤喜弘 (山形大学), 金谷重彦 (同), 池村淑道 (遺伝研)
- (28) 細胞性粘菌のミトコンドリア tRNA に関する研究  
田仲可昌 (筑波大学), 池村淑道 (遺伝研), 松本健一 (同)
- (29) 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), 池村淑道 (遺伝研), 松本健一 (同)
- (30) 高等動物の S 期内 DNA 複製スイッチ部位の解析

- 小平美江子 (放射線影響研究所), 松本健一 (遺伝研), 池村淑道 (同)
- (31) 高等動物クロマチン構造と染色体 GC 含量分布との関係解析  
三田和英 (放射線医学総合研究所), 沼田幸子 (同), 池村淑道 (遺伝研), 松本健一 (同)
- (32) 論理プログラミングによる分子系統樹作成法の研究  
國藤 進 (北陸先端科学技術大学院大学), 太田聡史 (同), 斎藤成也 (遺伝研)
- (33) 種の分化と遺伝子の分化に関する数理解析  
植田信太郎 (東京大学), 隅山健太 (同), 太田博樹 (同), 斎藤成也 (遺伝研)
- (34) 細胞外マトリックスタンパク質テネシンファミリーの存在様式の総合的解析  
日下部守昭 (理化学研究所), 吉木 淳 (同), 上野直人 (北海道大学), 深水昭吉 (筑波大学), 赤間一仁 (島根大学), 松本健一 (遺伝研), 池村淑道 (同)
- (35) 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), 後藤悦子 (同), 中島 衡 (九州大学), 今村 孝 (遺伝研)
- (36) 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  
仁保喜之 (九州大学), 原田実根 (同), 岡村精一 (同), 中野修治 (同), 大塚 毅 (同), 中島 衡 (同), 今村 孝 (遺伝研)
- (37) ヒト染色体特異的 NotI 断片の 2 次元電気泳動像の確立  
浅川順一 (放射線影響研究所), 小平美江子 (同), 藤山秋佐夫 (遺伝研)
- (38) ヒト染色体 DNA の 2 次元電気泳動法による解析  
吉川浩英 (大阪大学), 松原謙一 (同), 藤山秋佐夫 (遺伝研)
- (39) ミトコンドリア DNA の塩基配列に基づく近世人骨の多型解析  
小池裕子 (九州大学), 寶来 總 (遺伝研)
- (40) アマゾン河流域の野生イネの生態・進化遺伝学的研究  
大原 雅 (北海道大学), 秋本正博 (同), 森島啓子 (遺伝研)
- (41) イネの花の形態形成に関わる遺伝子間相互作用  
長戸康郎 (東京大学), 北野英巳 (愛知教育大学), 松村英生 (東京大学), 洪 淳寛 (同), 永沢信洋 (同), 佐野芳雄 (遺伝研), 平野博之 (同)
- (42) 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), 平野博之 (遺伝研), 佐野芳雄 (同)
- (43) 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 (北海道大学), 内藤 哲 (同), 加藤敦之 (同), 後藤弘爾 (東京大学), 武田 穰 (名古屋大学), 平野博之 (遺伝研), 佐野芳雄 (同)
- (44) MHC 内の組換えに依存するマウスの毛色変異 (KIM5) の分子機構の解析  
前田正人 (社会保険三島病院), 城石俊彦 (遺伝研)
- (45) I 型糖尿病 (IDDM) モデルマウス NOD 系統における糖尿病感受性遺伝子の解析

- 若菜茂晴 (実験動物中央研究所), 城石俊彦 (遺伝研)
- (46) 大腸菌の細胞分裂における Glycyl-tRNA 合成酵素の役割  
山田優子 (自治医科大学), 西村昭子 (遺伝研)
- (47) DNA データベースとコンピュータネットワークの生命情報科学的研究  
鶴川義弘 (農業生物資源研究所), 前田美紀 (同), 館野義男 (遺伝研), 五條堀孝 (同)
- (48) 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)
- (49) 電気力学的分子マニピ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), 黒澤 修 (同), 鈴木誠一 (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), 永井宏樹 (同)
- (51) シトクロム 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?  
荒牧弘樹 (第一薬科大学), 嶋本伸雄 (遺伝研)
- (52) 線虫 *C. elegans* を用いた形態異常幼虫致死突然変異株の分子遺伝学的研究  
近藤和典 (創価大学), 桂 勲 (遺伝研)
- (53) 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), 吉川真悟 (同), 澤本和延 (同), 岡部正隆 (同), 林 茂生 (遺伝研), 廣瀬 進 (同)
- (54) 原索動物チロシナーゼ遺伝子の分子進化学的研究  
山本博章 (東北大学), 田村宏治 (同), 佐藤 滋 (同), 五條堀 孝 (遺伝研), 池尾一穂 (同)
- (55) 細胞外機能を担うセリンプロテアーゼ群の分子進化学的研究: 新しいクリンクルの構造と機能を中心として  
高橋 敬 (島根医科大学), 五條堀 孝 (遺伝研), 池尾一穂 (同)
- (56) 帰納推論法を用いた分子進化系統樹の構築  
田中 博 (東京医科歯科大学), 津本周作 (同), 任 鳳蓉 (同), 五條堀 孝 (遺伝研), 池尾一穂 (同)
- (57) *Caenorhabditis elegans* ミトコンドリア電子伝達系酵素の発現調節機構  
北 潔 (東京大学), 小原雄治 (遺伝研)
- (58) 細胞の増殖と分化における secA 遺伝子の役割に関する研究  
河村富士夫 (東京大学), 朝井 計 (同), 山根國男 (筑波大学), 高松宏治 (同), 中根公隆 (同), 定家義人 (遺伝研)
- (59) 動物細胞の変異株を利用したサイクリン蛋白質のリン酸化と細胞周期制御の研究  
田中弘文 (東京薬科大学), 安田英世 (同), 瀬野悍二 (遺伝研), 山尾文明 (同)

- (60) 植物集団に発達する遺伝構造の解析と遺伝変異保全上の意義  
野村哲郎 (京都産業大学), 米澤勝衛 (同), 森島啓子 (遺伝研)
- (61) Ad4BP と FTZ-F1 の機能相関について  
諸橋憲一郎 (九州大学), 廣瀬 進 (遺伝研), 上田 均 (同)
- (62) インターロイキン 4 レセプターと NADPH オキシターゼの P47<sup>phox</sup> サブユニット  
の結合の解析  
住本英樹 (九州大学), 康東天 (同), 出原賢治 (遺伝研)
- (63) ハツカネズミ  $\beta$ -プロビン遺伝子複合体の分子進化的解析  
宮下信泉 (香川医科大学), 城石俊彦 (遺伝研)
- (64) 深海環境 (高圧, 低温) における大腸菌の適応増殖の研究  
金丸京子 (海洋科学技術センター), 金丸研吾 (遺伝研)

## B. 研 究 会

- (1) 細胞増殖制御の分子機構 (平成 6 年 12 月 2~3 日)  
研究代表者 花岡文雄 (理化学研究所), 参加者 11 名
- (2) 「Selective Proteolysis」の分子機構とその細胞生物学的意義 (平成 7 年 3 月 3~4 日)  
研究代表者 田中啓二 (徳島大学), 参加者 14 名
- (3) ヒドラの発生生物学 (平成 6 年 9 月 29~30 日)  
研究代表者 小泉修 (福岡女子大学), 参加者 8 名
- (4) 相互作用する遺伝子の進化 (平成 6 年 8 月 20~21 日)  
研究代表者 矢原徹一 (東京大学), 参加者 11 名
- (5) 造血幹細胞増殖分化の機構の学際的研究 (平成 7 年 3 月 18 日)  
研究代表者 仁保喜之 (九州大学), 参加者 23 名
- (6) イネ遺伝学と分子生物学の接点 (平成 6 年 11 月 21~22 日)  
研究代表者 松岡 信 (農業生物資源研究所), 参加者 11 名
- (7) イネ遺伝学の再構築 (平成 6 年 12 月 19~20 日)  
研究代表者 武田和義 (岡山大学), 参加者 13 名
- (8) 熱帯大河流域における野生及び栽培稲の伝播および集団の動態 (平成 6 年 10 月 16~17 日)  
研究代表者 佐藤雅志 (東北大学), 参加者 6 名
- (9) 地球環境の変動と植物生態遺伝学 (平成 7 年 1 月 17~18 日)  
研究代表者 島本義也 (北海道大学), 参加者 15 名
- (10) 哺乳類に特有な遺伝機構 (平成 6 年 12 月 1~2 日)  
研究代表者 高木信夫 (北海道大学), 参加者 9 名
- (11) 生殖系列細胞の発生機構と発生工学 (平成 6 年 11 月 30~12 月 1 日)  
研究代表者 中辻憲夫 (遺伝研), 参加者 10 名

- (12) 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 6 年 10 月 14～15 日）

研究代表者 定家義人（遺伝研）

### C. 民間等との共同研究

ウイルス増殖の分子機構の研究

石浜 明（遺伝研），浅野幸康（創薬技術研究所）

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），河合正人（富士通），川西祐一（同）

## VII. 研究材料・研究情報の収集と保存

### I. 研究材料・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会しされた「栽培稲の起原の研究」以来、現在まで引継がれているイネの進化遺伝学的研究の中で積極的に世界各地から収集を続け、野生種については世界でも有数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、その一部は多数の遺伝子や形質について調査されている。

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	905
<i>O. breviligulata</i> CHEV et ROEHR.	西アフリカ	402
<b>遠縁野生種</b>		
<i>O. officinalis</i> WALL.	南アジア	66
<i>O. minuta</i> PRESL	"	18
<i>O. punctata</i> KOTSCHY	アフリカ	22
<i>O. eichingeri</i> PETER	東アフリカ	12
<i>O. latifolia</i> DESV.	中南米	26
<i>O. alta</i> SWALLEN	南 米	8
<i>O. grandiglumis</i> PROD.	"	7
<i>O. australiensis</i> DOMIN	北オーストラリア	37
<i>O. brachyantha</i> CHEV. et ROEHR.	西アフリカ	17
<i>O. ridleyi</i> HOOK.	南アジア	6
<i>O. longiglumis</i> JANSEN	ニューギニア	13
<i>O. meyeriana</i> BAILL.	南アジア	26
<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。こからは 7 回以上の戻し交雑の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*, *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て重要と考えられる 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. aegilopoides</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>u</sup> C <sup>u</sup>	3
<i>Ae. ovata</i> L.	C <sup>u</sup> C <sup>u</sup> M <sup>o</sup> M <sup>o</sup>	6
<i>Ae. triaristata</i> WILLD	C <sup>u</sup> C <sup>u</sup> M <sup>t</sup> M <sup>t</sup>	7
<i>Ae. columnaris</i> ZHUK.	C <sup>u</sup> C <sup>u</sup> M <sup>o</sup> M <sup>o</sup>	2
<i>Ae. biuncialis</i> VIS.	C <sup>u</sup> C <sup>u</sup> M <sup>b</sup> M <sup>b</sup>	1
<i>Ae. variabilis</i> EIG	C <sup>u</sup> C <sup>u</sup> S <sup>b</sup> S <sup>b</sup>	7
<i>Ae. triuncialis</i> L.	C <sup>u</sup> C <sup>u</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>u</sup> M <sup>u</sup>	3
<i>Ae. mutica</i> BOISS.	MtMt	1



<i>Ae. speltoides</i> TAUSH	SS	3
<i>Ae. iongissima</i> SCHW. et MUSCH.	SS'	3
<i>Ae. bicornis</i> (Forsk.) JAUB. et SP.	S'S <sup>b</sup>	2
<i>Ae. squarrosa</i> L.	DD	7
<i>Ae. crassa</i> Boiss.	DDM <sup>c</sup> M <sup>c</sup>	2
<i>Ae. ventricosa</i> TAUSCH.	DDM <sup>c</sup> M <sup>c</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* K., 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的 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), *bu* (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* (立編), *st* (条班)。

その他の遺伝子型: *du* (木立), *dh* (矮状), *f* (帯化), *v* (班入), *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+bu* (蟬葉), *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* (日本産テクビヒドラ) 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>	36

- (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.

