

国立遺伝学研究所年報

第 46 号

(平成 7 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 の 概 要	5
	A. 分子遺伝研究系	5
	A-a. 分子遺伝研究部門	5
	A-b. 変異遺伝研究部門	18
	A-c. 核酸化学研究部門	23
	B. 細胞遺伝研究系	25
	B-a. 細胞遺伝研究部門	25
	B-b. 微生物遺伝研究部門	28
	B-c. 細胞質遺伝客員研究部門	35
	C. 個体遺伝研究系	38
	C-a. 発生遺伝研究部門	38
	C-b. 形質遺伝研究部門	43
	C-c. 生理遺伝研究部門	54
	D. 集団遺伝研究系	59
	D-a. 集団遺伝研究部門	59
	D-b. 進化遺伝研究部門	62
	D-c. 理論遺伝研究部門	71
	E. 総合遺伝研究系	73
	E-a. 人類遺伝研究部門	73
	E-b. 育種遺伝研究部門	86
	E-c. 応用遺伝研究部門	93
	F. 遺伝実験生物保存研究センター	95
	F-a. 哺乳動物保存研究室	96
	F-b. 無脊椎動物保存研究室	106
	F-c. 植物保存研究室	110
	F-d. 微生物保存研究室	111
	F-e. 遺伝資源研究室	116
	F-f. 発生工学研究室	117
	G. 遺伝情報研究センター	121
	G-a. 構造研究室	121
	G-b. 組換え研究室	124
	G-c. 合成研究室	129
	G-d. 遺伝子ライブラリー研究室	131
	H. 生命情報研究センター	138
	H-a. 遺伝情報分析研究室	139
	H-b. 遺伝子機能研究室	149
	H-c. 大量遺伝情報研究室	151
	I. 放射線・アイソトープセンター	153
	J. 実験 圃 場	156
IV.	海外における活動	157
V.	ほかの機関における講義	161
VI.	共同研究事業	162
VII.	研究材料・研究情報の収集と保存	168
VIII.	行 事	192
IX.	庶 務	194
	A. 沿	194
	B. 組織（機構と職員）	195
	C. 土地及び建物	219
	D. 予 算	220
	E. 奨学寄附金・受託研究費	221
	F. 日 誌	223
	G. 諸 会	226
	H. 栄 誉	231
	I. 図書及び出版	231
	付: 財団法人遺伝学普及会	236
X.	総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻の概要	238

国立遺伝学研究所年報

第46号 平成7年



研究実験棟

国立遺伝学研究所

1996年発行

I. 巻 頭 言

“Publish or Perish”

外国でしばしば使われるこの標語は基礎科学の研究者に対して、「論文を書きなさい。さもないと、相手にされなくなるぞ。」と警告したもので、少々過激な標語である。私はこの標語を研究組織の規範とすることには少々のためらいを感じるが、個々の研究者としては当然心すべきことと思っている。

科学は研究成果の公表と、その正当な評価が行なわれて初めて健全な発展が期待される。現在の基礎科学の研究者が成果を公表し他の研究者から評価を受ける道は学術誌への発表以外にはない。学会での発表は、限られた人に対する発表で公表とは程遠いものである。また、日本語での発表は基礎科学の国際性を考えれば、公表としての価値は極めて少ない。さらに、日本語での論文は、外国の研究者からの批判がないことを前提として書かれるため、正当な批判に対する用意に欠け、公表としての信頼性をもたないものが少なくない。このようにして、誠に困ったことだが、英文での公表だけが意味を持つことになる。このためのハンディキャップはきわめて大きい。このことを認めたくて、敢えて記すと、実は最も大きな問題は英語の表現ではなくて、言語を厳密に、また論理的に使わないですませてきた習慣とそれを容認してきた教育にあると思う。科学論文の英語は厳密かつ論理的であることが条件で、必ずしも、美文が要求されるわけではない。英語で書かれた科学論文の改良が要求される場合、問われているのは、ほとんどの場合に言語の表現ではなく論理の欠陥である。表現を改良するための協力を得ることはさして困難ではない。しかし、研究者自身の自覚なしに論理の欠陥を改めることは不可能に近い。

ところで、研究者が論文を書くのを億劫がるのは、皮肉なことに、実は実験が好きだからだと思う。しかし、研究の目的が成果の公表なしには完結しないことを考えれば、データを出すことだけで満足するのは、好きなことだけをやっていればよいとするのと同じで、研究者としての責務を果たすことにならない。これを避けるには、研究成果を内外の批判に耐える形で公表するために十分な努力をする以外にはない。

勿論、新しい事実を見出すことなしに研究は進まない。しかし、その発見を厳密かつ論理的に展開して初めて研究の成果が認められる。細菌やネズミを扱い、コンピューターを操作するのは楽しいことだ。しかしこの楽しみに勝るとも劣らない楽しみが、論文を書くことにあるのを見出し、研究の真の楽しみを知っていただきたいと思う。この時に、おそらく、自分の主張を明確にすること

の必要性を通じ、研究の営みが社会的なものであることを知ると思う。

ここに記したことは、それぞれの直接的な成果が期待される技術、事務職員には当てはまらない。研究者とは異なり、確実な結果が期待できるなかに楽しみが見い出されるのではないだろうか。

総合研究大学院大学生命科学研究科の遺伝学専攻を担当し、32名の後期学生の教育指導を行っており、9名が理学博士の学位を取得した。そのほか、COEの非常勤研究員4名を含む約10名のポストドクの研究指導を行ない成果をあげている。

年報の様式を従来のものから少し変更した。研究部門ごとの成果を明確にし、読者の理解を助けるとともに、研究と業務の評価を容易にすることを心がけた。

今年には重要な組織の変更があり、また人事の移動があった。

遺伝情報研究センターの情報部門が独立し、4部門からなる生命情報研究センターが設置された。これに伴い構造遺伝学研究センターが設置される予定である。この改組は研究および業務に関して時代の要請にこたえたもので、さらなる発展が期待される。

昨年に続き人事の異動はさかんで、育種遺伝研究部門の佐野芳雄助教授は北海道大学農学部教授として、集団遺伝研究部門の田嶋文生助教授は東京大学大学院理学系研究科教授として、分子遺伝研究部門の豊田哲也助手は久留米大学医学部教授として、同部門の山岸正裕助手は愛知県がんセンターの主任研究員として転出した。

一方、小川智子教授、田中茂生助手が細胞遺伝研究部門に、小出 剛助手が哺乳動物保存研究室に、後藤 聡助手が無脊椎動物保存研究室に、伊藤幸博助手が植物保存研究室に、山崎由紀子助教授が遺伝資源研究室に、白木原康雄助教授が合成研究室に、新設の大量遺伝情報研究室に西川 建教授が採用された。今後の活発な研究活動を期待したい。

また昨年度に着工した新研究棟が3月に完成し、本館より分子遺伝、微生物遺伝、形質遺伝、進化遺伝、人類遺伝の各研究部門が新棟へ移動し、これに伴い本館の改修工事が行なわれ、着々と整備が進められている。

次の3名が学会より表彰された。五條堀 孝教授は「病原性ウイルスの起源と進化に関する研究」による木原記念財団学術賞、斎藤成也助教授は「系統樹作成法の開発を中心とする分子進化学の研究」による日本遺伝学会奨励賞、嶋本伸雄助教授は「DNAの伸展固定のための静電的方法とその応用」による Prize Paper Award, First Prize (米国応用工学会 IAS)。また、富澤純一は米国国立科学アカデミーの外国人名誉会員に選定された。

II. 研究室一覽

(平成7年12月31日現在)

研究系等	研究部門名	教授	助教授	助手
分子遺伝研究系 研究主幹(併) 石濱 明	分子遺伝研究部門	石濱 明		藤田 信之
	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	森川 耿右(非)	山岸 正裕(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	小川 智子	今井 弘民	後藤 英夫(休) 藤田 中茂 生
	微生物遺伝研究部門	堀内 賢介	安田 成一	原東 谷篤 弘志
	細胞質遺伝客員研究部門	大坪 栄一 山村 研一		
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 裕之 田 昌
	形質遺伝研究部門	廣瀬 進	村上 昭雄	湊山 田正 清明 上 田均
	生理遺伝客員研究部門	宗岡 洋二郎	奥村 克純	
集団遺伝研究系 研究主幹(併) 池村 淑道	集団遺伝研究部門	原田 朋子 (太田)		高野 敏行 伊奈 康夫
	進化遺伝研究部門	池村 淑道	斎藤 成也	松本 健一 天前 健豊
	理論遺伝客員研究部門	高畑 尚之	館田 英典	
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 聡夫 藤山 秋佐	出原 賢治
	育種遺伝研究部門	沖野 啓子 (森島)		平野 博之
	応用遺伝客員研究部門	島本 義也	佐々木 裕之	

研究系等		研究部門名	教授	助教授	助手
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		城石俊彦	小出剛
		無脊椎動物保存		林茂生	後藤聡
		植物保存			伊藤幸博
		微生物保存		西村昭子	金丸研吾
		遺伝資源		山崎由紀子	藤田昌也
		発生工学	中辻憲夫		白吉安昭
研 究 施 設	遺伝情報研究センター センター長(併) 桂勲	構造		嶋本伸雄	永井宏樹
		組換え	桂勲		石原健
		合成		白木原康雄	
		遺伝子ライブラリー		小原雄治	安達佳樹
研 究 施 設	生命情報研究センター センター長(併) 五條堀孝	遺伝情報分析	五條堀孝		池尾一穂規 今西
		大量遺伝情報	西川建		
		遺伝子機能	舘野義男		
		分子分類			
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. 研究の概要

A. 分子遺伝研究系

A-a. 分子遺伝研究部門

分子遺伝研究部門では、教授・石浜 明、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、外国人研究員・Ozoline, O. (ロシア科学アカデミー・生物物理学研究所, 遺伝研客員教授), Kundu, T. M. (インド科学研究所), Chatterji, D. (インド細胞分子生物学センター), Gowrishankar, J. (インド細胞分子生物学センター), 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), COE 非常勤講師・櫻井仁美, 日本学術振興会博士研究員・木村 誠, 総合研究大学院学生・草野秀一, 根岸智史, 村上勝彦, 安井潔, 特別研究学生・宮尾武孝(京都大学大学院薬学研究科), 渡辺貴斗(東京大学大学院農業生命科学研究科), 総研大研究生・寺社下美樹, 委託研究員・浅野幸康(創薬技術研究所), 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・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。なお, 山岸正裕は, 本年4月愛知がんセンター研究所生物部主任研究員として, 豊田哲也は, 本年6月久留米大学医学部ウイルス学教室教授として転出した。

平成7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」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 β サブユニットの構造と機能」(藤田信之), 試験研究(B)「インターネットにおける電子辞書利用システムの開発」(代表者・京大・薬・金子周司), 国際学術研究「転写装置の分子解剖」(石浜 明), 国際学術研究「放線菌 RNA ポリメラーゼの構造と機能の解析」(藤田信之), 特別研究員奨励費「出芽酵母 RNA ポリメラーゼ II の構造と機能の解析」(木村 誠), また国立遺伝学研究所特定研究「染色体構築」(代表者・瀬野悍二), 「遺伝子高次機能の多面的総合的研究」(代表者・中辻憲夫)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・薬・丸山徳見), (2) 細胞増殖制御遺伝子の発現調節機構(愛知がんセンター研究所・松影昭夫), (3) Q β ファージ 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), (4) 増殖定常期大腸菌 RNA ポリメラーゼの主要シグマ因子 σ^{38} (*rpoS* 遺伝子産物)

の研究 (東大・分生研・田中 寛), (5) 大腸菌の増殖段階移行に伴う RNA ポリメラーゼとリボゾームの動態の研究 (京大・理・和田 明), (6) 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)。

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、RNA ポリメラーゼと転写調節因子の立体構造に基づく相互作用と動態を解明する本質的研究に移行しつつあり、また一方ではゲノム全体の遺伝子を対象とした転写制御の全体論的研究の時代に入った。さまざまな自然環境で、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、この両方への研究の分化を先導する役割を果たしてきた。

(1) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ α 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、 α 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。この領域内の構造—機能相関について解析するため、アラニン—セリンのジペプチド挿入変異体の解析を行い、この領域内で、 $\beta\beta'$ サブユニット結合により重要な部位を推定した (文献 13)。さらに、 α サブユニットの N 端領域で、欠失・挿入変異で、サブユニット集合に必要と推定した領域内で、生物種間で保存性の高いアミノ酸残基を特に注目し、アラニンに置換した変異蛋白質を 19 種を作製し、*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 β 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、 β' の結合は認められなかった。以上の結果より、 α 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た (文献 14)。これらの結果を総合して、次のような機能地図を提出した。(i) α 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。(ii) β との相互作用には、45 位、80 位の領域が関与する。(iii) β' 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 α サブユニットの分子解剖—C 末端ドメインの構造機能相関: 根岸智史, 藤田信之, 京極好正¹, 石浜 明 (¹大阪大学蛋白質研究所)

大腸菌 RNA ポリメラーゼの α サブユニットは二つの構造ドメインで構成され (文献 22)、N 末端ドメイン (アミノ酸残基 21-235) はサブユニット集合に、C 末端ドメイン (アミノ酸残基 236-329) は多くのクラス I 転写因子による転写活性化に関与していることが知られている。C 末端ドメイン (アミノ酸残基 249-326) の NMR による構造解析の結果、4 つのヘリックスが存在し、ドメインの両端にあるループ構造で囲まれたコンパクトな構造をとっていることが分かった (文献 9)。*rmB* 遺伝子 P1 プロモーター UP エlement に相当する DNA (25bp) の添加によって得られた構造情報 (ケミカルシフト) より、ヘリックス 1 とヘリックス 4 の N 末端部分とループ領域 (ヘリックス 3 とヘリックス 4 の間)

が UP エlement に結合していることが明らかになった。またこれまでわれわれが行った変異実験の結果では、ヘリックス 1 とヘリックス 4 はまた一群の転写因子 (CRP, OxyR, SoxS, TyrR など) と結合するサイトであることが示唆されている (文献 3, 19, 20, 26)。これらクラス I 転写因子との結合サイトの同定はこれまで変異体を用いた遺伝解析によって行われてきた。遺伝解析で得られた機能部位地図を検証することを目的として、構造解析の結果を参考にヘリックス 1 表面にある CRP 結合サイトを中心に各種のペプチドコレクションを作製し、ペプチドによる CRP- α 相互作用の拮抗阻害を期待して、転写抑制実験を行ってきた。予備的には、遺伝解析で CRP との相互作用と推定された領域に相当する配列のペプチドが、転写を阻害した。

(3) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニット C 末端ドメインの分子解剖—CRP および DNA エンハンサーエレメントとの分子間接点の同定: 村上勝彦・藤田信之・石浜 明

大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニットの C 末端転写活性化ドメインには、クラス I 転写因子や、プロモーター上流域の DNA エンハンサーエレメント (UP エlement) との相互作用部位があり、これらとの分子間直接コンタクトにより転写が制御されると推定された。 α サブユニット転写活性化ドメインが関与する転写制御機構の解明を目的とし、cAMP 受容体蛋白質 (CRP) との相互作用部位を含む領域 (258-275, 297-298 アミノ酸残基) の点突然変異コレクションを作成した。これらを発現・純化し、変異体 RNA ポリメラーゼを再構成して、CRP および UP エlement との相互作用に関わるアミノ酸残基を *in vitro* 転写系および DNase I footprinting 法を用いて解析した。その結果、CRP との相互作用と、DNA との相互作用領域は互いに重なっており、この領域では、CRP および DNA との相互作用に共に用いられるアミノ酸残基と、CRP のみ、または DNA のみと相互作用する残基に分類された。また、CRP および UP エlement に依存した転写の活性化のいずれにも、 α サブユニットの Arg-265 が重要な働きをしていることが分かった。以上のことにより、大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニットの C 末端領域は、分子構造の大きく異なる蛋白質と DNA とを共に認識できる、新規のドメインを有することが明らかとなった。また、この領域のアミノ酸残基は、バクテリアからクロプラストまでの範囲でよく保存されていることから、転写制御因子との一般的な相互作用部位であることが示唆された。現在、 α サブユニット点突然変異コレクションを用いて、CRP 以外の転写因子との相互作用の解析を進めている。

(4) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ σ サブユニットの合成調節機構の解明: 寺社下美樹, 石浜 明

大腸菌 RNA ポリメラーゼの σ サブユニットは、転写プロモーターの認識に関与し、増殖相の移行、環境変化に応じた遺伝子転写パターンの大きさ変動には、 σ サブユニット種の置換が、重要な役割を果たすと考えられている。大腸菌では現在 6 種類の σ サブユニットが同定されているが、各サブユニットの細胞内の量については殆ど知られていなかった。 σ サブユニットの細胞内含量がどのように調節されているかを解明するために、ウェスタンブロット法による定量を大腸菌 MC4100, W3110 株について試みた。その結果、

対数増殖期の主要シグマである σ^{70} は増殖期から休止定常期まで量的変動はほとんど見られなかったのに対し、休止定常期特異的 σ サブユニットである σ^{38} は増殖期から休止定常期への移行期から発現が増加し、休止定常期においては σ^{70} 量の約 30% に達することが分かった (文献 10)。また、 σ^{38} 量は休止定常期では、高塩濃度条件によってさらに増加し、また対数増殖期では、熱ショックにおいても一時的な増加がみられた。一方、鞭毛形成遺伝子の転写に関与する σ^{28} と窒素代謝に関与する σ^{54} の定量を大腸菌 W3110 株について行ったところ、細胞内含量は増殖期から休止定常期まで一定に維持され、それぞれ σ^{70} 量の約 50%、10% 濃度で存在することが分かった。

(5) 大腸菌 RNA ポリメラーゼ σ サブユニットの機能比較: 草野秀一, Kundu, T. K., 藤田信之, 石浜 明

大腸菌 RNA ポリメラーゼの σ 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 σ 分子種が同定されている。RNA ポリメラーゼ上の σ サブユニットの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 σ サブユニットである σ^{70} 、休止定常期特異的 σ サブユニットであると考えられる σ^{38} 、熱ショック応答に関わる遺伝子の転写に関わる σ^{32} 、鞭毛蛋白質遺伝子の転写に関わる σ^{28} の 4 種の σ サブユニットを大量に調製し機能の比較を試みた。

σ^{38} と σ^{70} のプロモーター選択性は標準反応条件では似かよっており、 σ^{38} 依存的に効率よく転写されるプロモーターは全て弱いレベルではあるが σ^{70} 依存的に転写された (文献 16, 25)。一定量のコア酵素に対する σ^{38} の結合親和性は、 σ^{70} に比べて弱く、また σ^{38} で飽和させたホロ酵素の、プロモーター結合能も σ^{70} ホロ酵素より弱かった。この段階では、定常期での σ^{38} 依存性遺伝子への切替は説明できなかった。ところが、転写反応液組成を変えた時、両者に異なった影響を与えた。例えば、高濃度のグルタミン酸カリウムによって、高浸透圧応答遺伝子プロモーターの $E\sigma^{38}$ による転写は著しく昂進された (文献 4)。さらに、高濃度のトレハロースによっても $E\sigma^{38}$ による転写は著しく昂進され、しかも、この効果はプロモーターの種類によらず観察された。DNA 高次構造形成の影響でも両者では明らかかな差を示した。 $E\sigma^{38}$ は σ^{70} を含むホロ酵素 ($E\sigma^{70}$) に比べて、低い超らせん密度を要求することが明かとなった。一方、 σ^{28} と σ^{70} のプロモーター選択性は明らかに異なり、標準条件でも両者のいずれによっても転写されるプロモーターを見いだすことは出来なかった。また、 σ^{28} の一定量のコア酵素の *in vitro* 転写活性化作用は、 σ^{70} に比べて 2 倍ほど強かった。しかし、高濃度のグルタミン酸カリウムによる鞭毛蛋白質遺伝子プロモーター転写昂進作用は、 σ^{38} と同じ傾向を示した。

II. 真核生物転写装置の研究

真核生物では、最近、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。しかし、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見解が乏しいことが研究進展のネックとなってきた。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に重点を絞って、RNA ポリメラーゼの実体解明の研究を開始した。

(1) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II のサブユニット構成: 櫻井仁美, 鈴木久子, 石浜明

分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) の精製 RNA ポリメラーゼ II には 10 種類以上の蛋白が含まれている。われわれは、精製の最終ステップである Superose 6 カラムで酵素活性と同じ挙動を示す蛋白を調べ、それらを仮にポリメラーゼを構成する蛋白成分と同定した。その結果、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の RNA ポリメラーゼ II の構成蛋白が 12 種と報告されているのに対し、分裂酵母では 10 種の蛋白が一つの大きなコンプレックスを形成していることが分かった。SDS-ゲル電気泳動より算出した蛋白の分子量はそれぞれ 210, 150, 41, 27, 22, 21, 16, 15, 12, 11 kDa であった。210, 150, 41 kDa の蛋白は、当研究室で既に遺伝子を単離しているサブユニット 1 (Rpb1), 2 (Rpb2) 及び 3 (Rpb3) であることをウエスタンブロットにより明らかにした。

それ以外の残りの構成蛋白の素性を調べるためにアミノ酸部分配列を決定した。その結果、27 kDa の蛋白は出芽酵母とヒトの間での保存配列を利用して単離したサブユニット 5 (Rpb5) であり、22 kDa の蛋白は Shpakovski らにより最近単離されたサブユニット 6 (Rpb6) であった。さらに、21, 16, 15, 11 kDa の蛋白はそれぞれ出芽酵母の RPB7, 8, 11 および 10 と相同性があつた。12 kDa の蛋白については現在検討中であるが、分子量及び出芽酵母の知見よりサブユニット 12 であると推定している。これらのことから、分裂酵母の RNA ポリメラーゼ II は 10 種類のサブユニットからなり、その内少なくとも 9 種 (Rpb1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 11, 10) は出芽酵母のサブユニットの類似蛋白であることがわかった。また、出芽酵母に含まれているサブユニット 4 及び 9 (もしくは 12) は分裂酵母にないことから、これらのサブユニットは RNA ポリメラーゼのコア酵素にはふくまれないと考えられる。これら 10 種のサブユニットのそれぞれの働きを明らかにするために全ての遺伝子を単離し、大量発現させた蛋白を用いて再構成系を構築する予定である。