### C) 細胞系譜キメラ系統

38

## F. ショウジョウバエ (*Drosophila*)

キイロショウジョウバエ及びその近縁種を収集している。特にキイロショウジョウバエの突然変異系統、分子遺伝学的手法に適した有用系統に力をおいている。詳しい内容については手紙、fax (0559-75-6825), e-mail(shayashi@lab.nig.ac.jp) での問い合わせに必ず。

問い合わせ先 〒411 三島市谷田 1111

国立遺伝学研究所 遺伝実験生物保存研究センター  
無脊椎動物保存研究室

1. キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) 27 種, 933 系統

## A) 野生型系統

- 1) iso-female 系統 (37)
- 2) 標準系統その他 (27)

## B) 突然変異系統

- 1) 欠失系統
  - a) X 染色体 (57)
  - b) 第二染色体 (114)
  - c) 第三染色体 (80)
  - d) 第四染色体 (2)
- 2) その他の変異系統 (430)

変異系統は標準的なマーカー系統の他に分節遺伝子, ホメオティック遺伝子の変異体を含む。また FLP 系統なども維持している。

2. オナジショウジョウバエ (*Drosophila simulance*)

- 1) iso-female 系統 (90)
- 2) 地理的系統 (13)

## 3. 他の近縁種 (25 種, 83 系統)

G. コナマダラメイガ (*Ephesia 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	<i>p</i>
江 浙	中 国	2	4	<i>p</i>
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	<i>p</i> (yellow coc.)

## 2) 実験用の標準 (野生) 形系統

C-108	中 国	2	4	<i>p</i>
C-108 (旧)	中 国	2	4	<i>p</i>

ZeC-108	中国	2	4	<i>p</i> 同上 Y 染色体を Ze で標準
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 で標準
金 色	日本	2	4	<i>p</i> (yellow coc.)
J-106	日本	2	4	+ <sup>P</sup>
J-115	日本	2	4	+ <sup>P</sup>
日本綿	日本	2	4	+ <sup>P</sup>
小石丸	日本	2	4	+ <sup>P</sup>
C-145	中国	2	4	<i>p</i>
大 造	中国	2	4	+ <sup>P</sup>
<hr/>				
アスコリ	欧州	1	4	<i>p</i> : Ze (yellow coc.)
漢 川	中国	1	4	<i>p</i> (yellow coc.)
浙 江	中国	1	4	<i>p</i>
緋 紅	中国	1	4	<i>p</i> (yellow coc.)
C-2	中国	1	4	<i>p</i>
C-4	中国	1	4	<i>p</i>
<hr/>				
3 眼白	中国	1	3	+ <sup>P</sup>
欧 7 号 3 眼	欧州	1	3	<i>p</i>
黄 波	中国	1	3	<i>p</i> (yellow coc.)
沔 陽	中国	1	3	<i>p</i> (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	<i>p</i>
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<sup>S</sup></i> / + <sup>P</sup> )	[環境条件に不感応]
<i>pnd</i> ( <i>re; ch</i> )	[環境条件に不感応]

*npnd* (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

---

*Slg* (slow growing)

*sdi* (short duration of imaginal lifetime)

*pre* (Sex-linked precocious)

## 3) 形態形成に関するもの

---

*msA* (+<sup>h</sup>) (Akuzawa's multistars)

*E<sup>KP</sup>* (Supernumeral legs)

## 4) 卵形態・形成機能に関するもの

---

*elp* (ellipsoid egg)

*Ge* (*pe re*)/T (Y; 3) *Ze* (Giant egg)

*sp* (Spindle egg)

玉沢小卵 [Chromosome aberration]

## 5) 卵色に関するもの

---

*b<sup>2</sup>* (Brown egg-2)

*bw<sup>3</sup>* (Brown egg-3)

*w<sup>1</sup>* (White egg-1)

*w<sup>1</sup>* [大正白] (White egg-1)

*w<sup>2</sup>* 原田 (White egg-2)

*w<sup>2</sup>* (ch) (White egg-2)

*w<sup>3</sup>*/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<sup>so-1</sup>* (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)

<i>par</i> <sup>-</sup>	〔Reduction of parthenogenicity〕
mo ( <i>pe</i> ; <i>oc</i> )	〔Mosaics (double fertilization)〕

mo (*pe; ok*)

[Mosaics (double fertilization)]

## 12) 走光性 (幼虫期)

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

## 13) その他

<i>bp</i> (Black pupa)	
<i>Ng</i> ( <i>rb</i> ) (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) $p^M$	[+ $p \sim p^M$ への自然突然変異; $p$ -allele の不安定性顕著]
T (Y; 2) + $p \cdot p^{Sal(Y)}$	
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) + $pe$ (1)	[第 5 染色体 + $pe$ 部分が T (Y; 3) <i>Ze</i> に転座した系統]
T (Y; 5) + $pe$ (2)	
T (Y; 5) + $pe + ok + oc$	
T (Y; 5) + $pe$ (~)	[不安定転座]
T (Y; 10)	
T (Y; 10) + <i>w2</i>	[ <i>Tazima's W-translocation</i> ]
T (X; 5)	
T (X; 5) + $pe$ (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) + $pe$ (2)	"
T (X; 5) + $pe$ (3)	"
T (X; 5) + $pe$ (4)	"
T (X; 5) + $pe$ (5)	"
T (X; 5) + $pe$ (6)	"

T (X; Y)

T (X; Y)± <sup>pe</sup> (1)	[sch と転座 + <sup>pe</sup> との距離は 4.2]
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (2)	{ " 2.3}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (3)	{ " 8.3}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (4)	{ " 13.3}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (5)	{ " 0.6}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (6)	{ " 7.8}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (7)	{ " 9.6}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (8)	{ " 3.5}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (9)	{ " 0.5}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (10)	{ " 0.0}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (11)	{ " 5.3}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (12)	{ " 3.4}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (13)	{ " 2.2}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (14)	{ " 3.1}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (15)	{ " 8.3}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (16)	{ " 6.3}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (17)	{ " 6.6}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (18)	{ " 26.7}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (19)	{ " 0.0}
T (X; Y)± <sup>pe</sup> (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)+<sup>pe</sup>; 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) + <sup>pe</sup> (1)	[Y 染色体に Ze と + <sup>pe</sup> との 2 重標識系統]
T <sub>2</sub> ((T <sub>1</sub> (Y; 3) Ze); 5) + <sup>pe</sup> (2)	{ " }
T <sub>2</sub> ((T <sub>1</sub> (Y; 3) Ze); 5) + <sup>pe</sup> (3)	{ " }
T <sub>2</sub> ((T <sub>1</sub> (Y; 2)+ <sup>p</sup> · <sup>pSa</sup> ); X) + <sup>od</sup> (4)	[Y 染色体に + <sup>p</sup> · <sup>pSa</sup> と + <sup>pe</sup> 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)+<sup>p</sup>·<sup>pSa</sup>+<sup>od</sup>



## 3) トリソミー

 $+P/p^M/p^S$ 

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	遺伝の特徴
<i>od</i> ( <i>p</i> )	[2 重劣性]
<i>sch</i> ( <i>pe</i> )	[2 重劣性]
<i>sch; od</i>	[2 重劣性]
<i>os; e</i> ( <i>pe</i> )	[3 重劣性]
<i>os; e</i> ( <i>pe</i> )/T (Y; 3) <i>Ze</i>	[3 重劣性]
<i>os; e</i> ( <i>re</i> )/T (Y; 3) <i>Ze</i>	[3 重劣性]
<i>sch; od</i> ( <i>pe</i> )	[3 重劣性]
<i>sch; od</i> ( <i>pe</i> )/T (Y; 3) <i>Ze</i>	[3 重劣性]

## 2) 第 2 染色体

<i>oal</i> ( <i>p</i> )	[2 重劣性]
-------------------------	---------

## 3) 第 5 染色体

<i>pe</i> (宇田 <i>pe</i> )	[単一劣性]
<i>re</i> ( <i>p</i> <sup>+</sup> )	[単一劣性]
<i>pe; ok</i>	[2 重劣性]
<i>pe; ok</i> /T (Y; 3) <i>Ze</i>	[2 重劣性]
<i>pe; ok</i> ( <i>Y</i> )	[2 重劣性]
<i>pe; re</i>	[2 重劣性]
<i>re; re</i> /T (Y; 3) <i>Ze</i>	[2 重劣性]
<i>re</i> ( <i>ch</i> )	[2 重劣性]
<i>re</i> ( <i>p</i> )	[2 重劣性]
<i>pe; ok; re</i>	[3 重劣性]
<i>pe; re</i> ( <i>ch</i> )/T (Y; 3) <i>Ze</i>	[3 重劣性]
<i>pe; re; oc</i> /T (Y; 3) <i>Ze</i>	[3 重劣性]
<i>pe; oc</i> ( <i>lem</i> )	[3 重劣性]
<i>pe; oc</i> ( <i>sch</i> )/T (Y; 5) + <sup>*</sup>	[3 重劣性]
<i>ok; re</i> ( <i>ch</i> )	[3 重劣性]
<i>pe; re</i> ( <i>w2; ch</i> )/T (Y; 3) <i>Ze</i>	[4 重劣性]

4) 発生(生殖)異常の検出系

<i>pe; re/T (Y; 2) p<sup>5a</sup>·+p</i>	[2 重劣性]
<i>w2; ch/T (Y; 2) p<sup>5a</sup>·+p</i>	[2 重劣性]
<i>p; w2; ch; mln; so</i>	[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充足し、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コンジュニッ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ッ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*) (24 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。

系統名	由来
129/SvJ	Jax→Ms (1990, F?), F?+10, A <sup>w</sup> A <sup>w</sup> , BB, c <sup>ch</sup> /c or c/c (SPF)
A/WySnJ	Jax→Ms (1984, F186), F186+43, aa, bb, cc, H-2 <sup>d</sup> (SPF)
A2G/Ola	Ola→Ms (1988, F?), F?+31 (SPF)
AKR/J	Jax→Ms (1992, F?), F?+11, aa, BB, cc, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
AU/SsJ	Jax→Ms (1991, F93), F93+17, aa, BB, CC, Hbb <sup>h</sup> (SPF)
BALB/cAnN	NIH→Ms (1984, F178), F178+45, cc, ミエローマ高発系, H-2 <sup>d</sup> (SPF)

BALB/cUcsdeB6C3F1	Os→Ms (1978, F?), F?+44+24*, cc, H-2 <sup>d</sup> (SPF)
C57BL/10SnJ	Jax→Ms (1985, F26+3), F29+32, aa, BB, CC, H-2 <sup>b</sup> (SPF)
C57BL/6J	Jax→Ms (1984, F152), F152+40, aa, BB, CC, H-2 <sup>b</sup> (SPF)
C57BR/cdJ	Jax→Ms (1987, F?), F?+23, aa, bb, CC, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
C57L/J	Jax→Ms (1984, F161), F161+37, aa, bb, lnln, CC, H-2 <sup>b</sup> (SPF)
C58/J	Jax→Ms (1985, F200), F200+29, aa, BB, CC, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
CBA/J	Jax→Ms (1984, F194), F194+37, AA, BB, CC, H-2 <sup>k</sup> (SPF)
CE/J	Jax→Ms (1987, F102), F102+26, A <sup>w</sup> A <sup>w</sup> , c <sup>c</sup> c <sup>c</sup> (SPF)
DBA/1J	Jax→Ms (1982, F112), F112+51, aa, bb, CC, dd, H-2 <sup>g</sup> (SPF)
JF1/MsfB6C3F1	Ms (1993, F?+19), F?+19+5* (SPF)
NZB/BINJ	Jax→Ms (1988, F134), F134+22, aa, BB, CC (SPF)
P/J	Jax→Ms (1987, F161), F161+22, sese, pp (SPF)
PL/J	Jax→Ms (1987, F137), F137+32, cc (SPF)
PT/7af	Os→Ms (1986, F26), F26+37, aa, bb, pc <sup>ch</sup> /pc <sup>ch</sup> , dse/dse, sis (SPF)
RIIIS/J	Jax→Ms (1985, F63), F63+34, cc (SPF)
SJL/J	Jax→Ms (1982, F95), F95+54, AA, BB, cc, pp, H-2 <sup>s</sup> (SPF)
SM/J	Jax→Ms (1982, F106), F106+40, A <sup>w</sup> a or aa, BB, CC, H-2 <sup>g</sup> (SPF)
SWR/J	Jax→Ms (1984, F150), F150+42, AA, BB, cc, H-2 <sup>g</sup> (SPF)

\*、SPF 化以降の世代数。世代数は 1994 年 12 月 1 日現在のもの。

## 2. H-2 コンジュニック系マウス (14 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。

H-2 ハプロタイプ	系 統 名	由 来
B10 系	(9 系統)	
H-2 <sup>i</sup>	B10.M/Sn	Jax→Ms (1990, F84), F84+19 (SPF)
H-2 <sup>e</sup>	B10.HTG/2Cy	Jax→Ms (1982, N16F19), N16F19+44 (SPF)
H-2 <sup>g2</sup>	B10.GdFBALB/cAnN	C. S. David→Ms (1984, F?), F?+29+6* (SPF)
H-2 <sup>h2</sup>	B10.A(2R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F?), F?+52 (SPF)
H-2 <sup>h4</sup>	B10.A(4R)/Ola	Ola→Ms (1982, F3), F3+53 (SPF)
H-2 <sup>h5</sup>	B10.A(5R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F20), F20+50 (SPF)
H-2 <sup>g</sup>	B10.G/Ola	Ola→Ms (1985, F?), F?+38 (SPF)
H-2 <sup>e</sup>	B10.S/Ola	Ola→Ms (1985, F?), F?+31 (SPF)
H-2 <sup>i1</sup>	B10.AQR/Ola	Ola→Ms (1982, F?), F?+51 (SPF)
A 系	(1 系統)	
H-2 <sup>h2</sup>	A.B(4R)/M	Ms 由来 (1994), N20+F3 (SPF)
C3H 系	(2 系統)	
H-2 <sup>b</sup>	C3H.SW/SnJ	Jax→Ms (1982, F22), F22+46 (SPF)

H-2 <sup>a1</sup>	C3H.OL/NeB6C3F1	NIH→Ms (1981, F?)	F? <sup>+</sup> +25+21* (SPF)
BALB/c 系	(2 系統)		
H-2 <sup>b</sup>	BALB.B/Ola	Ola→Ms (1981, F?)→Jic→Ms (1985, F?)	F? <sup>+</sup> +41 (SPF)
H-2 <sup>a</sup>	BALB.K/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F? <sup>+</sup> +47 (SPF)

\*, SPF 化以降の世代数.

3. 野生ハツカネズミの H-2 染色体を導入した B10 コンジェニック系 (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>um5</i>	N12F39	Mol. Msm	1979
B10.MOL-YNG	<i>um9</i>	N13F31N1F22	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>um1</i>	N12F16+50**	Mol. Ten1	1976
B10.MOL-TEN2eB6C3F1	<i>um2</i>	N10F36+26**	Mol. Ten2	1976
B10.MOL-SGR	<i>um7</i>	F1N10F15+53**	Mol. Sgr	1976
B10.CAS-QZNeB6C3F1	<i>uc1</i>	N12F302121**	Cas. Qzn	1978
戻し交配によって育成中の系統				
B10.Cas-Tch	<i>uc2</i>	N43	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 (13 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>ajum7</i>	B10.A(R201)/(R101)	N4F59	<i>aw1</i>	<i>k</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>
<i>ajum7</i>	B10.A(R202)/(R102)	N4F58	<i>aw2</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>d</i>	<i>w</i>
<i>ajum7</i>	B10.A(R203)/(R103)	N3F49	<i>aw3</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>w</i>	<i>w</i>
<i>ajum7</i>	B10.A(R207)/(R107)	N4F52	<i>aw7</i>	<i>w</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
<i>ajum7</i>	B10.A(R208)/(R108)	N4F38	<i>aw8</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>d</i>	<i>w</i>
<i>ajum7</i>	B10.A(R209)/(R109)	N4F48	<i>aw9</i>	<i>w</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
<i>ajum7</i>	B10.A(R212)/(R112)	N3F45	<i>aw12</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
<i>ajum7</i>	B10.A(R213)/(R113)	N4F45	<i>aw13</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
<i>ajum7</i>	B10.A(R218)	N22+N6	<i>aw18**</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
<i>bjum7</i>	B10(R233)/(R403)	N4F42	<i>bw3</i>	<i>b</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>
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>ajum7</i>	B10.A(R201)/MsfB6C3F1	N4F54+6***	<i>aw1</i>	<i>k</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>	<i>w</i>
<i>ajum7</i>	B10.A(R209)/MsfB6C3F1	N4F42+6***	<i>aw9</i>	<i>w</i>	<i>k</i>	<i>k</i>	<i>d</i>	<i>d</i>

a/wm7 BB10(R233)/MsfB6C3F1 N4F36+7\*\*\* bw3 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 (3系統)

系統名	由来
AXBG11/MsfB6C3F1**	Ms 由来 (1993), N2F25+4* (SPF)
BALB/c- <i>Hbb</i> **	Ms 由来 (1993), N5F2N1F1+4*, wild-driver <i>Hbb</i> <sup>p</sup> haplotype (SPF)
HBBW1/MsfB6C3F1*	Ms 由来 (1993), N8F2N1F2+3* (SPF)

- \*、SPF 化以降の世代数  
 \*\*、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。

### 6. 染色体変異を持つ系統 (2系統)

系統名	由来
B10.SMY-YdoteB6C3F1**	MRC→Ms (1989, N10), N10F1+N19* (SPF)
C57BL/10Sn-Ydel**	Ms (1990, B10.BR-Y <sup>del</sup> より C57BL/10Sn に戻し交配), N15 (SPF)

- \*、SPF 化以降の世代数  
 \*\*、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。

### 7. その他の突然変異遺伝子を保有している系統 (16系統)

系統名	由来
1.6-L11*	Ms 由来 (1994), F? <sup>+</sup> +2+3 (SPF)
C57BL/6J- <i>mi</i>	Jax→Ms (1994, N13), N13+N1, microphthalmia ( <i>mi</i> ) (SPF)
B10.D2/nSn- <i>Hx</i> /+	Jax→Ms (1994, F58), F58+3, hemimelic extra tose ( <i>Hx</i> ) (SPF)
B10.MOL-SGR-CM2*	F1N10F15+49+M3 (SPF)
C3HeB/FeJ- <i>E</i> <sup>30</sup> / <i>E</i> <sup>30</sup> <i>Xpl</i> <sup>l</sup> /+	Jax→Ms (1993, N10F12), N10F12+7, Extra toes-J ( <i>Xpl</i> <sup>l</sup> ) (CV)
C57BL/6J- <i>Ist</i> <sup>l</sup>	Jax→Ms (1994, N25), N25+N1, Strong's luxoid-J ( <i>Ist</i> <sup>l</sup> ), B6C3Fe-a/a- <i>Ist</i> <sup>l</sup> より系統作成中 (SPF)
C57BL/6J- <i>lx</i> W <sup>v</sup>	Jax→Ms (1994, N111), N111+ <i>F</i> 2, luxate ( <i>lx</i> ) (SPF)
C57BL/6J- <i>Pe</i>	Jax→Ms (1994, F?), F? <sup>+</sup> +1, pearl ( <i>pe</i> ) (SPF)
C57BL/6J- <i>Tr</i> / <i>Re</i>	Jax→Ms (1991, N42), N40+N7, trembler ( <i>Tr</i> ), rex ( <i>Re</i> ) (SPF)
C57BL/6J- <i>Xpl</i>	Jax→Ms (1994, N83), N83+N3, X-linked polydactyly ( <i>Xpl</i> ), B6C3 Fe-a/a- <i>Xpl</i> より系統作成中 (SPF)
C57BL/10Snf- <i>rim2</i> / <i>rim2</i> *	Ms 由来 (1994), F24+N3 (SPF)
C57BL/10Snf- <i>Rim3</i> /+*	Ms 由来 (1994), N16+N4 (SPF)
C57BL/10Snf- <i>Rim4</i> /+*	Ms 由来 (1994), N8+N4 (SPF)

C57BL/10Snf-Rim5/+*	Ms 由来 (1994), F1N2 (SPF)
HRS/J	Jax→Ms (1984, F75), F75+33, hairless ( <i>hr</i> ) (SPF)
TSJ/Le <i>b/b</i> Ts/+	Jax→Ms (1993, F90), F90+4, Tail-short ( <i>Ts</i> ) (SPF)

\*、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。

**8. 野生ハツカネズミ由来の系統 (20 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 domesticus</i>			
M. DOM-PGN2	Pegion (カナダ) 1979 年 9 月	F38	(CV)
<i>Mus musculus musculus</i>			
M. MUS-NJL	Northern Jutland (デンマーク) 1980 年 9 月	F46	(CV)
<i>Mus musculus bactrianus</i>			
M. Bac-Iran	Mashhad (イラン) 1985 年 2 月	F19	(CV)
M. Bac-kjo	Kujour (イラン) 1990 年 11 月	F6	(CV)
M. Bac-Avz3	Ahvaz (イラン) 1991 年 4 月	F14	(CV)
M. Bac-Gms	Garmsar (イラン) 1991 年 8 月	F9	(CV)
<i>Mus musculus subspecies</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	F24	(CV)
M. SUB-CHD	成都 (中国) 1981 年 5 月	F30	(CV)
<i>Mus spicilegus</i>			
ZBN	ブルガリア 1984 年 4 月	F14	(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			
<i>Mus musculus molossinus</i>			
MSM/MsfB6C3F1	三島 (静岡県) 1978 年 4 月	F46+6*	1993 年
MOM	瑞穂区 (愛知県名古屋市) 1972 年 4 月	F29+?+14	
<i>Mus musculus brevisrostris</i>			
BFM/2MsfB6C3F1	Montpellier (フランス) 1976 年	F15F40+6*	1993 年
NJL/MsfB6C3F1	Northern Jutland (デンマーク) 1980 年 9 月	F41+2*	1994 年
<i>Mus musculus musculus</i>			
BLG2/MsfB6C3F1	Toshevo (ブルガリア) 1980 年	F3+41+8*	1993 年
<i>Mus musculus castaneus</i>			
HMI/MsfB6C3F1	和美 (台湾) 1986 年 6 月	F21+4*	1993 年
MAL/MsfB6C3F1	マレーシア 1987 年 2 月	F13+4*	1993 年
CAST/Ei	Jax→Ms(1989,F43)1971 年	F43+15	
<i>Mus musculus subspecies</i>			
KJR/MsfB6C3F1	Kojuri 島 (韓国) 1984 年 9 月	F31+7*	1993 年