(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, 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 種類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 α 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 Rpb3 の遺伝子 (*rpb3*) を単離しその構造を解析した。Rpb3 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 (文献 2)。その中から速やかに増殖を停止する変異体、数回細胞分裂した後増殖を停止する変異体をそれぞれ 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、その機能欠損がいかにその変異体の形質と関連するか

を解析した(文献2)。その結果, 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ので, *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示唆された。これらの観察より分裂酵母の Rpb3 は大腸菌 RNA ポリメラーゼの α サブユニット同様, サブユニット集合および, 転写調節因子との相互作用の両方に重要であると考えられた。そこで, さらに詳しく Rpb3 の機能を解析するために protein blotting assay 法及び two hybrid system を用いて Rpb3 と相互作用するサブユニット及び転写因子の探索を行った。その結果, Rpb3 が Rpb1 及び Rpb2 と直接相互作用していることが示された。今後はこれらのサブユニットと Rpb3 の結合部位を同定する計画である。

(3) 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II のサブユニット RPB5 と相互作用するタンパクの探索: 宮尾武孝, 山岸正裕, 石浜 明

真核生物 RNA ポリメラーゼ II サブユニット 5(Rpb5) の構造および機能を明らかにする目的で, Rpb5 と相互作用するタンパクの探索を酵母 two-hybrid system により行った。分裂酵母 cDNA ライブラリーをスリーニングし, Rpb5 と相互作用をすると推定される, 多数のポジティブクローンを得た。これまで解析した中で, 4 クローンの DNA 配列が, すでに報告されている RNA ポリメラーゼ I の最大サブユニットの遺伝子 (*rpaI*) と一致した。この結果により, いずれも多分子サブユニット集合体である RNA ポリメラーゼ I, II, III 間で共通のサブユニット Rpb5 は, いずれの RNA ポリメラーゼでも最大サブユニットと相互作用している可能性が示唆された。一方, RNA ポリメラーゼ II におけるサブユニット間の相互作用を調べるために, 精製した RNA ポリメラーゼ II を用いて far-western を行った。部分精製した分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II を SDS-PAGE により各サブユニットを分離し, メンブレンに転写後, ^{32}P で標識した Rpb5 をプローブとして, サブユニット Rpb5 と結合するサブユニットを検出試みた。その結果, Rpb1 と Rpb2 そして Rpb5 自身が Rpb5 と結合していた。今後, two-hybrid system によりこの結果を確認するとともにサブユニット間結合領域を明らかにしていきたい。

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—サブユニット間結合部位の同定: 豊田哲也¹, Adyshev, D. M.², 石浜 明 (¹現: 久留米大学医学部ウイルス学教室, ²現: キルギス科学アカデミー生物工学研究所)

インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの基本単位は, ゲノム RNA 8 分節のうちのサイズの大きい 3 本の RNA によってコードされる蛋白質 (PB1, PB2, PA) 1 分子づつ

からなる複合体である。これら3種のサブユニットの集合機構解明のために、サブユニット相互の結合部位の同定を試みた。この目的のために、各P蛋白質のcDNAを、それぞれ5'側及び3'側から欠失させ、サイトメガロウイルス(CMV)のプロモーターをもつ発現プラスミドベクターに挿入したコレクションを作製した。それぞれのP蛋白質の全長及びN端・C端欠失変異体の発現は、各P蛋白質に対する特異抗体を用いたウエスタンブロット法で確認した。3種の全長P蛋白質cDNAを同時にトランスフェクトすると、いずれのP蛋白質抗体でも全てのP蛋白質が免疫沈降物に回収され、複合体の形成がされていることが判明した。さて、2種P蛋白質cDNAの3種の組合せで同様の実験を行うと、PB1-PB2、PB1-PAの複合体は検出されたが、PB2-PA複合体は回収されず、インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼが、PB1を中核として、PB2-PB1-PAの連結となっていることが示唆された。各P蛋白質の欠失変異体を用いた解析から、PB2のC端がPB1のN端領域と、PAのN端がPB1のC端領域に結合していることが示唆され、インフルエンザウイルスのサブユニット集合様式的全貌が明らかになってきた。

(2) インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼの分子解剖—RNA合成機能部位の同定：浅野幸康¹，石浜 明¹(現：三和化学中央研究所)

インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼの機能部位同定の分子解剖の一環として、RNA合成の基質ヌクレオチド結合部位の同定を試みた。そのために、³²Pで標識したアジドGTP(N₃GTP)とウイルスRNPコアと混合したのち、紫外線照射をし、蛋白質にクロスリンクさせた。SDSゲル電気泳動によって、N₃GTPがPB1にだけ結合していることが同定され、従来遺伝解析から推定されていた、PB1が触媒活性を担うサブユニットであるとの予定を支持した。PB1上のN₃GTP結合部位を同定するために、SDSゲル電気泳動で分離したPB1をV8プロテアーゼで段階的に処理し、切断パターンを決定した。オートラジオグラフによって、PB1蛋白質の中央領域から由来した断片に、N₃GTPを結合していることが判明した。PB1は、N端でPB2と、C端でPAと結合し、中央領域でRNA合成を行っている様相が判明した。

(3) 普通系タバコモザイクウイルス(TMV)OM株RNAレプリカーゼ遺伝子の塩基配列決定と大腸菌における発現：渡辺貴斗，日比忠明¹，石浜 明¹(東京大学農学部)

タバコモザイクウイルス(TMV)ゲノムにコードされている130K/180K蛋白質は、TMVの複製に関与するタンパクであると考えられている。現在までに、数種類のTMV株で、この130K/180K蛋白質の塩基配列が決定され、130Kの領域にメチルトランスフェラーゼおよびRNAヘリカーゼと類似性のある配列、read-through以降の180KのC端領域にRNAレプリカーゼ特有の3アミノ酸配列GDDが全株に共通して存在することが知られている。われわれは今回、TMV-OM株の130K/180K蛋白質をコードする領域の全塩基配列を決定したところ、2つの普通系統であるTMV-KoreanおよびVulgareとそれぞれ98.9%および99.0%の高い相同性を示した。また既知の株と同様に、130Kの領域にメチルトランスフェラーゼおよびRNAヘリカーゼと類似性のある配列、180KのC端領域のGDDの3アミノ酸配列が見いだされた。130Kおよび

180 K-cDNA を pET ベクターに組み込み大腸菌で発現させたところ、両者共に 130 kDa 蛋白質が検出されたが、大腸菌では 130 K ORF の 3' 端に位置するアンバーコドンで翻訳が終結するためと考えられる。現在は 130 K/180 K 蛋白質の機能と存在様式を同定する目的で、上記 3 ドメインを含む蛋白質の大腸菌発現系の開発とポリクローナル抗体の作製を試みている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Asano Y., Mizumoto K., Maruyama T. and Ishihama A.: Molecular anatomy of influenza virus RNA polymerase: Photoaffinity labeling of PB1 subunit with 8-azido GTP. *J. Biochem.*, **117**(3), 677-682, 1995.
2. Azuma Y., Yasui K., Yamagishi M. and Ishihama A.: Isolation of thermolabile mutant RNA polymerase II from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* with mutations in the subunit 3 gene. *J. Biochem.*, **118**(7), 216-220, 1995.
3. Choy H., Park S. W., Aki T., Parrack P., Fujita N., Ishihama A. and Adhya S.: Repression and activation of transcription by Gal and Lac repressors: Involvement of alpha-subunit of RNA polymerase. *EMBO J.*, **14**(18), 4523-4529, 1995.
4. Ding, Q., Kusano S. Villarejo M. and Ishihama A.: Promoter selectivity of osmoregulated promoters between EoD and EoS holoenzymes. *Mol. Microbiol.*, **16**, 649-656, 1995.
5. Fujita N. and Ishihama A.: Reconstitution of RNA polymerase. *Meth. Enzymol.*, in press.
6. Fukuchi J., Kashiwagi K., Yamagishi M., Ishihama A. and Igarashi K.: Decrease in cell viability due to the accumulation of spermidine in acetyltransferase-deficient mutant of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, **270**(32), 18831-18835, 1995.
7. Ishihama A.: Genetic strategies of bacteria for stationary-phase survival. *Actinomycetologia*, **9**, 236-243, 1995.
8. Jair K.-W., Fawcett W. P., Fujita N., Ishihama A. and Wolf R. E. Jr.: Ambidextrous transcription activation by SoxS: Requirement for the C-terminal domain of the RNA polymerase alpha subunit at a subset of superoxide-inducible genes. *J. Bacteriol.*, **177**, 7100-7104, 1996.
9. Jeon Y. H., Negishi T., Shirakawa M., Yamazaki M., Fujita N., Ishihama A. and Kyogoku Y.: Solution structure of the C-terminal domain of RNA polymerase α subunit responsible for the contact with trans-acting transcription factors and cis-acting UP element of promoter. *Science*, **270**, 1495-1997,

- 1995.
10. Jishage M. and Ishihama A.: Regulation of RNA polymerase sigma subunit synthesis in *Escherichia coli*: Intracellular levels of σ^{70} and σ^{38} . *J. Bacteriol.*, **177**, 6832-6835, 1995.
 11. Kato A., Fujino M., Nakamura T., Ishihama A. and Otaki Y.: Gene organization of chicken anemia virus. *Virology*, **209**(1), 480-488, 1995.
 12. Kawagishi-Kobayashi M., Yamamoto M. and Ishihama A.: Mutational analysis of the RNase-like domain in subunit 2 of fission yeast RNA polymerase II. *Mol. Gen. Genet.*, **205**(1), 1-5, 1996.
 13. 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**(2), 756-767, 1995.
 14. Kimura M. and Ishihama A.: Functional map of the alpha subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase: Amino acid substitution within the amino-terminal assembly domain. *J. Mol. Biol.*, **254**(3), 342-349, 1995.
 15. Kobayashi M., Toyoda T. and Ishihama A.: Influenza virus PB1 protein is the minimal and essential subunit of RNA polymerase. *Arch. Virol.*, in press.
 16. 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.
 17. Kumar A., Williamson H. E., Fujita N., Ishihama A. and Hayward R. S.: A partially functional 245 amino acid internal deletion derivative of *Escherichia coli* sigma-70. *J. Bacteriol.*, **177**(17), 5193-5196, 1995.
 18. Kusano S., Ding Q., Fujita N. and Ishihama A.: Promoter selectivity of *Escherichia coli* RNA Polymerase $E\sigma^{70}$ and $E\sigma^{38}$ holoenzymes: Effect of DNA supercoiling. *J. Biol. Chem.*, **271**(4), 1998-2004, 1996.
 19. 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**(1), 238-241, 1995.
 20. Liu X., Fujita N., Ishihama A. and Matsumura P.: The C-terminal region of the α subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase is required for transcription activation of the flagellar level II operons by the FlhD/FlhC complex. *J. Bacteriol.*, **177**(17), 5186-5188, 1995.
 21. Nagai S., Nagasawa Y., Yagihashi T. and Ishihama A.: The cyclic AMP receptor protein (CRP) gene function is required for expression of a (cell-bound)-type hemolysis in an avian pathogenic *Escherichia coli* strain. *Infect. Immun.*, in press.