\*、SPF 化以降の世代数

## 9. 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	凍結胚数
1) 近交系 (28 系統)			
129/J	Jax→Ms (1992, F126)	F126+2~4	117
129/SvJ	Jax→Ms (1990, F?)	F?+5~10	171
A/WySnJ	Jax→Ms (1984, F186)	F186+38~43	92
A2G/Ola	Ola→Ms (1998, F?)	F?+30~31	18
AKR/J	Jax→Ms (1992, F?)	F?+6~11	203
AU/SsJ	Jax→Ms (1991, F93)	F93+11~17	63
BALB/cAnN	NIH→Ms (1984, F178)	F178+38~46	205
BALB/cUcsdeB6C3F1	Os→Ms (1978, F?)	F?+44+23~24	39
C57BL/6J	Jax→Ms (1984, F152)	F152+33~38	132
C57BL/10SnJ	Jax→Ms (1985, F26+3)	F29+27~28	47
C57L/J	Jax→Ms (1984, F161)	F161+36~37	17
C57BR/cdJ	Jax→Ms (1987, F?)	F?+22	5
C58/J	Jax→Ms (1985, F200)	F200+26~28	37
CBA/CaHN	NIH→Ms (1984, F65)	F65+39~41	92
CBA/J	Jax→Ms (1984, F194)	F194+33~38	115
CBA/StMseB6C3F1	Ms→Nga (1965, F34) →Ms (1978, F75)	F75+44+16~18	161
CE/J	Jax→Ms (1987, F102)	F102+21~26	148
DBA/1J	Jax→Ms (1982, F112)	F112+48~51	195
DBA/2J	Jax→Ms (1984, F151)	F151+35~39	249
DM/Shi	Shi→Ms (1983, F108)	F108+42~44	142
JF	As→Ms (1987, F?)	F?+14~15	79
MA/MyJ	Jax→Ms (1983, F?)	F?+36~39	119
NZB/BINJ	Jax→Ms (1988, F134)	F134+20	37
PL/J	Jax→Ms (1987, F137)	F137+27~32	160
PT/7af	Os→Ms (1986, F26)	F26+34~37	59
SJL/J	Jax→Ms (1982, F95)	F95+47~54	158
SM/J	Jax→Ms (1982, F106)	F106+36~40	96
SWR/J	Jax→Ms (1984, F150)	F150+36~39	170
2) H-2 コンジュニック系			
B10 系 (24 系統)			
B10.129(6M)/SnlfCR	Jax→Ms (1977, F52)	F52+54~56N1 (*1)	157

B10.A/SgSnJ	Jax→Ms (1985, F28)	F28+21~25N1 (*1)	162
B10.A(2R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F?)	F?+40~43N1 (*1)	121
B10.A(4R)/Ola	Ola→Ms (1982, F3)	F3+40N1 (*1)	152
B10.A(5R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F20)	F20+39~40N1 (*1)	126
B10.AKM/Ola	Ola→Ms (1983, F?)	F?+34~36N1 (*1)	145
B10.AQR/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F?+41~43N1 (*1)	126
B10.BR/SgSnJ	Jax→Ms (1984, F26)	F26+33~34N1 (*1)	166
B10.D2/nSnJ	Jax→Ms (1983, F22)	F22+31~33N1 (*1)	174
B10.DA(80NS)/Sn	JAX→Ms (1987, F?)	F?+17~18N1 (*1)	121
B10.G/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+28~29N1 (*1)	117
B10.GD	C. S. David→Ms (1984, F?)	F?+24~25N1 (*1)	96
B10.HTG/2Cy	Jax→Ms (1982, N16F19)	N16F19+34~35N1 (*1)	111
B10.HTT/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+27~28N1 (*1)	185
B10.M/Sn	Jax→Ms (1990, F84)	F84+8+2~4, F?, F84+7N1 (*1)	301
B10.PL(73NS)/Sn	Jax→Ms (1982, F17)	F17+39~41N1 (*1)	154
B10.RIII(71NS)/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F?+44~47N1 (*1)	139
B10.S/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+21~22N1 (*1)	111
B10.S(7R)/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+28, F?, F?+24~27N1 (*1)	69
B10.S(9R)/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+28~30N1 (*1)	107
B10.SM(70NS)/Sn	Jax→Ms (1983, F22)	F22+32~33N1 (*1)	153
B10.T(6R)/Ola	Ola→Ms (1985, F?)	F?+28~31N1 (*1)	119
B10.WB(69NS)/Sn	Jax→Ms (1982, F19)	F19+38~39N1 (*1)	161
B10.Y/Sn	Jax→Ms (1987, F?)	F?+19~20N1 (*1)	150
A系 (3系統)			
A.AL/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F?+41~43	156
A.CA/Sn	Jax→Ms (1982, F23)	F23+45~49	112
A.B(4R)/Ms	Ms	N20F3~4	96
C3H系 (5系統)			
C3H.JK/Sn	Jax→Ms (1982, F22)	F22+51~52	79
C3H.NB/Sn	Jsx→Ms (1982, F18)	F18+55~56, F?	157
C3H.OH/N	NIH→Ms (1981, F?)→ Jic→Ms (1985, F?)	F?+44~45	46
C3H.OL/NeB6C3F1	NIH→Ms (1981, F?)	F?+25+17~20	125
C3H.SW/SnJ	Jax→Ms (1982, F22)	F22+43~45	134
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 (17系統)			
B10.BAC1	Ms	F?, N8F6N1F2~4, N8F6N1F2~4N1 (*1)	115



B10.CAS-QZNeB6C3F1	Ms	N12F30+9~11N1 (*1)	108
B10.CAS-TCH/+	Ms	F37~42N1 (*1)	48
B10.DOM-PGN	Ms	N12F2~3N1 (*1)	101
B10.MOL-ANJeB6C3F1	Ms	N11F41+11N1 (*1)	174
B10.MOL-MSM	Ms	N12F28~29, N12F26~28N1 (*1)	212
B10.MOL-NSB	Ms	N12F13N1F6N1F3N1 (*1)	1
B10.MOL-OHM	Ms	N12F11+33~34N1 (*1)	160
B10.MOL-OKBeB6C3F1	Ms	N12F44+12N1 (*1)	170
B10.MOL-SGR	Ms	F?, F1N12F15+38~ 39N1 (*1)	130
B10.MOL-TEN1	Ms	N12F16+37N1 (*1)	106
B10.MOL-TEN2eB6C3F1	Ms	N10F36+13~15N1 (*1)	101
B10.MOL-YNG	Ms	N13F31N1F9, N13F31N1F8~9N1 (*1)	276
B10.SHH2	Ms	N8F10~12, N8F9~11N1 (*1)	136
B10.SHH3	Ms	N8F11~14, F?, N8F10~13N1 (*1)	129
B10.CAS3/Kff	Kff→Ms (1991, F?)	F?N1 (*1)	202
京都 D20+	Ms	F?, N2F7N1 (*1)	21

4) B10.MOL-H-2 コンジュニク由来の H-2 染色体組換体 (42 系統)

B10.A(R201)	Ms	N4F47~48N1 (*1), N4F55~56	210
B10.A(R202)	Ms	N4F44~47N1 (*1)	267
B10.A(R203)	Ms	N3F36~38N1 (*1)	161
B10.A(R204)	Ms	N4F37~39N1 (*1)	163
B10.A(R206)	Ms	N4F37~38N1 (*1)	261
B10.A(R207)	Ms	N4F43N1 (*1)	104
B10.A(R208)	Ms	N4F29~30N1 (*1)	110
B10.A(R209)	Ms	N4F34+1~2N1, N4F39N1 (*1)	200
B10.A(R211)	Ms	N4F36~37N1 (*1)	108
B10.A(R212)	Ms	N3F2~3N1 (*1)	166
B10.A(R213)	Ms	N4F35~37N1 (*1)	136
B10.A(R214)	Ms	N3F35N1 (*1)	102
B10.A(R217)	Ms	N4F38N1 (*1)	111
B10.A(R221)	Ms	F26~29N1 (*1)	133
B10.A(R223)	Ms	F25N1 (*1)	100
B10.A(R224)	Ms	F28~36N1 (*1)	136

B10.A(R228)	Ms	F15~18N1 (*1)	118
B10.A(R241)	Ms	N4F35N1 (*1)	221
B10.A(R251)	Ms	N3F37~42N1 (*1)	150
B10.A(R261)	Ms	N3F24~27N1 (*1)	105
B10.A(R262)	Ms	N3F26~30N1 (*1)	116
B10.BR(R220)	Ms	N8~9 (*1)	95
B10.CAS4(R28)/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?+1N1 (*1)	129
B10.SH1(R17)	Kfl→Ms (1985, F?)	F?+N7F14~15, F?+N7F13~14N1 (*1)	138
B10(R226)	Ms	N10~12 (*1)	142
B10(R231)	Ms	N3F32~36N1 (*1)	140
B10(R233)	Ms	N4F32~33N1 (*1), N4F37	167
B10(R236)	Ms	N3F34~41N1 (*1)	110
B10(R237)	Ms	N3F31~32N1 (*1)	110
B10(R239)	Ms	N3F31~32N1 (*1)	164
B10(R263)	Ms	N1F1N1F2+18~19N1 (*1)	175
B6.CAS3(R23)/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?	52
B6.CAS3(R7)/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?	92
B10.CAS3(R8)/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?	156
C57BL/10SnSlc-H-2 <sup>aw18</sup> /H-2 <sup>b</sup>	Ms	N15+7 (*1)	245
as55	Ms	F26~29	99
as61	Ms	F17	47
AS75	Ms	F12~14	88
as8	Ms	F25~31	65
as100	Ms	F26~30	115
as46	Ms	F27~28	59
as53	Ms	F25~26	75
5) その他のコンジュニク系 (17 系統)			
B6-Ly-2 <sup>c</sup> , -3 <sup>c</sup>	Ms	N12F13~14	95
BALB/c-Aph-1 <sup>b</sup>	Nga→Ms (1985, F?)	F?+7~8, F?+7N1 (*2)	27
BALB/c-Aph-1 <sup>b</sup> , Aph-2 <sup>b</sup>	Nga→Ms (1985, F?)	F?+8~9, F?+8~9N1 (*2)	135
BALB/c-Aph-1 <sup>c</sup>	Ms	F?+9~10, F?+8~9N1 (*2)	94
BALB/c-Aph-2 <sup>b</sup>	Ms	F?+5~6	82
BALB/c-Aph-3	Ms	F?+7~8, F?+5~7N1 (*2)	100
BALB/c-H. 2	Ms	F?+8~10, F?+8~9N1 (*2)	198
BALB/c-H. 3	Ms	F?+7, F?+6~7N1 (*2)	142
BALB.B/Ola	Ola→Ms (1981, F?)→ Jic→Ms (1985, F?)	F?+39~40	10
BALB.K/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F?+45~47	64

B6.BFM	Ms	N5 (*3) (*1)	69
B6.BGR	Ms	N5 (*3)	52
B6.CAST	Ms	N5 (*3) (*1)	62
B6.MAL	Ms	N5 (*3) (*1)	55
B6.MSM	Ms	N5 (*3) (*1)	52
B6.PGN	Ms	N5 (*3) (*1)	57
B6.SJL	Ms	N5 (*3) (*1)	52
6) 染色体変異を持つ系統 (6 系統)			
B10.SMY-Y <sup>del</sup> eB6C3F1	Ms	N10F1+N11~20 (*1)	109
B10.SMY-conteB6C3F1	MRC→Ms (1989, N10)	N10F1+N13~14, F? (*1)	124
C57BL/10Sn-Y <sup>del</sup>	Ms	N8~12 (*1)	81
Rb(9.15)/Ms	Ms	N8F21, F?	47
Rb(10.11)8Bnr	Jax→Ms (1991, F51)	F51+11~12	155
Rb(11.14)1Dn	Jax→Ms (1991, F?)	F?+4~5	95
7) 突然変異遺伝子を保有している系統 (16 系統)			
B10.A(4R)/Ola(mut)	Ms	F3+37+M+3N1 (*1)	94
B10.PL(73NS)/Sn-s/o	Jax→Ms (1982, F17)	F24+M+NE2F1N1 (*1)	166
B10-apeB6C3F1	Ms	F?NE6F8+1NE3~4F1N1 (*1)	75
B10-PoeB6C3F1	Ms	F55NE3F12+11~12N1 (*1)	158
C.OGS-Ap	Ms	N13F3N1F5N10 (*2)	49
C57BL/10-rim2/rim2	Ms	F20~26N1 (*1)	142
C57BL/10-Rim3/+	Ms	N15 (*1)	114
C57BL/10-Rim4/+	Ms	N7 (*1)	91
C57BL/10-Rim5/+	Ms	N8 (*1)	20
C.URM	Ms	N4+7~8N1 (*2)	85
HRS/J	Jax→Ms (1984, F75)	F75+29~32	73
WB/ReJ-W	Jax→Ms (1987, F?)	F?+27~29	145
C3H/HeN-seal/+	NIH→Ms	F?+3~4	61
C57BL/6J-js/+	Jax→Ms	F?+1~2, F?	123
TSJ/Le bjb Tsj/+	Jax→Ms (1987, F?)	F90+3	11
B10.BR(R228)spot	Ms	F?	98
8) 野生ハッカネズミ類 (22 系統)			
BFM/2Ms	Montpellier (フランス)	F15+42~43	23
CASA/Rk	Jax→Ms (1989, F12)	F12+7~8	31
CAST/Ei	Jax→Ms (1989, F43)	F43+9~14	57
M.Bac-Avz3	Ahvaz (イラン)	F?	87
M.Bac-Gms	Garmsar (イラン)	F?	55
M.Bac-Iran	Mashhad (イラン)	F12~15	11

M.Bac-Kjo	Kujour (イラン)	F3~4	73
M.Bac-Nsh2	Now Shahr (イラン)	F?	23
M.Cas-Hmi	和美 (台湾)	F?	11
M.Cas-Mal	マレーシア	F?+9~11	74
M.DOM-PGN2	Pegion (カナダ)	F?	49
M.Dom-Pgn3	M.DOM-PGN1×PGN2	F?	19
M.Mol-Unu	内之浦 (鹿児島県)	F?	15
M.MUS-NJL	Northern Jutland (デンマーク)	F?	35
M.SUB-CHD	成都 (中国)	F?	5
M.SUB-KJR1	Kojuri 島 (韓国)	F?	4
M.SUB-SWN1	水原 (韓国)	F18~22	59
M.SUB-SWN2	水原 (韓国)	F?	10
M.SUB-SWN3	水原 (韓国)	F?	55
MSM	三島 (静岡県)	F37~41	190
MOM	瑞穂区 (愛知県名古屋市)	F29+?+11~13	120
ZBN	ブルガリア	F9	7
9) トランスジュニク系統 (8系統)			
Tg(17MMUCyp21)1Ms	Ms		106
Tg(0MMUCyp21)2Ms	Ms		109
Tg(0MMUCyp21)3Ms	Ms	G1F2,N2F3~4	15
Tg(YHSPCyp21)5Ms	Ms	N12 (*1)	108
Tg(17MMUCyp21)6Ms	Ms	N1F3N2F3, N1F3N1 (*1)	31
Tg(0MMUCyp21)7Ms	Ms		50
Tg(0MMUCyp21)8Ms	Ms		78
Tg(0MMUCyp21)9Ms	Ms		102

(\*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, Tn10, 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. Clark & 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* のファジー: 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, λcl<sub>857</sub>, S7, λTn5, λTn10, φ174wild, 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、約 240 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 71 種、発現ベクター 75 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 12 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、ファックス、あるいは電子メール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: 0559-81-6762

電子メール: cvector@lab.nig.ac.jp

## II. 遺伝情報の収集保存及び提供

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	21 版 (04/95)	274,596 エントリー	250,875,023 塩基
EMBL	42 版 (03/95)	303,206 エントリー	262,559,786 塩基
GenBank	88 版 (04/95)	352,414 エントリー	286,094,556 塩基

**タンパク質アミノ酸配列データ**

PIR	44 版 (03/95)	77,573 エントリー	23,340,141 アミノ酸
SWISSPROT	31 版 (02/95)	43,470 エントリー	15,335,248 アミノ酸

以下は各データベースの簡単な収集内容である。

**DDBJ Release 21 (1995 年 4 月発行)**

グループ	エントリー数	塩基数
バクテリア	19,500	35,169,827
E S T	86,103	27,448,123
無脊椎動物	21,018	29,313,218
哺乳類	6,919	7,481,129
オルガネラ	10,937	13,784,877
バテント	5,719	2,989,699
バクテリオファージ	1,055	1,563,756
植物	32,480	42,579,726
霊長類	38,563	37,598,826
R N A	4,864	2,506,517
ゲッ歯類	24,728	27,292,972
S T S	9,195	2,885,759
人工合成	9,814	5,013,260
無注釈	3,601	926,009
ウイルス	21,319	24,681,766
脊椎動物	8,374	9,050,584

## 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16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4,000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6年11月5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

ヒトの遺伝情報へのアプローチ —ヒト・ゲノム計画のもたらすもの—

総合遺伝研究系助教授

理学博士 藤 山 秋 佐 夫

#### 【要旨】

1970年代から80年代にかけて開発された遺伝子組換え技術とDNA塩基配列決定技術を代表とする分子生物学の研究手法は急速な広がりを見せ、バイオサイエンス全体に大きなインパクトを与えてきた。多くの癌遺伝子や癌抑制遺伝子の構造と機能の解明、免疫グロブリン遺伝子の詳細な構造解析に基づく免疫システムの解明、遺伝病をはじめ幾つもの疾病関連遺伝子の単離など、ヒトの持つ遺伝情報に関する研究も急速な勢いで発展し続けている。このような研究の流れの中で生まれたのが、生物のゲノム全体を対象とし、遺伝子の構造や発現制御メカニズム、複製メカニズムなど遺伝情報のすべてを解読して生命現象の全体像を総合的に理解することを目的とした計画である。そのなかでもヒトの全遺伝情報を解読し理解しようという試みが世界規模で進められている。ヒト・ゲノム計画である。「ヒト」についての理解を深めること体を構成する神経細胞、上皮細胞、網膜細胞、肝細胞、骨細胞、筋細胞など機能的形態的に極めて多様な細胞の機能を明らかにし、それらの時間軸上での相互作用と発生分化のメカニズムを理解し、脳機能と精神活動について考察し、ヒトの進化の道筋をたどる等々は、我々自身の本源的な願望とも言ってもよい。ヒト・ゲノム計画もそのひとつの現れである。このような観点から世界的規模で行われているヒト・ゲノムプロジェクトを概括する。

## 哺乳動物の発生工学 —社会との関わりを拓げた基礎生物学—

遺伝実験生物保存研究センター 教授  
理学博士 中 辻 憲 夫

## 【要旨】

発生生物学は、ひとつの細胞にすぎないカエルの卵が非常に複雑なオタマジャクシという一匹の生物を作り出す神秘に感動するところから始まった、きわめて基礎的な生物学であった。ところが近年になって、遺伝子本体である DNA を研究者が自由自在に工作できる遺伝子工学が発展するとともに、哺乳動物の受精卵などを体外で操作する方法が進歩して、「発生工学」と呼ばれる研究分野が急速に発展した。例えば受精卵への外来遺伝子の導入により新しい遺伝的性質を持った動物を作り出すことができるようになった。これは生命の仕組みを解明しようとする基礎生物学に強力な方法を提供するだけでなく、人間社会全般との関わりを拓げることになった。

疾患遺伝子を導入されたトランスジェニックマウスは、ヒトの病気のモデル動物として医学研究の重要な手段となっている。さらに、家畜などを使ったトランスジェニック動物は、新しい優れた品種を作り出すとともに、医薬品などを大量に生産する手段として使われたり、将来は動物からヒトへの移植用臓器の供給を可能にするかもしれない。また基礎的な研究であっても、特定の遺伝子と哺乳動物個体の働きとの関係を研究することは、社会に対して予期せぬ影響を与える可能性がある。例えば、記憶学習能力のように社会的関心の強い現象がどのような遺伝子の働きと関係しているかの研究が始まっている。このような時代には、科学の現状を専門家以外に対して理解しやすく且つ正確に伝えるための努力と、人間と社会に関する思慮深さが科学者自身に要求されている。



## 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。

平成6年には、遺伝情報研究センターに遺伝子機能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6年5月20日 法律第32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6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そ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6年6月24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おりとする。

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・天象観測並びに曆書編製、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6年9月30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6年6月24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）にあつては、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つては、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つて、当該機関の目的達成上特に功績のあつた者に対し、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5年4月1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会の運営に関する規程(抄)

(平成元年6月28日文部大臣裁定)

(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27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 6 年 8 月 23 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 4 年 5 月 6 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しないで、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、文部省に置かれる研究施設、文化施設及び研修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 5 年 4 月 1 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」