22. Nakagawa Y., Kimura N., Toyoda T., Mizumoto K., Ishihama A., Oda K. and Nakada S.: RNA polymerase PB2 subunit is not required for replication of the influenza virus genome, but is involved in capped RNA synthesis. *J. Virol.*, **69**, 728-733, 1995.
23. 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**(2), 723-728, 1995.
24. Shinkawa H., Fujita N., Shiina T., Tanaka K., Takahashi H., Ishihama A. and Nimii O.: Purification and characterization of RNA polymerase holoenzyme (E σ B) from vegetative-phase mycelia of *Streptomyces griseus*. *J. Biochem.*, **118**(3), 488-493, 1995.
25. Tanaka K., Kusano S., Fujita N., Ishihama A. and Takahashi H.: Promoter determinants for *Escherichia coli* RNA polymerase holoenzyme containing σ^{38} (the rpoS gene product). *Nucleic Acids Res.*, **23**, 827-834, 1995.
26. Tao K., Zou C., Fujita N. and Ishihama A.: Mapping of the OxyR protein contact site in the C-terminal region of RNA polymerase α subunit. *J. Bacteriol.*, **177**, 6740-6744 1995.
27. Toyoda T., Asano Y. and Ishihama A.: Role of GTPase activity of Mx1 protein in nuclear localization and antiviral activity. *J. Gen. Virol.*, **76**, 1867-1869, 1995.
28. Toyoda T., Kobayashi M., Nakada S. and Ishihama A.: Molecular dissection of influenza virus RNA polymerase: PB1 subunit alone is able to catalyze RNA synthesis. *Virus Genes*, in press.
29. Wada A., Igarashi K., Yoshimura S., Aimoto S. and Ishihama A.: Ribosome modulation factor: Stationary growth phase-specific inhibitor of ribosome functions from *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **214**(2), 410-417, 1995.
30. Xuan X., Nakamura T., Ihara T., Sato I., Tuchiya K., Nosetto E., Ishihama A. and Ueda S.: Characterization of pseudorabies virus glycoprotein gII expressed by recombinant baculovirus. *Virus Res.*, **36**, 151-161, 1995.
31. Yamagishi M., Mizumoto K. and Ishihama A.: Isolation of temperature-sensitive mutants of mRNA capping enzyme in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Gen. Genet.*, **249**, 147-154, 1995.

(2) その他

1. 石浜 明: RNA ポリメラーゼの分子解剖: 転写制御研究の新しい突破口. *生化学*, **2**, 123-130, 1955.

(3) 発表講演

1. 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: 8-Azido-GTP でアフィニティーラベルされたペプチドの同定. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
2. Belyaeva T., Fujita N., Ishihama A. and Busby S.: Location of the C-terminal domain of the alpha subunits of *E. coli* RNA polymerase in open complexes at the gal operon P1 promoter. The 4th FASEB Conf. on "Transcription Initiation in Prokaryotes", Vermont, USA, July.
3. 田 栄浩, 根岸智史, 白川昌宏, 山崎俊夫, 藤田信之, 石浜 明, 京極好正: RNA ポリメラーゼ α サブユニットの溶液構造と相互作用の研究. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
4. 福地準一, 柏木敬子, 山岸正裕, 石浜 明, 五十嵐一衛: Ribosome modulation factor (RMF) のスベルミジンによる合成阻害機序. 第 68 回日本生化学会大会仙台, 9 月.
5. 石浜 明: RNA ウイルスの分子生物学. 岡山大学医学部特別講演, 岡山, 1 月.
6. 石浜 明: 原核生物における転写調節. 基礎生物学研究所研究会「オルガネラ DNA 結合性タンパク質の構造と機能」, 岡崎, 1 月.
7. 石浜 明: 転写制御の基本機構: RNA ポリメラーゼの機能変換. 第 61 回日本生化学会東北支部例会, 仙台, 6 月.
8. Ishihama A.: Regulation of the intracellular concentration and function of RNA polymerase sigma-S in *E. coli*. The 4th FASEB Conf. on "Transcription Initiation in Prokaryotes", Vermont, USA, July.
9. 石浜 明: Viral RNA polymerases. 文部省重点領域研究シンポジウム「RNA 情報のフロンティア」, 東京, 7 月.
10. Ishihama A.: Molecular communications within the transcription apparatus. Univ. Illinois Lecture, Chicago, USA, July.
11. Ishihama A.: Promoter selectivity control of RNA polymerase: Protein-protein and protein-DNA communications. Rockefeller Univ. Lecture, New York, USA, August.
12. Ishihama A.: Protein-protein and protein-DNA contracts for specificity control of RNA polymerase. Harvard Univ. Lecture, Cambridge, USA, August.
13. Ishihama A.: Promoter selectivity control of RNA polymerase: Protein-protein and protein-DNA interactions. EMBO Workshop on "Structural Dynamics of DNA-Protein Interactions", Wildbad Kreuth, Germany, September.
14. Ishihama A., Kimura M., Negishi T., Murakami K., Fujita N., Tao K., Jeon Y. H., Shairakawa M. and Kyogoku Y.: The molecular anatomy of RNA polymerase alpha subunit. Cold Spring Harbor Meet., Mol. Genet. Bact. Phages,

- Cold Spring Harbor, USA, August.
15. Jair K.W., Fawcett W. P., Yu X., Skarstad K., Martin R. G., Rosner J. L., Fujita N., Ishihama A. and Wolf R. E. Jr.: Common features of DNA binding and transcriptional activation by the *Escherichia coli* SoxS, Rob, and MarA proteins. Cold Spring Harbor Meet., Mol. Genet. Bacteria & Phages, Cold Spring Harbor, USA, August.
 16. 寺社下美樹, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニットの生体内調節機構の解明. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 17. 梶谷正行, 井口義夫, 石浜 明: Q β フェージの増殖におけるレプリカーゼ宿主因子 (HF-1) の機能解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 18. 小林麻己人, 豊田哲也, 石浜 明: インフルエンザウイルス NP の分子解剖: ゲノム RNA 結合部位の同定. 日本ウイルス学会九州支部会, 福岡, 9 月.
 19. Kusano S., Jishage M., Fujita N. and Ishihama A.: Comparison of the intracellular concentrations and functions between *Escherichia coli* RNA polymerase σ D and σ S. Cold Spring Harbor Meet., Mol. Genet. Bacteria & Phages, Cold Spring Harbor, USA, August.
 20. 草野秀一, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌 RNA ポリメラーゼの増殖期主要 σ サブユニット (σ^D) 及び定常期特異的 σ サブユニット (σ^S) の機能比較. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 21. 宮尾武孝, 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 RPB5 と相互作用するタンパクの探索. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 22. Murakami K., Fujita N. and Ishihama A.: Molecular anatomy of the activation domain of *Escherichia coli* RNA polymerase alpha subunit interacting with cyclic AMP receptor protein and UP element DNA. The 4th FASEB Conf. on "Transcription Initiation in Prokaryotes", Vermont, USA, July.
 23. Murakami K.: Structure and function of the transcription activation domain of *Escherichia coli* RNA polymerase α subunit. 朝霧シンポジウム「遺伝子発現」, 朝霧高原, 8 月.
 24. 村上勝彦, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニット C 末端ドメインの分子解剖: CRP 及び UP エLEMENT による転写活性化機構の解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 25. Nagai S., Nagasawa Y., Yagihashi T. and Ishihama A.: The cyclic AMP receptor protein (CRP) is required for expression of β (cell bound)-type hemolysis in an avian pathogenic *Escherichia coli*. The 25th World Veterinary Congress, Yokohama, October.
 26. Negishi T., Fujita N. and Ishihama A.: Structure-function relationship of the

- alpha subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. The 3rd FASEB Conf. on "Transcription Initiation in Prokaryotes", Saxton's River, USA.
27. 根岸智史, 藤田信之, 石浜 明: 大腸菌 RNA ポリメラーゼの α サブユニットの機能マッピング: α ペプチドによる転写活性化抑制. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 28. 櫻井仁美, 鈴木久子, 山岸正裕, 石浜 明: 分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II のサブユニット遺伝子の単離と構造. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 29. 鳥山重光, 高橋真実, 佐野義孝, 清水 巧, 石浜 明: テヌイウイルスの標準ウイルス, イネ縞葉枯ウイルスの RNA1 がコードする RNA ポリメラーゼ蛋白質. 日本植物病理学会大会, 東京, 3 月.
 30. 豊田哲也, 岩田 晃, 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 43 回日本ウイルス学会総会, 岡山, 10 月.
 31. 豊田哲也, Adyshev D., 岩田 晃, 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 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 32. Tanaka K., Hayashi K., Kusano S., Fujita N., Ishihama A. and Takahashi H.: Analysis of the specificity of an RNA polymerase holoenzyme containing the *rpoS* gene product (σ^{38}) of *Escherichia coli*. The 4th FASEB Conf. on "Transcription Initiation in Prokaryotes", Vermont, USA, July.
 33. Tuchiya K., Sato I., Matsuura Y., Kawai Y., Ishihama A. and Ueda S.: The glycoprotein gene of rabies virus Japanese strain: Cloning and expression in insects. The 25th World Veterinary Congress, Yokohama, October.
 34. Wada A., Igarashi K., Yamagishi M., Aimoto S., Fujisawa H. and Ishihama A.: The formation of 100S ribosomes by ribosome modulation factor (RMF) in *Escherichia coli*. International Conference on the Structure and Function of Ribosome "Frontiers in Translation", Victoria, Canada, May.
 35. 和田 明, Mikkola R., Kurland C. G., 石浜 明: 大腸菌野生株の定常期に形成されるリボソームダイマーの株間多様性. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 36. 渡辺貴斗, 豊田哲也, 日比忠明, 石浜 明: 普通系タバコモザイクウイルス (TMV) OM 株 RNA レプリカーゼ遺伝子の塩基配列決定と大腸菌における発現. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
 37. 安井 潔, 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: サブユニット 3 (RPB3) と相互作用する蛋白質の探索. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.