**職員数**

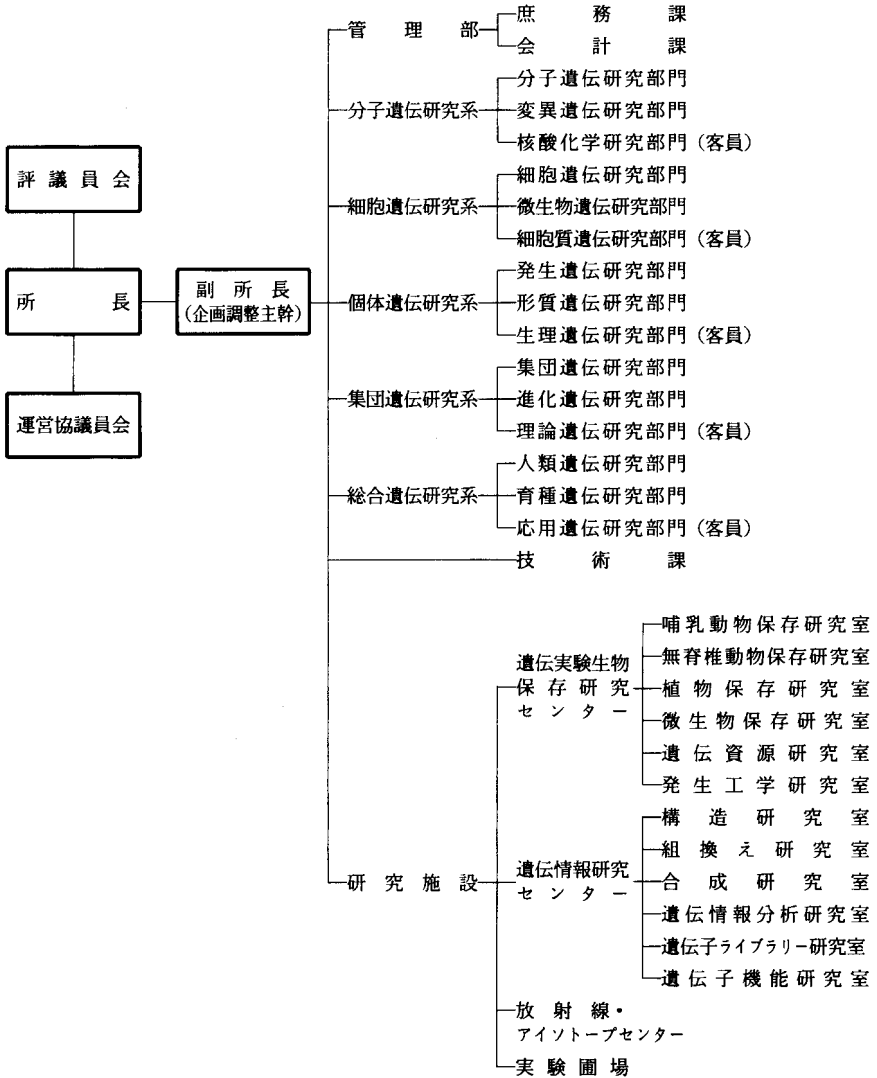
（平成 6 年 12 月 31 日現在）

区 分	指定職	行政職（一）	教育職（一）	計
定 員	2	41	67	110
現 在 員	2	41	55	98

**所 長**

薬学博士 富澤純一

機構図 (平成6年12月31日現在)



## 国立遺伝学研究所評議員名簿

(会長のほかは50音順)

(平成6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6年6月28日	会 長
岡崎国立共同研究機構長	井 口 洋 夫	平成5年4月 1日	
日本学術振興会理事長	大 崎 仁	平成6年8月 1日	
名古屋大学長	加 藤 延 夫	平成6年6月28日	
国立遺伝学研究所名誉教授	木 村 資 生	”	6.11.13 死亡
大阪大学蛋白質研究所教授	京 極 好 正	”	
癌研究会癌研究所名誉研究所長	菅 野 晴 夫	”	
東 邦 大 学 長	杉 村 隆	”	
かずさ DNA 研究所所長	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	”	
広島市立大学長	田 中 隆 莊	”	
大阪府立成人病センター総長	豊 島 久真男	”	
帝京大学薬学部長	野 島 庄 七	”	
実験動物中央研究所長	野 村 達 次	”	
東京大学文学部教授	濱 井 修	”	
大阪府立大学長	平 紗 多賀男	”	
大阪大学細胞生体工学センター長	松 原 謙 一	”	
学習院大学生命分子科学研究所長	三 浦 謹一郎	”	
日本女子大学長	宮 本 美沙子	”	
近畿大学生物理工学部教授	山 縣 弘 忠	”	

## 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6年12月31日現在）

官 職 名	氏 名	任命年月日	備 考
筑波大学教授(生物科学系)	岡田 益吉	平成6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	〃	
神戸大学教授(理学部)	磯野 克己	〃	
東京大学分子細胞生物学研究所長	大石 道夫	〃	
名古屋大学教授(理学部)	郷 通子	〃	
北海道大学教授 (大学院地球環境科学研究科)	高木 信夫	〃	
京都大学教授(医学部)	武部 啓	〃	
大阪大学教授(細胞生体工学センター)	花岡 文雄	〃	
東北大学教授(農学部)	日向 康吉	〃	
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)	堀田 康雄	〃	

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(分子遺伝研究系)	瀬野 俣二	平成6年6月20日	会長
教授(分子遺伝研究系)	石浜 明	〃	
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(個体遺伝研究系)	廣瀬 進	〃	
教授(集団遺伝研究系)	原田 朋子 (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	平成5年1月16日	
教授(総合遺伝研究系)	冲野 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6年6月20日	
教授(遺伝情報研究センター)	五條 堀孝	〃	

## 平成6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
光園学園女子短期大学教授	木 下 俊 郎
理化学研究所ライフサイエンス研究情報室長	菅 原 秀 明
福井県立大学 教授(生物資源学部)	常 脇 恒 一 郎
福山大学 教授(薬学部)	中 田 篤 男
大阪大学 教授(医学部)	野 村 大 成
筑波大学 教授(生物科学系)	山 根 國 男
熊本大学 教授(医学部)	山 村 研 一
京都工芸繊維大学 教授(繊維学部)	渡 辺 隆 夫

## 平成6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
農業生物資源研究所 DNA 管理遺伝情報研究科長	鷓 川 義 弘
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)	高 木 利 久
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(細胞生体工学センター)	松 原 謙 一
京都大学 教授(理学部)	宮 田 隆

## 平成6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)	大 泉 光 一

## 研究職員

(平成6年12月31日現在)

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
所長	文部教官 所長	薬学博士	富澤 純一	元.10.1
副所長企画調整主幹(併)	文部教官 教授	理学博士	瀬野 悍二	(6.4.1)
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 悍二	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	博士(工学)	岸 努	5.4.1
	文部教官 助手	博士(理学)	清 野 浩 明	6.7.1
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	薬学博士	森 川 耿 右	6.4.1
細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 堀内賢介				
細胞遺伝研究部門	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 教授	理学博士	大 坪 栄 一	6.4.1
	非常勤講師	理学博士	森 脇 和 郎	6.4.1



## 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	博士(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 農学博士	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
	文部教官 助 手	農学博士	上 田 均	62.10. 1
生理遺伝客員研究部門	文部教官 教授	医学博士	半 田 宏	5. 4. 1
	文部教官 助教授	農学博士	奥 村 克 純	6. 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
	文部教官 助 手	博士(理学)	伊 奈 康 夫	6.10. 1
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. 博士(理学)	齊 藤 成 也	3. 1.16
	文部教官 助 手	農学博士	松 本 健 一	63. 4. 1
	文部教官 助 手	博士(農学)	天 前 豊 明	6. 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

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
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	寶来 聰	57. 9. 1
	文部教官 助手	博士(医学)	出原 賢治	6. 7. 1
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
	文部教官 教授	農学博士	島本 義也	6. 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) 中辻憲夫

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
無脊椎動物保存研究室	文部教官 助教授	理学博士	林 茂生	2. 7. 1
微生物保存研究室	文部教官 助教授	農学博士	西村 昭子	49. 5.16
	文部教官 助手	農学修士	金丸 研吾	5. 9. 1
遺伝資源研究室	文部教官 助手	工学博士	藤田 昌也	6. 4. 1
発生工学研究室	文部教官 教授	理学博士	中辻 憲夫	3. 9. 1
	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) 五條堀 孝

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
遺伝情報分析研究室	文部教官 教授	理学博士	五條堀 孝	58. 9. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	池尾 一穂	4. 6. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	今西 規	6. 4. 1
遺伝子ライブラリー研究室	文部教官 助教授	理学博士	小原 雄治	元. 3. 1
	文部教官 助手	理学博士	安達 佳樹	4. 4. 1
遺伝子機能研究室	文部教官 教授	理学博士	舘野 義男	63. 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) 沖野啓子

--	--	--	--	--

## 名譽教授

氏名	職名	称号授与年月日
三浦 謹一郎	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
森脇 和郎	福山大学工学部教授	6. 4. 1

## 名譽所員

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 部長	河野 憲司	6. 4. 1
庶務課 部長	宮地 秀夫	5. 7. 1
会計課 部長	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 部長	酒井 清人	61. 4. 1
人事係 部長	大川 淑子	6. 4. 1
研究協力係 部長	山本 勉	45. 4. 1
共同研究係 部長	秋山 啓剛	6. 4. 1
情報資料係 部長	大沢 正男	6. 4. 1

職 名	氏 名	任用年月日
総務係長	佐藤隆司	5. 4. 1
経理係長	板倉幸男	6. 4. 1
用度係長	八木悟司	6. 4. 1
管財係長	山添均	4. 4. 1
施設係長	前田佳宏	4. 4. 1
秘書主任	山本すみ子	39. 9. 1
庶務主任	長澤明子	50. 3.15
共同研究主任	岩田英子	48. 3. 1
総務主任	新田清隆	5. 1. 1
用度主任	梅澤三郎	48. 4. 1
人事係員	太田勝広	5. 4. 1
共同研究係員(併)	佐藤良和	4. 4.10
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	榊原勝美	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. 4.12
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

職 名	氏 名	任 用 年 月 日
機器班第一技術係員	芦 川 東 三 夫	36. 4.16
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
管 理 部 長	海老原 昭	平 3. 4. 1～ 平 6. 1.15	常盤大学へ
庶務課庶務係長	宮 原 和 臣	平 3. 4. 1～ 平 6. 3.31	静岡大学学生部学生課へ
庶務課研究協力係長	堀 田 昭 久	平 3. 4. 1～ 平 6. 3.31	沼津工業高等専門学校学生課へ
庶務課情報資料係長	櫻 田 芳 男	平 3.11. 1～ 平 6. 3.31	東京大学大型計算機センターへ
会計課用度係長	四ノ宮 立 男	平 3. 4. 1～ 平 6. 3.31	静岡大学附属図書館 情報管理課へ
会計課経理係経理主任	岩 崎 久 治	昭 49. 1. 1～ 平 6. 3.31	沼津工業高等専門学校会計課へ
細胞遺伝研究系教授	森 脇 和 郎	昭 34. 4. 1～ 平 6. 3.31	停年退職 福山大学工学部教授へ
庶務課庶務係庶務主任	鈴 木 和 代	昭 32. 4. 1～ 平 6. 3.31	定年退職
分子遺伝研究系助手	金 田 澄 子	昭 63. 9. 1～ 平 6. 3.31	(株) エイチ・エス・ピー研究所 副主任研究員へ
集団遺伝研究系助手	森 山 悦 子	昭 63.11.16～ 平 6. 4. 8	退職
総合遺伝研究系助手	中 島 衡	昭 61. 5. 1～ 平 6. 4.30	退職 (九州大学医学部へ)
総合遺伝研究系助手	平 岡 洋一郎 (佐藤)	昭 58. 3.16～ 平 6. 8.31	静岡大学農学部助教授へ
遺伝実験生物保存 研究センター助手	宮 下 信 泉	昭 61. 7. 1～ 平 6. 9.30	香川医科大学医学部 附属動物実験施設助教授へ

## 平成6年度外国人研究員の受入れ

氏 名	所 属	研 究 課 題	受 入 れ 研 究 期 間	研 究 部 門
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. 4.30
Suh Hak-Soo	嶺南大学農学部 教授	雑草型イネの遺伝 育種学的研究	育種遺伝研究部門	平 6.10. 1～ 平 7. 3.30
Shokunbi Matthew Temitayo	ナイジェリア イバダン大学 上級講師	マウス大脳皮質の 発生における形態 形成機構の解析	遺伝実験生物保存 研究センター	平 7. 2. 1～ 平 8. 1.31