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わりでとらえ、その中で、ユビキチン系の担う役割を分子遺伝学的に明かにしようとしている。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、大学院学生逢坂文男（総合研究大学院大学、博士課程3年）、宇井基泰（特別研究学生、東大・工・修2）、Sudha, T.（外国人研究員）、杉沢 卓（北里大学衛生学部4年）、青木文子（研究補助員）が参加した。

今年度の当部門の関係する研究所共同利用研究は以下の4件であった。

- 1) 細胞周期変異株を用いた核小体構築のダイナミクス（岐阜正純：東京都臨床医学総合研究所）（受入れ瀬野，継続）
- 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（安田秀世，田中弘文：東京薬科大学生命科学部）（受入れ瀬野，新規）
- 3) 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，理）（受入れ山尾，継続）
- 4) Two hybrid system を用いた転写因子 ELP に結合する因子のクローニング（丹羽太貫：広島大学原爆放射能研究所）（受入れ岸，新規）

当部門の関係した研究集会は次の1件である。

- 1) 「細胞増殖制御の分子機構」（花岡文雄：大阪大学細胞生体工学センター）

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），一般研究(B)「G2-M期における核小体解離のユビキチン経路による制御」（代表者瀬野），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「細胞核の機能構造」(2)（代表者瀬野），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），一般研究(B)「ユビキチン系における分子識別と細胞機能制御」（代表者山尾），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，分担山尾）

真核生物に普遍的なユビキチン系において、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する。26S プロテアソームはユビキチン化タンパク質を分解する。最近、ユビキチン系による細胞周期制御が特に注目され、その際、E2 及び E3 分子種が標的タンパク質を選別的、時期特異的にユビキチン化し分解に導く分子機構が注目されはじめています。

- (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 T., 岐阜正純¹, 青木文子, 山尾文明, 瀬野悍二（¹東京都臨床医学総合研究所）

マウス細胞 FM3A より分離した E1 酵素の温度感受性変異株 ts85 株は、非許容温度培養によって G2 期に停止し、核小体の形態異常を生ずる。この異常は G2 期停止細胞に特

異的であることを、細胞を予め G2 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。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、核小体異常はみられない。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、その中央領域に観察される星雲状の高電子密度粒子領域にプロテアソーム、誘導型 HSP 70 およびポリユビキチン化蛋白質が免疫細胞化学的に一致した。さらに、ポリユビキチン化蛋白質は免疫電子顕微鏡によっても同粒子と完全に一致した。ちなみに、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観察は今回が初めてである。G2 期停止 ts85 細胞を許容温度に戻し、M 期への進行過程を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、metaphase において rRNA 遺伝子反復領域 (NOR, nucleolar organizer region) が互いに癒着したままと解釈できる異常染色体像がみられた。ユビキチン系の異常が核小体消失過程の阻害をもたらす分子基盤は、残された課題である (原著論文 1, 発表講演 1, 2, 5, 9, 10)。

(2) ユビキチン系による細胞内デオキシヌクレオシド三リン酸プールの調節と DNA 複製: 青木文子, 綿矢有佑¹, 寒川史郎¹, 山尾文明, 瀬野悍二 (¹岡山大・薬)

E1 温度感受性変異株 tsFS20 は上記 ts85 株とは異なり、非許容温度下 S 期に停止する。その際、以下の解析結果を得た。1) 急激な DNA 複製の低下を伴うが、RNA および蛋白質合成は正常であった。2) 16 h 非許容温度下培養 (この時点で *in vivo* DNA 合成能はゼロ) 後に permeable 化した細胞の *in vitro* DNA 合成活性はほぼ正常であった。したがって、本変異株の DNA 複製欠損は DNA 複製装置レベルの欠損ではないだろう。3) 細胞内 dNTP pool を非許容温度下 16 h 培養後に測定したところ、dCTP と dTTP の著しい低下がみられた。対照に用いた DNA polymerase α の ts 変異株 tsFT20 ではそのような低下はなかった。また、親株細胞をアフイデイコリン処理して DNA 複製を阻害しても dNTP pool の低下はない。4) したがって、ユビキチン系は *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 期進行に関与すると思われる。事実、本変異株はリボヌクレオチド還元酵素の阻害剤 hydroxyurea に高感受性を示した。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した。この表現型は、出芽酵母 *rad6* (ユビキチン結合酵素 UBC2 の変異) のものに近似する。6) しかし、本 tsFS20 株は E1 酵素の変異株であり、変異 E1 からのユビキチン転送能が特定の E2 分子種 (清野ら, 下記参照) 以外に他の E2 に対しても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とリボヌクレオチド還元酵素系の関与の検証は今後の課題である。ちなみに、出芽酵母において S 期進行に欠損を示すユビキチン系変異株は知られていない (発表講演 11, 14)。

(3) ユビキチン活性化酵素の Cdc2 kinase によるリン酸化による周期依存的核移行: 清野浩明, 永井由貴子¹, 瀬野悍二, 山尾文明 (¹岡崎細胞変換プロジェクト)

マウス培養細胞におけるユビキチン活性化酵素 E1 の 4 番目のセリン残基が細胞内で Cdc2 キナーゼのターゲットになっていることを証明した (2)。これはユビキチン経路が細胞周期依存的にダイナミックに調節されている事を示すもので、細胞周期制御の中樞を担

う Cdk リン酸化酵素群で E1 酵素が周期特異的にリン酸化されることにより G2 期特異的なユビキチン経路を発現させていることを想定している。このリン酸化部位に近接して核移行シグナルと考えられる KKRR 配列があり、これが Cdc2 によるリン酸化と共役して細胞周期依存的な E1 酵素の核移行を担っているのではないかの作業仮説をたてた。実際 E1 酵素は G2 期特異的に核に移行し染色体上に存在することが観察されており、染色体凝縮等の機能に関わる可能性が議論されている。そこで、我々のもつ E1 cDNA や E1 抗体、さらにリン酸化部位の変異 cDNA 等を利用して上記可能性を確かめた。マウス E1 cDNA から FLAG 配列でタグ標識したマウス E1 をコードする誘導体 cDNA を作成した。これを Cos7 細胞へ形質導入後、その Transient Expression を FLAG 抗体を用いて間接蛍光抗体法で調べたところ、非同調培養で 10% 前後の細胞では E1 誘導体蛋白質は核に集中して存在していることがわかった。Cdc2 kinase リン酸化部位の Ala4 変異を持つものでは核に移行したものは見つからなかった。安定な形質導入細胞を用いた最終的な証明実験が必要ではあるが、上記作業仮説の妥当性を示唆している。

(4) 分裂中期に必須のユビキチン経路：逢坂文男，清野浩明，瀬野悍二，山尾文明

分裂酵母からその本来の酵素機能を指標にユビキチン結合酵素 (E2) 遺伝子 (cDNA) の系統的検索を行った。その結果得られた E2 遺伝子の一つである ubcP4 はこれまでにない新奇なもので細胞増殖に必須であった。そこでこの遺伝子の発現の抑制実験をしたところ、細胞周期 G2 期停止と、分裂中期から後期への進行が止まり染色体分離が抑制されることの 2 点が最終表現型であることがわかった。特に分裂中期での停止の表現型は cut9 遺伝子の変異株と非常に酷似していた。cut9 遺伝子は、M 期 Cyclin (cdc13 遺伝子産物) 分解のためのユビキチンリガーゼ (E3) 複合体 (APC: Anaphase Promoting Complex) の構成分子の一つをコードすることが最近明らかにされた。これらの結果から、ubcP4 を介したユビキチン経路のターゲットの一つは M 期 Cyclin であり、ubcP4 は APC と共役的に働いている E2 分子と考えられる。実際に MPF 活性が上昇したままで停止していることを確認している。さらに ubcP4 欠損株では、M 期 Cyclin と同一の APC を介した機構で分解されると考えられている分裂中期の染色体対合の維持に必須の蛋白質の分解も抑制されるために M 期脱出ができなくなったと想像される。また、ubcP4 の Human での homolog も存在することがわかり、その cDNA も分離した。種を超えて保存された必須機能である分裂期脱出、染色体分離の分子機構を解明するのに重要な鍵をもつ遺伝子と考えられる。

(5) ユビキチン系による出芽酵母細胞周期制御：岸 努，瀬野悍二

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。Cdc34 によるユビキチン標的タンパク質の一つとして S 期 cyclin dependent kinase inhibitor である Sic1 が示唆されている。実際、cdc34'ssic1Δ 株は、制限温度で DNA 複製がおこる。しかし、2N の DNA 含量のまま増殖を停止する。このことは、Sic1 以外に Cdc34 によってユビキチン化を受け、分解されることが必要なタンパク質があることを示している。これを明らかにするために cdc34'ssic1Δ 株の抑

圧変異株を分離した。得られた抑圧変異株中で、cold-sensitiveなフェノタイプを示す sup401 株を用いて抑圧変異の原因遺伝子クローン化したところ既知の遺伝子 GRR1 であることを見出した。GRR1 は、もともと glucose repression を調節する遺伝子として同定されたものであるが、G1 サイクリン Cln1 Cln2 の代謝にかかわること、また、protein phosphatase 2A の調節サブユニットである CDC55 と synthetic lethal であることが明らかにされている。grr1 が cdc34'ssic1Δ 株の抑圧変異として得られた理由を検討中である。

(6) ubc P4 ヒト相同遺伝子の解析：清野浩明，逢坂文男，瀬野悍二，山尾文明

分裂酵母より単離された E2 ファミリーである ubc P4 遺伝子は分裂酵母において G2/M および metaphase/anaphase の移行に重要な役割をはたしている（逢坂ら，投稿準備中）。われわれは ubc P4 遺伝子のヒト相同遺伝子 (hucb P4) の cDNA を単離した。hucb P4 cDNA の配列から予想される蛋白質と ubc P4 蛋白質のアミノ酸レベルでの相同性はきわめて高く (identity 50%, similarity 80%), ubc P4 の担うユビキチン経路は酵母からヒトにわたり保存されていることがわかった。現在、hucb P4 遺伝子が分裂酵母の ubc P4 遺伝子と機能的に置換可能であるか検討中である。今後、生化学的な解析の容易な動物培養細胞およびアフリカツメガエル卵抽出液の系をもちいて、hucb P4 遺伝子の細胞周期における役割、標的蛋白質について生化学的なアプローチをおこなっていく。

研究業績

(1) 原著論文

1. 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**(2), 115-123, 1995.
2. Nagai Y., Kaneda S., Nomura K., Yasuda H., Seno T. and Yamao F.: Ubiquitin-activating enzyme, E1, is phosphorylated in mammalian cells by the protein kinase CDC2. *J. Cell Sci.*, **108**(6), 2145-2152, 1995.
3. Inokuchi H. and Yamao F.: Structure and expression of prokaryotic tRNA genes. In *tRNA: Structure, Biosynthesis and Function*, D. Soll and U. L. Raj-Bhandary, eds. (Washington D. C.: American Society for Microbiology (ASM)), pp. 17-30, 1995.