## 大学院学生（特別研究学生）

氏名	研究課題	所属	受入期間
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
宮尾 武孝	転写制御機構の研究	京都大学大学院 薬学研究科 (博士課程)	平 6. 4. 1～ 平 7. 3.31
田中 聡	全能性細胞のバラクライン／オート クラシン調節機構についての研究	東京大学大学院 農学系研究科 (博士課程)	平 6. 4. 1～ 平 7. 3.31
渡部 美穂	マウス生殖細胞の発生分化機構の研究	広島大学大学院 理学研究科 (博士課程)	平 6. 4. 1～ 平 7. 3.31
志賀 靖弘	遺伝子発現の調節に関する研究	名古屋大学大学院 薬学研究科 (博士課程)	平 6. 4. 1～ 平 7. 3.31
王 文樵	イシサ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 6. 4. 1～ 平 7. 3.31

## 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	研究期間
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 6. 4. 1～ 平 7. 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 6. 4. 1～ 平 7. 3.31
鈴木 淳子	三菱化成株式会社 総合研究所 応用生物研究所	インフルエンザ ウイルスに関する 研究	分子遺伝研究部門	平 6.10. 1～ 平 7. 3.31

## C. 土地及び建物

(平成6年12月31日現在)

土地総面積	105,312 m <sup>2</sup>
内訳	{ 研究所敷地 96,069 m <sup>2</sup>
	{ 宿舎敷地 9,243 m <sup>2</sup>
建物総面積(建面積)	11,241 m <sup>2</sup>
	(延べ面積) 19,557 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
自 動 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
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
ペ 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	"	254	254
微 生 物 付 属 棟	"	263	263

排水処理棟	鉄筋コンクリート平屋建	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 及び鉄骨造り平屋建	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平屋	344	346
RIポンプ室	鉄筋コンクリート造り平屋	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		11,241	19,557

## D. 予算 (平成6年度当初予算)

人件費	738,358 (単位: 千円)
物件費	659,927
合計	1,398,285



## E. 奨学寄附金・受託研究費

平成6年度奨学寄附金受入

奨学寄附金 7,048千円

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)	奨学寄附金 納付額	寄附金の目的及び条件	備考
静岡県三島市谷田 1706-8 財団法人 遺伝学普及会 会長 近藤典生	250,000円	平野博之助手への研究助成 (海外渡航)	
神奈川県川崎市中原区上小田中 1015 株式会社 富士通研究所 代表取締役社長 大槻幹雄	1,000,000円	遺伝子コーティング領域の 推定に関する助成	
埼玉県大宮市土屋 1795-24 株式会社古環境研究所 代表取締役 杉山信二	1,000,000円	植物遺体の DNA 分析	
神奈川県横浜市緑区鴨志田町 1000 三菱化成株式会社総合研究所 常務取締役所長 小野田 武	1,000,000円	インフルエンザウィルス RNA ポリメラーゼの研究 助成	
静岡県三島市文教町 1-4-60 文教住宅 2-206 分子遺伝研究部門 藤田信之 (井上科学振興財団)	250,000円	第16回国際生化学・分子 生物学会議及び第3回ア ジア転写会議に出席のため	
福島県福島市松川町美郷 4-1-1 株式会社 創薬技術研究所 代表取締役常務 岡崎 潔	1,000,000円	ウィルス増殖の分子機構の 研究	
東京都港区芝大門 1-12-60 財団法人 住友財団 理事長 巽 外夫	1,000,000円	基礎科学研究助成のため	
東京都港区芝大門 1-12-60 財団法人 住友財団 理事長 巽 外夫	1,048,000円	ショウジョウバエ近縁種間 の雑種不適合遺伝子の探索 の研究助成	
静岡県御殿場市駒門 1-135 中外製薬株式会社 創薬開発研究所 牛尾秀敏	500,000円	ES細胞の発生工学に関する 基礎研究	
静岡県三島市文教町 1-4-60 無脊椎動物保存研究室 林 茂生 (内藤記念科学振興財団)	1,300,000円	研究助成金 (内藤記念科学 奨励金)	
神奈川県横浜市青葉区鴨志田町 1000 三菱化学株式会社横浜総合研究所 取締役所長 相楽光男	1,000,000円	インフルエンザウィルス RNA ポリメラーゼの研究 助成のため	
東京都港区芝大門 1-12-60 財団法人 住友財団 理事長 巽 外夫	752,000円	ショウジョウバエ近縁種間 の雑種不適合遺伝子の探索 の研究助成	
東京都港区芝大門 1-12-60 財団法人 住友財団 理事長 巽 外夫	800,000円	基礎科学研究助成のため	
合 計	109,000,000円		

## 平成6年度受託研究受入

受託研究費 13,335 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(円)
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6年11月1日 至平成7年3月20日	農業生物 資源研究 所	9,760,000
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6年11月28日 至平成7年2月28日	理化学研 究所	2,575,000
筋ジストロフィー 及び類縁疾患の病 体と治療法に関す る研究	人類遺伝研究部門 助教授 寶来 聰	自平成6年12月2日 至平成7年3月31日	国立精神・ 神経セン ター武蔵 病院	1,000,000
合 計				13,335,000

## F. 日 誌

1月12日	第40回運営協議員会
3月3日	第41回運営協議員会
3月28日	第22回評議員会
4月16日	一般公開
6月13日	第42回運営協議員会
6月22日	第23回評議員会
7月26日	第43回運営協議員会
9月22日	第44回運営協議員会
11月5日	公開講演会

## 教授会議

1月25日 第185回	2月22日 第186回
3月15日 第187回	4月12日 第188回
4月26日 第189回	5月10日 第190回
5月31日 第191回	6月14日 第192回
6月28日 第193回	7月19日 第194回
9月12日 第195回	9月27日 第196回
10月18日 第197回	11月8日 第198回
11月22日 第199回	12月9日 第200回

## 外国からの主な来訪者

- 平成3年12月1日～ Thangirala Sudha, Indian Association for Down's Syndrome, India
- 平成5年8月27日～ Ashok Kumar, University of Edinburgh, U.K.
- 平成6年7月5日
- 平成5年10月5日～ Dzhanymbek M. Adyshev, Institute of Biochemistry and Physiology, Kyrgyz Academy of Sciences, Kyrgyz
- 平成5年12月1日～ Riitta H. Mikkola, Uppsala University, Sweden
- 平成6年3月10日
- 平成5年12月1日～ Stefanie A. Margaron, University of Nottingham Medical School, U.K
- 平成6年2月20日
- 平成5年12月3日～ Dipankar Chatterji, Centre for Cellular and Molecular Biology, India
- 平成6年4月15日
- 平成6年1月13日 Elizabeth Kutter, Harvard Medical School, U.S.A.
- 1月13日 Roberto Kolter, Harvard Medical School, U.S.A.
- 1月13日 G. P. Georgiev, Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Russia
- 2月28日 Patrick Argos, European Molecular Biology Laboratory, Germany
- 3月1日 Geoff Barton, University of Oxford, U.K.
- 3月10日～ 徐学洙, 嶺南大学, 韓国
- 3月14日 John Hershey, University of California at Davis, U.S.A.
- 3月14日 Charles R. M. Bangham, John Radcliffe Hospital, U.K.
- 3月16日 Leif Isaksson, University of Stockholm, Sweden
- 3月17日 Russel Doolittle, University of California, U.S.A.
- 3月25～30日 Hans Bode, University of California at Irvine, U.S.A.
- 4月1～28日 Guy B. Perriere, Centre National de la Recherche Scientifique, France
- 4月3～7日 湯陵華, 江蘇省農業科学院, 中国
- 5月2～4日 V. Purushothaman, India
- 5月2～15日 William B. Provine, Cornell University, U.S.A.
- 6月5～15日 Otto Haller, University of Freiburg, Germany
- 6月10日～ 才宏伟, 北京農業大学, 中国
- 6月27日～9月30日 Joshua R. Kohn, University of California at San Diego, U.S.A.
- 6月29日 M. K. Tadjudin, University of Indonesia, Indonesia
- 6月30日～7月30日 Marcy K. Uyeno, Duke University, U.S.A.

- 7月 5~27日 K. W. Jair, Maryland University, U.S.A.
- 7月 8日~8月 24日 S. Wedgewood, University of Edinburgh, U.K.
- 7月 8日~8月 29日 Konstanze Beck, University of Munich, Germany
- 7月 8日~8月 29日 Mark T., Seielstad, Harvard University, U.S.A.
- 8月 5~ 6日 Joseph Shlomai, Hebrew University—Hadassah Medical School, Israel
- 8月 31日 Julius Adler, University of Wisconsin, U.S.A.
- 9月 1日~ John R. Wakeley, University of California at Berkeley, U.S.A.
- 9月 21日~10月 13日 Hans-Juergen Bandelt, University of Hamburg, Germany
- 9月 23日~10月 3日 Hans Bode, University of California at Irvine, U.S.A.
- 9月 24日~10月 5日 Charles David, University of Munich, Germany
- 9月 24日~10月 5日 Maria de Haro, University of Munich, Germany
- 9月 25日~10月 1日 Tomas Bosch, University of Munich, Germany
- 9月 25日~10月 1日 Jan Lohmann, University of Munich, Germany
- 10月 3日~29日 Chittrakon Songkran, Pathumthani Rice Research Center, Thailand
- 10月 3~11月 29日 Goonnapa Fucharoen, Khon Kaen University, Thailand
- 10月 13~23日 Hans Bode, University of California at Irvine, U.S.A.
- 10月 17~18日 Robert Craigie, NIDDK, National Institutes of Health, U.S.A.
- 10月 20~21日 D. Balasubramanian, Centre for Cellular and Molecular Biology, India
- 11月 8日~12月 24日 L. W. Chuang, Singapore University of Technology, Singapore
- 11月 8日~12月 9日 Y.E.L. Elgin, Singapore University of Technology, Singapore
- 11月 9~11日 鈴木 理, MRC Laboratory of Molecular Biology, U.K.
- 11月 15日 Nyles W. Charon, West Virginia University, U.S.A.
- 11月 22~12月 24日 Yap E. Lin, Singapore University of Technology, Singapore
- 12月 7日 原田登之, DNAX Research Institute of Molecular and Cellular Biology, U.S.A.
- 12月 8~ 9日 Alan M. Weiner, Yale University School of Medicine, U.S.A.
- 12月 9日 Jerard Hurwitz, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, U.S.A.

12月12日	Lisa Nagy, University of Wisconsin, U.S.A.
12月18~19日	末岡 登, 末岡多美子, University of Colorado at Boulder, U.S.A.
12月18~	K. Sharif, New York City University, U.S.A.
12月19日	Giorgio Bernardi, Institut Jacques Monod, France
12月20~21日	Fujiko Watt, CSIRO, Australia

## G. 諸 会

研究活動を促進するために次の会を行う。

### 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開かれる。

### Biological Symposium

- |       |       |  |
|-------|-------|--|
| 第408回 | 1月13日 | 1. The transition from host to phage metabolism after T4 infection (Elizabeth Kutter)<br>2. Cellular and population responses to starvation in <i>E. coli</i> (Roberto Kolter) |
| 第409回 | 1月13日 | DNA domains : The role of transcriptional control, replication and recombination (G. P. Georgiev)  |
| 第410回 | 3月14日 | 1. Ribosomal phenotype and bacterial growth (Riitta Mikkola)<br>2. Structure and regulation of eukaryotic translation initiation factors (John Hershey)                        |
| 第411回 | 3月16日 | Ribosomal pausing; some reasons and consequences (Leif Isaksson)   |
| 第412回 | 2月28日 | Recognizing distant and evolutionary relationships amongst protein sequences with special application to viral capsids (Patrick Argos)   |
| 第413回 | 3月1日  | Prediction and recognition in signal transduction pathways (Geoff Barton)  |
| 第414回 | 3月14日 | HTLV-I sequence variability is associated with disease (Charles R. M. Bangham)   |
| 第415回 | 3月17日 | Sporadic distribution of Fn3 domains in animal and bacterial proteins (Russel Doolittle)   |
| 第416回 | 3月28日 | Hydra: how does it maintain its nervous system as it constantly produces and loses neurons? (Hans R. Bode)   |
| 第417回 | 4月13日 | Structure-Function relationships of <i>Escherichia coli</i> RNA polymerase (Dipankar Chatterji)  |

- 第 418 回 6 月 6 日 Mx proteins: antiviral activity against tick-borne Thogoto and Dhori viruses (Otto Haller)
- 第 419 回 7 月 26 日 1. Micro- and macroevolutionary analysis of breeding system diversity in the Pontederiaceae (Joshua R. Kohn)  
2. Evolution of mating incompatibilities (Marcy K. Ueno-yama)
- 第 420 回 8 月 5 日 A telomeric-like sequence as a regulatory element at the origin of replication of trypanosomal kinetoplast DNA (Joseph Shlomain)
- 第 421 回 8 月 31 日 Negative phototaxis by *Escherichia coli* bacteria and 100-fold increased phototaxis by a mutant (Julius Adler)
- 第 422 回 10 月 5 日 Combination of data in phylogenetic analysis (Hans-Jurgen Bandelt)
- 第 423 回 10 月 17 日 Mechanism of HIV DNA integration (Robert Craigie)
- 第 424 回 10 月 21 日 Biochemical and biophysical changes in the human eye lens with ageing and in cataract (D. Balasubramanian)
- 第 425 回 11 月 15 日 How spirochetes swim? (Nyles W. Charon)
- 第 426 回 12 月 7 日 The signal transduction mechanism of interleukin-4 (Nobuyuki Harada)
- 第 427 回 12 月 9 日 "The genomic TAG hypothesis; modern viruses as molecular fossils of ancient strategies for genomic replication, and clues regarding the origin of protein synthesis" and "evolution of U2 RNA genes" (Alan M. Weiner)
- 第 428 回 12 月 9 日 In vitro control of SV40 DNA replication (Jerard Hurwitz)
- 第 429 回 12 月 12 日 Early segmentation in flies, beetles and butterflies (Lisa Nagy)
- 第 430 回 12 月 21 日 Transcriptional regulation of the N-ras oncogene: *in vitro* analysis of a TATA-less promoter (Fujiko Watt)
- 第 431 回 12 月 19 日 1. Dual errors hypothesis of variation and heterogeneity of DNA base composition (Noboru Sueoka)  
2. Isochore-Genome structure of higher organisms (Giorgio Bernardi)

## 三島遺伝談話会

- 第 415 回 1 月 10 日 転写開始における RNA ポリメラーゼ II CTD のリン酸化の役割と制御 (芹澤宏明)
- 第 416 回 1 月 7 日 アミノ酸配列からの DNA 結合特異性予測法の進歩 (鈴木 理)
- 第 417 回 1 月 31 日 蛋白質リン酸化を介した放線菌の二次代謝の制御機構 (石塚広司)
- 第 418 回 2 月 1 日 細菌の接合伝達の開始に必要な領域の解析: 接合伝達遺伝子 traM の役割 (阿保達彦)
- 第 419 回 2 月 2 日 緑膿菌の熱ショック応答遺伝子の発現制御 (藤田昌也)
- 第 420 回 2 月 15 日 5'TA3'に部位特異的転移を行うトランスポゾン IS630 と TnrI に関する研究 (天前豊明)
- 第 421 回 2 月 15 日 ヒト 21 番染色体セントロメア・アルホイド DNA 領域の分子構成 (池野正史)
- 第 422 回 2 月 16 日 出芽酵母を用いた減数分裂期の相同組替え開始制御因子の解析 (定塚勝樹)
- 第 423 回 3 月 1 日 ステロイドホルモン産生細胞特異的転写因子 "Ad4BP" の機能と発生過程における発現 (諸橋憲一郎)
- 第 424 回 2 月 21 日 MHC 遺伝子の多型に基づくヒト集団の進化 (今西 規)
- 第 425 回 3 月 23 日 ショウジョウバエ神経系の初期発生過程を制御する遺伝子群の同定とその哺乳類神経系への応用 (岡野栄之)
- 第 426 回 4 月 19 日 ショウジョウバエの飛翔不能突然変異 (最上 要)
- 第 427 回 4 月 20 日 キイロショウジョウバエの可動遺伝因子と自然突然変異 (原田光)
- 第 428 回 4 月 27 日 ゲノム構造と染色体機能の連携を遺伝学的に解析する試み (倉田のり)
- 第 429 回 4 月 28 日 植物の光受容蛋白質フィトクロムの分子種とその機能分化 (長谷あきら)
- 第 430 回 4 月 28 日 高等植物ゲノムの動的解析 (荻原保成)
- 第 431 回 5 月 6 日 インターロイキン 4 のシグナル伝達機構 (出原賢治)
- 第 432 回 5 月 24 日 RNaseH の立体構造と機能 (森川耿右)
- 第 433 回 5 月 30 日 細胞周期制御遺伝子 RCC1 産物の機能ドメインの解析 (清野浩明)
- 第 434 回 6 月 7 日 四肢の形態形成とレチノイン酸 (田村宏治)
- 第 435 回 6 月 27 日 Transmembrane Signaling of the Aspartate Receptor (丸山 一郎)
- 第 436 回 7 月 22 日 同義および非同義置換数の推定 (伊奈康夫)
- 第 437 回 7 月 27 日 植物の遺伝研究における形象と機能 (福井希一)

- 第 438 回 11 月 2 日 線虫 *Caenorhabditis elegans* をモデル系とした細胞死抑制因子の解析 (杉本亜砂子)
- 第 439 回 11 月 24 日 大腸菌 RuvC 蛋白質 (Holliday junction resolvase) の構造と機能 (森川耿右)
- 第 440 回 12 月 20 日 ショウジョウバエ TGH-b スーパーファミリーメンバー dpp (decapentaplegic) の形態形成における役割 (森村 茂)
- 第 441 回 12 月 21 日 ヌクレオソームの構造と転写活性 (浦 聖恵)

## H. 栄 誉

分子遺伝研究系教授石浜 明は、「RNA ポリメラーゼを軸とした転写制御の研究」により、平成 6 年 5 月 12 日、中日文化賞を受賞した。

## I. 図書及び出版

図書委員長 (1994 年度) 池 村 淑 道  
 図書委員長 (1994 年度) 城 石 俊 彦・豊 田 哲 也・東 谷 篤 志・  
 服 田 昌 之・山 田 正 明・中 島 衡・  
 平 岡 洋 一 郎・宮 下 信 泉・平 野 博 之

### 1) 蔵書数

和 書	3,136 冊	冊製本雑誌を含む
洋 書	16,027 冊	〃
計	19,163 冊	

### 2) 1994 年図書増加冊数

和 書	122 冊	製本雑誌を含む
洋 書	329 冊	〃
計	451 冊	

### 3) 雑 誌

	購 入	寄 贈	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 44 号	216	700 部	国内研究機関, 大学, 試験場ほか
Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. No. 44	140	800 部	国外研究機関, 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, 中辻憲夫
評 議 員	田島彌太郎, 大島長造, 斎藤日向, 重藤學二, 松永 英, 吉野達治, 高垣善男, 瀬野悍二, 館野義男
監 事	今村 孝, 森島啓子, 桂 勲
顧 問	森脇大五郎

---

国立遺伝学研究所年報 第45号

平成7年9月25日 印刷

平成7年9月29日 発行

発行者 富 澤 純 一

国立遺伝学研究所内

編集者 館野義男・城石俊彦

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

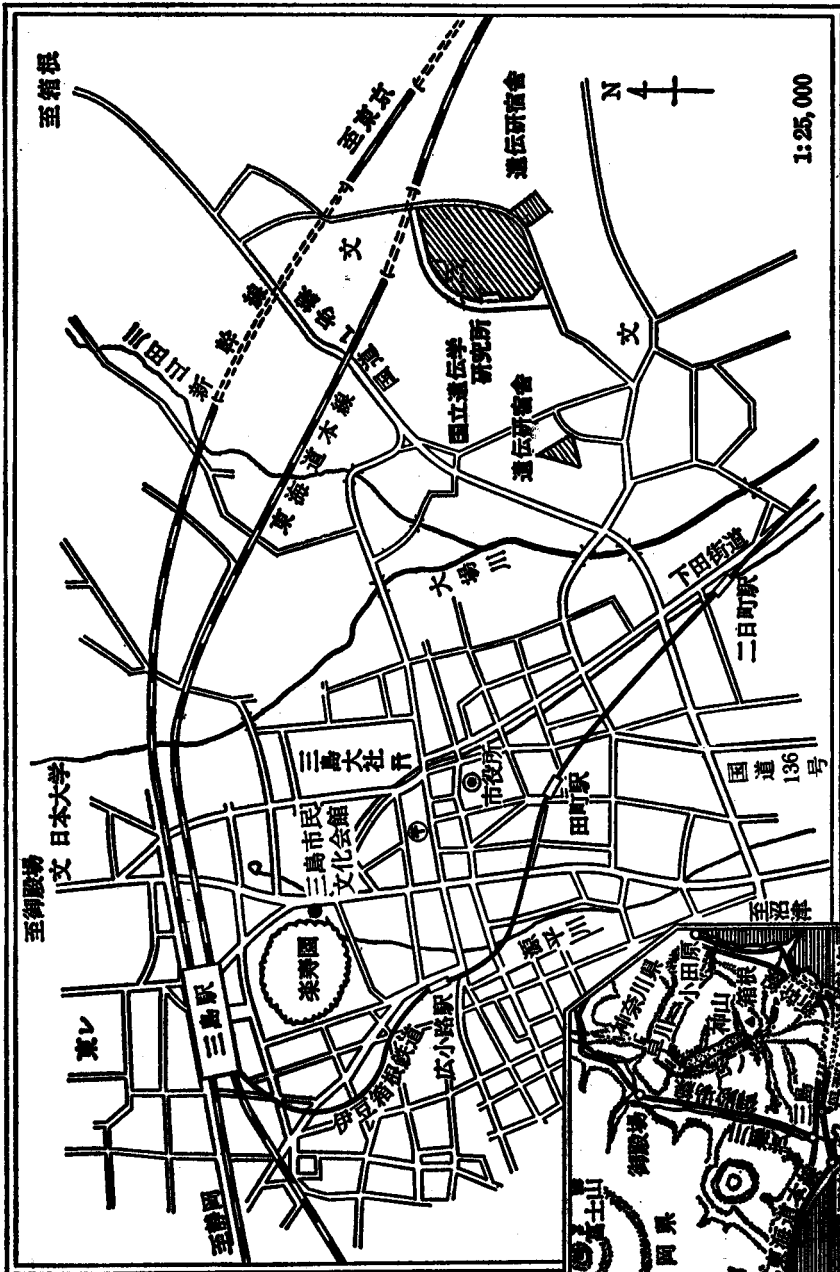
東京都新宿区高田馬場 3-8-8

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) (81) 6718

---



国立民俗学研究所位置図