(2) その他

1. 瀬野悍二：岩波生物科学辞典第4版「体細胞遺伝学 (Somatic Cell Genetics)」の項分担
2. 瀬野悍二：分子細胞生物学辞典，東京化学同人(株) アミノプテリン，キサントシン，キサントシン，体細胞遺伝学，体細胞雑種，チミジル酸シンターゼ，チミジンキナー

ぜ, ヒポキサンチン, ヨードビニールデオキシウリジン, ガンシクロピア, アシクロピアの項分担

(3) 発表講演

1. Sudha T., Sameshima M., Kaneda S., Yamao F. and Seno T.: Perturbation of nucleolar dissolution in the G2-M transition in a mouse cell mutant with temperature-sensitive ubiquitin activating enzyme E1. The 10th Rinshoken International Conference, 千葉, 5月.
2. Sudha T., Sameshima M., Kaneda S., Yamao F. and Seno T.: Perturbation of nucleolar dissolution in the G2-M transition in a mouse cell mutant with temperature-sensitive ubiquitin activating enzyme E1. FASEB Summer Conference on Ubiquitin and Protein Degradation, USA, June.
3. Nagai Y., Kaneda S., Seno T., Yasuda H. and Yamao F.: Ubiquitin-activating enzyme, E1, is phosphorylated in mammalian cells by the protein kinase cdc2, FASEB Summer Conference on Ubiquitin and Protein Degradation, USA, June.
4. Osaka F., Seino H., Seno T. and Yamao F.: Screening for cDNAs encoding ubiquitin-conjugating enzymes in fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe*. FASEB Summer Conference on Ubiquitin and Protein Degradation, USA, June.
5. 瀬野悍二: ユビキチン活性化酵素変異株の G2 期停止に伴う核小体の動態異常. 第 7 回高遠・分子細胞生物学シンポジウム, 高遠, 8月.
6. 逢坂文男, 清野浩明, 瀬野悍二, 山尾文明: 分裂酵母 *S. pombe* におけるユビキチン結合酵素遺伝子群の探索. 第 68 回日本生化学会大会, 仙台, 9月.
7. 逢坂文男, 清野浩明, 瀬野悍二, 山尾文明: 分裂酵母の細胞周期を制御する新しいユビキチン結合酵素の遺伝子. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 9月.
8. 逢坂文男, 清野浩明, 瀬野悍二, 山尾文明: 分裂酵母における cdc2 の活性制御に関わるユビキチン転移酵素. 第 48 回日本細胞生物学会大会, 仙台, 10月.
9. 鮫島正純, 青木文子, T. Sudha, 山尾文明, 瀬野悍二: ユビキチン活性化酵素変異株の G2 期停止に伴う核小体の動態異常. 第 48 回日本細胞生物学会大会, 仙台, 10月.
10. 瀬野悍二, スダ・T, 鮫島正純, 山尾文明: ユビキチンストレスによる細胞周期 G2 期停止と熱ショック蛋白質およびプロテアソームの核内挙動. 第 54 回日本癌学会総会, 京都, 10月.
11. Aoki F., Wataya Y., Kankawa S. and Seno T.: Decrease in intracellular dNTP pools associated with S phase-arrest in a mouse cell mutant with temperature-sensitive ubiquitin-activating enzyme E1. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
12. 宇井基泰, 岸 努, 古崎新太郎, 瀬野悍二: CDC34 の過剰発現による cdc4 株の

許容温度の低下。第 18 回日本分子生物学会年会，名古屋，12 月。

13. 逢坂文男，清野浩明，瀬野惇二，山尾文明：G2/M 期に必須である分裂酵母ユビキチン結合酵素 Ubc P4 の機能解析。第 18 回日本分子生物学会年会，名古屋，12 月。

A-c. 核酸化学研究部門

(1) 大腸菌複製終結点結合蛋白質 (Tus) と DNA 複合体の結晶構造解析：鎌田勝彦¹，森川耿右 (構造研究室)

大腸菌や枯草菌，またある種のプラスミドでは，複製の終結する部位 (*Ter*) が厳密に決まっている。その終結点に近づいてきた複製フォークは，そこで阻止される。その終結点とは異なる塩基配列を有しており，その配列を認識して結合する蛋白質 (Tus) が終結に必須であることが判明している。この複製フォークの進行の阻止とは，複製装置の構成分子であるヘリカーゼの進行阻害であり，方向特異的にその進行をブロックすることが明らかになっている。ここでは Tus 蛋白質と *Ter*DNA の特異的認識，及び，複製終結の分子機構を立体構造の観点から解明することを試みた。そこで，Tus 蛋白質-DNA の複合体を結晶化し，X 線解析によって 2.7 Å 分解能で立体構造を決定した。Tus 蛋白質は N 末ドメインと C 末ドメインの二つに分けられ，それぞれ a ヘリックス及び b シートの二次構造を含む。その二つのドメインを結ぶ二枚の b シートと長いループは，DNA の major groove と minor groove にそれぞれ入り込み，DNA 配列を認識している。これら二枚のシートは DNA の溝にほぼ垂直に挿入されており，DNA の塩基との特異的な認識を可能にしている。これは既存の DNA 結合蛋白質には見られない新しいモチーフである。基礎生物学研究所の堀内らが得た変異体解析の結果からは，アミノ酸置換のほとんどが DNA 認識領域に帰属される。この事実，DNA 結合のみが複製のフォークの阻害に必須であることを意味している。また，Tus 蛋白質表面において，ヘリカーゼの進行が阻害される側には，両ドメインからのびる二つの突起が存在し，ヘリカーゼによる unwinding を立体的にブロックする可能性を示唆する。詳細は現在執筆中である。

(2) 酵母 mRNA キャッピング酵素の変異体の単離と解析

山岸正裕，水本清久¹，鈴木久子²，石浜 明² (¹北里大学薬学部生理化学教室，²分子遺伝研究部門)

RNA ポリメラーゼ II によって転写される真核生物の mRNA の 5' 末端特異的にメチルグアノシンによるキャップ構造が付加される。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ができる。この細胞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。また，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。これらの問題の解明をめざして本研究では出芽酵母 *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 α サブユニットの遺伝子 *CEG1* の高温感受性突然変異体を単離した。今までに 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 *cegI-10* は多コピーでのみ変異体の低温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 S-100 硫酸沈殿画分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、すべての変異 Ceg1 蛋白質は高温感受性を示したが、その中で *cegI-8* の産物は比較的高い熱安定性を保持していた。本研究はこの後、キャップ付加と RNA ポリメラーゼ II による転写の共役の可能性を検討するための変異体の解析、さらに、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た *CEG1* 変異の抑圧変異体の単離・解析を予定していた。数種の変異体から *CEG1* 遺伝子外に起こった抑圧変異体を単離した時点で研究を中止したために本年度の進展はなかったが、今後テーマの一部は北里大学薬学部・水本清久の研究室で継続される予定である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Kamada K., Ohsumi K., Horiuch T., Shimamoto N. and Morikawa K.: Crystallization and Preliminary X-ray Analysis of the *Escherichia coli* Replication Terminator Protein Complexed with DNA. PROTEINS, in press
2. Yamagishi M., Mizumoto K. and Ishihama A.: Isolation of temperature-sensitive mutants for mRNA capping enzyme in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol. Gen. Genet., **249**, 147-154, 1995.

(2) その他

なし

(3) 発表講演

1. Kamada K., Mikami Y., Ohsumi K., Horiuch T., Shimamoto N. and Morikawa K.: Crystallization of Replication Terminator Protein Complexed with DNA. The 6th International Conference on Crystallization of Biological Macromolecules, Hiroshima, Japan, November, 1995
2. 鎌田勝彦, 堀内 嵩, 大住克史, Dmitry G. Vassilyev, 嶋本伸雄, 森川耿右: 大腸菌複製終結点結合蛋白質 (Tus) と DNA 複合体の結晶構造解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.

B. 細胞遺伝研究系

B-a. 細胞遺伝研究部門

本部門では、生物の種の保存と生命の維持に関わる遺伝現象を細胞生物学的に解析する。特に、両親に由来する遺伝因子の分配に関わる遺伝的組換えの機構とその制御を、関与する遺伝子の機能、染色体の構造、生体組織の成り立ちを解析することによって明らかにする。

当部門の本年度のスタッフは教授小川智子、助教授今井弘民、助手田中茂生（平成7年11月着任）、特別大学院学生：池谷智淳、寺澤匡博（大阪大学理学部・理学研究科生理学専攻）。

本年度の研究費は、文部省科学研究費補助金、特別推進研究(1)「真核生物の遺伝的組み換えシステムの研究」（代表者・小川英行）（小川）、国際学術研究共同研究「真核生物組換え蛋白質の機能解析」（代表者・小川）、日本学術振興会重点領域共同研究「真核生物組み換え中間体分子の解離に関する研究」（代表者・小川）、科学研究費補助金・特別研究員奨励費「真核生物の遺伝的組み換え機構の解析」（池谷）と新エネルギー・産業技術総合開発機構、最先端分野研究開発提案公募による「遺伝的組み換え機構を基礎とした遺伝子操作技術の確立」（代表者・小川）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「真核生物の組換え反応に関与する蛋白質と蛋白質複合体の生化学的、構造学的解析」（大阪大学理学部・篠原 彰）を行った。

真核生物の遺伝的組換え機構：小川智子、田中茂生、池谷智淳、寺澤匡博、篠原 彰¹（大阪大学理学部）

遺伝的組換えは両親由来の遺伝子を入れ換えて子孫に伝える重要な機能を担っている。また、組換えはDNA 傷害やDNA 複製時に起こる間違いを修復し、種の安定保存に関与している。組換え蛋白質は細胞内で特定な時期に、特定な蛋白質と複合体を作り、DNA と結合して、特徴的な構造体を形成する。この構造体が組換え体を形成し、また、複合体中の蛋白質の組換え機能の発現を調節していると考えられる。

我々は真核生物の組換え遺伝子 RAD51, RAD52, LIM15 遺伝子が酵母、植物、動物に共通に存在することを明らかにした。なかでも、Rad51 と Lim15 蛋白質はその構造と機能が極めて大腸菌 RecA と似ていることを明らかにしたことから、生物には細菌からヒトまで共通な組換え機構が存在することを提唱した（文献4）。

本研究は減数分裂期組換えの進行に伴って変化する蛋白質間の相互作用機構とダイナミックに変化する染色体構造との関連を、酵母、マウス、ユリの減数分裂期細胞を用いて組み換えに伴う蛋白質の機能の解析で進めている。

酵母を用いては、Rad51, Rad52 蛋白質が相互作用して、単鎖 DNA 上に安定なヌクレ

オフィラメントを形成し、DNA鎖移行反応を行うこと、またこの複合体形成には真核生物の単鎖DNA結合蛋白質が重要な役割を果たすことを明らかにした(篠原, 小川)。また、減数分裂期導入に伴って、組み換え開始の準備が行われるが、蛋白質とDNAとの相互作用により導かれる染色体構造の変化を組み換え開始遺伝子の変異株を用いて解析を進めている(田中, 小川)。

ユリの減数分裂期細胞を用いて、染色体構造の変化と組み換え蛋白質 Rad51 と Lim15 の染色体上の局在を、蛋白質の抗体を用いて調べた(寺澤, 小川)。Rad51 と Lim15 蛋白質はレプトテン、ザイゴテン期の染色体上の同じ位置に存在し、パキテン期では Rad51 蛋白質のみがシナプトネマ複合体の中心に存在することがわかった(文献2)。これらの結果は、Rad51 と Lim15 蛋白質が減数分裂期組換えの初期に共同で相同染色体の検索、対合で働くこと、Rad51 蛋白質は組換え初期と後期で異なった役割を持つことを示している。

マウスの染色体はユリの50分の1と短く、染色体の全体構造や、キアズマ構造の観察に適している。しかし、マウスの染色体はクロマチンループが長く、ユリのような染色体構造が観察できない。そこでDNase II で処理して染色体のコアを分離し、パキテン期からダイアキネシスの染色体上での Rad51 と Lim15 の局在を調べた。Rad51 蛋白質はこのコアに線状に存在し、また、娘染色体へ分離した部分では消失する。これは、Rad51 蛋白質がシナプトネマ複合体の形成に関与し、構成成分となることを示唆している。また、組換えが高頻度で起こるXY染色体対合領域の分枝点と、ダイプロテン期染色体の対合部位に Rad51 抗体による強い染色が観察された(池谷, 小川)。このように、少なくとも Rad51 蛋白質は特定の時期に、特定の蛋白質と相互作用して、染色体構造の変化に密接に関係して対合部位組換え反応を行っている。

これら蛋白質とDNAの相互作用の過程で形成される組換え体の構造をDNAレベルで解析して、組換え開始、遺伝子変換、交叉型組換え、染色体間組換えの機構を明らかにするため、減数分裂期の細胞を培養し、組み換えに伴う修復合成をプロモデオキシウリジンを取り込ませて標識し、組み換えが生じた領域を検出して解析するシステムを構築している(寺澤, 小川)。

減数分裂期はDNA複製で開始し、組換え、染色体の分配、核分裂という細胞周期を経る。これらの過程には、DNA複製の欠損が組換え欠損を、組換え欠損は染色体分配の欠損を、染色体分配の欠損は細胞分裂欠損を招くという相関関係がある。中でも、Rad51 蛋白質がG1/S期で誘導されることや、組換え過程でも時期特異的に機能が変化し、特異的な染色体構造との関連が示されたことは、減数分裂期の一連の過程で、蛋白質機能の制御の重要性を浮き彫りにしている。従って、減数分裂期組換え機構の全体像が明らかにされれば、細胞の基本的な機構の統一的な理解にも繋がると思われる。

組換えは種々の臓器、組織で、固有の機能を果たしているため、組換え機構の解析は個々の細胞の仕組みを解析する上でも重要な知見を与える。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ogawa T., Shinohara A. and Ikeya T.: A species-specific interaction of Rad51 and Rad52 proteins. *Adv. Biophysics*, **31**, 93-100, 1995.
2. Terasawa M., Shinohara A., Hotta Y., Ogawa H. and Ogawa T.: Localization of RecA-like recombination proteins on chromosomes of the lily at various meiotic stages. *Genes & Dev.*, **9**, 925-934, 1995.
3. Mikawa T., Masui R., Ogawa T., Ogawa H. and Kuramitsu S.: N-terminal 33 amino acid residues of Escherichia coli RecA protein contribute to its self-assembly. *J. Mol. Biol.*, **250**, 471-483, 1995.
4. Shinohara A. and Ogawa T.: Homologous recombination: Role of double-strand breaks, *TIBS*, **20**, "DNA Repair" A special issue, 387-391, 1995.

(2) その他

なし

(3) 発表講演

1. Ogawa H., Terasawa M. and Ogawa T.: Functions of the Genes Involved in Meiotic Recombination. Keystone Meeting 25-30, Taos NM. USA. March, 1995.
2. Ogawa H., Nakagawa T., Usui T., Hagiwara A. H., Tsubouchi H., Jozuka K. and Ogawa T.: Formation of a Protein Complex for Meiosis-specific Double-strand Breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. FASEB Meeting "Recombination and rearrangement" 5-10, Snowmass, CO., USA. Aug, 1995.
3. Shinohara A. and Ogawa T.: Rad52 protein has a renaturation activity which is stimulated by a single-strand DNA binding protein, RPA. FASEB Meeting "Recombination and rearrangement" 5-10, Snowmass, CO., USA Aug, 1995.
4. Ogawa T., Ikeya T. and Terasawa M.: The localization of the Rad51 protein on meiotic chromosomes of lily and testis of the mouse. Human Frontier; Recombination Super workshop, 16-21, Avignon, France. Oct., 1995.
5. Ogawa T., Ikeya T., Shinohara M., Shinohara A. and Terasawa M.: Roles of Rad 51, Rad52 and Lim15 Proteins in Meiotic Recombination. Keystone meeting "Replication and Recombination" 10-16, Taos NM. USA. Feb., 1996.
6. 小川智子: 真核生物の遺伝的組換え機構. 放射線医学総合研究所談話会. 平成7年11月24日, 放射線医学総合研究所.
7. 小川智子: 減数分裂期組換え機構について. 第9回東北ME談話会 特別講演 平成7年11月27日, 岩手医科大学医学部.
8. 池谷智淳: 相同組み換えに関与するマウス Rad51 蛋白質の減数分裂期染色体上の

- 局在. 組換えワークショップ. 平成7年10月31-11月2日, 函南生産性研修センター.
9. Shinohara A. and Ogawa T.: Protein complex involved in homologous recombination in eukaryotes—Interaction between RPA and Rad52 proteins—. 第18回日本分子生物学会年会 平成7年12月6-9日, 名古屋国際会議場.
 10. 小川智子, 池谷智淳, 寺澤匡博: 減数分裂期組み換えに於ける Rad51, Dmc1 蛋白質機能. 第18回日本分子生物学会年会平成7年12月6-9日, 名古屋国際会議場.
 11. 田中茂生: 出芽酵母の SNR6 遺伝子と URA3 遺伝子に於ける転写活性とヌクレオソームの構造. 重点領域研究“遺伝子制御ネットワーク”冬のワークショップ. 平成8年1月9-11日, 志賀高原ホテル.

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ファージの DNA 複製機構に関する研究, ならびに大腸菌の細胞分裂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-蛋白質及び蛋白質同志間の特異的相互作用を明ら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, 総研大大学院生浅野敏, 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“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, 「DNA 複製開始における DNA・ルーピングおよび DNA・ベンディングの機能」(福井医大・犬塚 学)「大腸菌の2種類の翻訳開始 tRNA の役割について」(東邦大・藤崎真吾)「大腸菌の蛋白質分解酵素 Prc の作用標的」(東邦大・西村行進)「植物及び微生物における Fosmidomycin の作用機構」(名大・武田 穰)の諸共同研究を行った.

(1) 大腸菌における DNA 複製に関する研究

(1-i) 大腸菌 RNA ポリメラーゼによる繊維状ファージのマイナス鎖 origin の認識機構: 東谷なほ子, 東谷篤志, 堀内賢介

私たちは, 大腸菌 RNA ポリメラーゼが, 繊維状ファージのマイナス鎖複製開始領域(origin)をどのように認識しプライマー RNA を合成するののかについて研究している. 一本鎖 DNA ゲノム上の約 150 塩基からなるマイナス鎖 origin 領域には, 二つの安定なヘアピン構造 ([B] 及び [C] と呼ぶ) を取り得る塩基配列が存在する. プライマー RNA の合成は, ヘアピン [C] の 3'側ステム部の特定の位置から開始され, ヘアピン [C] のループ部

までの 20 塩基伸長する。私たちはこれまでに、プライマー RNA の合成開始位置を正確に決定し、さらに footprinting 法による RNA ポリメラーゼの origin への結合パターンを解析した結果、ヘアピン構造 [B][C] を水平に位置させ一本の二本鎖 DNA と考えると、RNA ポリメラーゼによるマイナス鎖 origin の認識機構は、転写プロモーターの認識機構と類似している可能性を示唆した。さらに [B] 領域の塩基置換変異の解析結果から、プライマー RNA の合成開始位置を +1 と考え、上流の -35 付近に位置する領域に origin 活性に必須の塩基配列が存在することを示した。そこで今年度の研究においては、転写プロモーターの -10 に相当する領域とヘアピン [C] 領域の解析を行った。

-10 に相当する領域の塩基配列は、dA₅ 配列とその相補鎖上の dT₅ 配列からなる。そこでこれらの配列を各々塩基置換した変異、及び両鎖とも置換した変異を作成して、*in vivo* と *in vitro* の両系で origin 活性を測定した。その結果、dA₅ 配列は活性に重要であることが示され、さらにこの配列をプロモーターの consensus 配列 [TATAAT] に置換した変異においてもフェージ野性型と同様の origin 活性が得られた。一方、その相補鎖上の配列 dT₅ の変異は活性に影響がなかった。すなわちこの -10 領域において非鋳型鎖の塩基配列が鋳型鎖より重要であり、必ずしも二本鎖状にペアする必要がないことが解った。そこでより詳細にこの点を確かめる目的で、-12 から -1 領域すべてを、*lacUV5* プロモーターの -12 から -1 の塩基配列に置換した変異 origin を作成すると共に、さらに鋳型鎖と非鋳型鎖の塩基を各々置換してペアしない一本鎖状やまた再びペアする二本鎖状 DNA にし、*in vivo* と *in vitro* の両系で実験を行った。その結果、この -12 から -1 領域が完全な二本鎖状の DNA としてペアする *lacUV5* プロモーター配列では、*in vitro* 系では弱い origin 活性を示したが、*in vivo* 系ではほとんど活性が認められなかった。この領域が、一本鎖状の DNA でありかつ非鋳型鎖側の塩基配列が [TATAAT] である場合のみ野性型フェージ origin と同様の強い活性を示した。また、プライマー RNA の鋳型領域 (+2 から +10) については、そのヘアピン構造は origin 活性に重要であったが、塩基配列特異性は認められなかった。

今回得られた -10 に相当する領域の塩基配列が一本鎖状の DNA でなければ強い origin 活性を示さないという結果は、一般的な RNA ポリメラーゼによる転写プロモーター認識機構と異なるようにも思えるが、RNA ポリメラーゼは転写過程においてプロモーター領域に結合した後、-10 付近から +5 付近までの領域の二重螺旋構造を解消し、安定な open complex を形成することが知られている。また人工的に作成したバブルを含む二本鎖 DNA を鋳型として転写を開始することが実験的に示されている。したがって、フェージの origin は敢えて -10 に相当する領域の塩基配列を一本鎖状にすることで、より強い primer RNA 産生能を獲得しているのかもしれない。

(1-ii) 繊維状フェージにおけるプラス鎖複製開始蛋白質の活性中心について：浅野敏，東谷篤志，堀内賢介

繊維状フェージ (f1, fd, M13) のプラス鎖複製は rolling circle 型で、フェージがコードする複製開始蛋白質 gpII が origin の特定の位置に一本鎖切断 (nick) を導入することに

よって開始される。φX174 ファージやグラム陽性菌のプラスミド pT181 などの rolling circle 型複製においては、それらの複製開始蛋白質が nick 導入後の DNA の 5'-P 末端と安定な蛋白質-DNA 共有結合複合体を形成することが、これまでに報告されている。rolling circle 複製が一回りした後の複製終結において、この共有結合は次の nick 反応により生じた DNA の 3'-OH 末端に移され、ATP などのエネルギーを用いずに DNA は ligate される。繊維状ファージにおいては、負の超螺旋型 DNA を基質に *in vitro* で gpII による nicking 反応を行った時、約半分の基質に nick が入り、残りは nicking-closing 反応による弛緩型 (relaxed) 分子が ATP などのエネルギーなしに作られるが、nick 導入後に安定な gpII 蛋白質-DNA 共有結合複合体の形成は観察されていなかった。

しかしながら昨年度の研究により、合成 oligo DNA を基質に用いた *in vitro* の nicking 反応において非常に不安定であるが gpII 蛋白質-DNA 共有結合複合体を形成できることが明らかになった (和文年報第 45 号, pp. 36-37)。そこでこの系を用い、nicking 反応後に DNA と共有結合している gpII のアミノ酸残基の特定を行った。gpII の変異の一つである G73A 変異蛋白質は、野生型に比べ効率よく共有結合複合体を形成する。そこでこの G73A 変異蛋白質を用いて、nick 部位に ³²P をもつ基質と反応させて、複合体を形成させた。この複合体を酸による加水分解後、ろ紙電気泳動を行い、リン酸化アミノ酸を同定した結果、origin DNA と phosphodiester bond を形成しているのは、Tyr 残基であることが分かった。

現在、共有結合を形成している Tyr 残基の一次配列上の位置の決定を試みている。5'末端に poly (dA) を持つ基質を作成し、この基質を使って複合体を形成させる。これを V8 protease 等で消化した後、poly (dT) cellulose column を用いて oligo peptide-DNA complex を分離する。分離した複合体中のペプチドの一次配列を自動アミノ酸シーケンサーによって決定し、共有結合に関与する Tyr 残基の同定を行う予定である。また gpII には 15 個の Tyr 残基が存在するので、これらを 1 つずつ Phe に置換させた変異を作成している。得られた変異の活性について検討中である。

(1-iii) 大腸菌イニシエーター DnaA 蛋白の熱安定化機構: 安田成一

大腸菌の染色体複製開始をつかさどる DnaA 蛋白は、熱ショック蛋白 DnaK と結合することで熱に対して非常に抵抗性になる。本年は DnaA 蛋白内のどの部分が DnaK 蛋白との結合にあずかっているかを明らかにする目的で、大量発現するようにクローン化された DnaA 遺伝子から種々の欠失変異の単離することを試みた。dnaA 遺伝子内にある 6 種類の制限酵素切断部位を利用して、N 端側の 20、および 72 アミノ酸、C 端側の 16、および 91 アミノ酸、および中央部の 41、および 75 アミノ酸の欠失した DnaA 遺伝子を持つプラスミドを作成した。予想通りのサイズの DnaA 蛋白が来ているかどうかを、それぞれの菌抽出物を電気泳動で展開し、抗 DnaA 血清を用いたウェスタンによって検出したところ、N および C 端の欠失株からは予想通りのサイズの DnaA 蛋白が検出できたが、中央部の欠失変異からは計算よりもはるかに小さなサイズの DnaA 蛋白しか見られなかった。N および C 端の欠失蛋白は予想通りの大きさのもののほかにそれより小さな蛋白のバ

ンドが見られたが、それらの低分子量のものの中のあるものは宿主を *ompT⁻* とすることによって減少したが、*lon⁻* や *tsp⁻* では変化がなかった。以上のことから、DnaA 蛋白は、アミノ酸配列の欠失によって不安定になり、蛋白分解酵素の作用を受けやすくなること、そしてその蛋白分解酵素としては *OmpT* が主要なものであると考えられる。今後は欠失を持つ DnaA 蛋白がより安定になる宿主株を見つけること、および欠失の代わりに他のアミノ酸配列で置換することで変異蛋白の安定化を図り、それらより変異蛋白質を精製して、DnaK 蛋白との複合体形成の有無を調べる計画である。

(2) 大腸菌の細胞分裂に関する研究

(2-i) ペニシリン結合蛋白 3 の新しいクラスの変異：原 弘志，堀内賢介

大腸菌のペニシリン結合蛋白 (penicillin-binding protein, PBP3) は、細胞分裂に必須の酵素 (分裂隔壁部分の細胞壁ペプチドグリカンのペプチド側鎖架橋酵素) で、ペニシリン等 β -ラクタム抗生物質の主たる致死標的となっている。ペニシリンと反応する他の蛋白との比較から、ペニシリンによる阻害を受ける架橋酵素のドメインが PBP3 の C 末端側および半分にありとされるが、N 末端側の機能は明らかでない。ただ、架橋酵素ドメインの活性中心のセリン残基をアラニン等に置換したものや C 末端側の様々な長さの部分を欠失したものを過剰生産させたときに観察される優性負効果の解析から、PBP3 が複合体を形成して分裂隔壁形成に働いており、N 末端部分はその複合体形成に重要である可能性が考えられた。今までに分離された PBP3 の変異の殆どはペニシリンの結合でモニターできる架橋酵素活性に欠損が生じたもので、N 末端部分の複合体形成能に欠損が生じたと考えられるようなものは得られていない。そこで、N 末端部分に変異を誘起して、架橋酵素活性中心の置換変異による優性負効果を打ち消すような遺伝子内サブレッサー変異を分離し、それを単独にした (野生型の活性中心と組み合わせた) ものの中から架橋酵素活性欠損ではない新しいクラスの変異を見出す試みを行なっている。これまでに高温でのみ性質が現れるような条件変異の分離を試みたが、隔壁形成が正常には行なえなくなるが致死とはならないような弱い変異しか得られなかった。これは、更にその遺伝子外サブレッサーを探して隔壁形成に働く蛋白複合体を調べるなどの目的には適していないので、温度に無関係な変異を探索した。ナンセンス変異やフレームシフト変異を除外するために、C 末端にアルカリ性フォスファターゼを融合させておき、その酵素活性が残ったまま、活性中心置換による優性負効果を打ち消すようになったものを多数分離した。その中から、野生型の活性中心と組み合わせたときに隔壁形成が行なえなくなったものが 1 つ得られた。この変異 PBP3 は、ペニシリン結合能は保持しているので架橋酵素活性は正常だと考えられ、また細胞質膜の外側で起こる C 末端 11 残基のプロセッシングを受けるので細胞表層への局在化も正常だと考えられる。

(2-ii) 細胞壁合成・細胞分裂遺伝子クラスター：原 弘志，堀内賢介

大腸菌の染色体地図上 2 分の領域には細胞分裂に働く遺伝子や細胞壁ペプチドグリカンの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があり、PBP3 の構造遺伝子も含まれる。この *mra* クラスターの最初にプロモーターがあり、

ftsW まで9つの遺伝子の発現に働いている。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 *lac* 誘導物質 IPTG がないと生育できないが、プロモーターから *ftsW* 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すると IPTG なしで生育でき、一つ上流の *murD* までを含むプラスミドでは IPTG なしで *ftsW* 欠損の表現形（細胞分裂不能）を示した。*murD* 遺伝子産物はペプチドグリカンのペプチド側鎖の D-グルタミン酸を付加する酵素だが、この遺伝子の変異は知られていない。そこで、プロモーターから *murD* の一つ上流の *mraY* までを含むプラスミドと *ftsW* をベクターのプロモーターの働きで発現しているプラスミドを上記の菌株に導入してみると、IPTG なしでは溶菌し、*murD* 遺伝子が細胞壁合成に必須であることが確認できた。さて、*mra* クラスターの最上流の2つの遺伝子は機能が知られていない。3番目の *ftsL* から *ftsW* までをベクターのプロモーターの働きで発現しているプラスミドを上記の菌株に導入してみると、IPTG なしでは細胞分裂が十分行なえなくなって少し長い細胞になったので、これら2つの遺伝子の一方または両方が細胞分裂に関与しているのかもしれない。但し IPTG なしでも生育はできたので、これらは必須遺伝子でないのか、あるいは非誘導状態の *lac* プロモーターによる低い発現量で十分なのだと考えられる。

(2-iii) PBP7 の活性中心置換変異：原 弘志，堀内賢介

大腸菌の PBP7 は細胞壁ペプチドグリカンのペプチド架橋分解酵素で、グリカン主鎖分解酵素 Slt70 に対して PBP3 とともに親和性を示すので、新生ペプチドグリカンの既存細胞壁への挿入のための複合体を形成して隔壁形成に働いている可能性が示唆されている。さて、PBP3 の C 末端 11 残基のプロセッシングを行なう Prc プロテアーゼの遺伝子 *prc* が欠失すると低浸透圧条件下で高温感受性を示し、それをサプレスする変異 *spr* が *prc*⁺ の背景では再び低浸透圧で高温感受性を現わす現象を解析する過程で、PBP7 の過剰生産が *spr* 変異による高温感受性をサプレスすること、PBP7 が Prc プロテアーゼで分解されることがわかった。ペニシリンと反応する他の蛋白との比較から PBP7 の架橋分解酵素活性中心と予測されたセリン残基をアラニンに置換すると、確かにペニシリン結合能が失われた。この変異 PBP7 を過剰生産しても *spr* 変異による高温感受性をサプレスしなかったことから、PBP7 による多重コピーサプレッションは Prc プロテアーゼの基質の過剰生産でこのプロテアーゼの働きが抑えられて *prc spr* 二重変異に近い状態になるためではなく、PBP7 の架橋分解酵素活性が寄与しており、*spr* 遺伝子産物も細胞壁形成に関与している可能性があるものと考えられた。詳細は昨年までの結果とともに文献 3 に発表した。

(2-iv) SOS 応答において誘導される細胞分裂阻害蛋白質 SulA の分子解剖：東谷篤志，石井克幸¹，加藤安彦¹，堀内賢介（¹九州工業大学工学部）

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、傷ついた DNA の修復を行う。この応答には、細胞分裂を一時的に停止させるために、169 アミノ酸残基からなる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の阻害機構は、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示

唆されている。また昨年度までの我々の生化学的研究により、FtsZ と SulA の両蛋白質は GTP 存在下で GTP を加水分解しながら安定な複合体を形成することが明らかになった (文献 1)。

そこで本研究では SulA の機能領域の分子解剖の目的で、N 末端および C 末端からそれぞれ欠失変異体を作成し、それら変異体の性状について調べた。N 末端からの欠失は、蛋白質の生体内における安定性が N 末端のアミノ酸残基によって著しく影響を受けることが知られているので、3 番目のスレオニン残基から行い、SulA 蛋白質の 1 番目のメチオニン残基と 2 番目のチロシン残基は変えないようにした。N 末端 3 番目から 13 番目までの欠失変異体 SulAN14 は、野生型 SulA に比べ細胞分裂の阻害活性が少し低下した。また 27 番目までの欠失変異体 SulAN28 は、野生型に比べその活性が少し増加した。またそれ以上の N 末端からの欠失変異体 (N48, N64, N95) においては、細胞分裂阻害活性を示さなかった。C 末端からの欠失変異体においては、8 残基および 21 残基の欠失 (SulAC161, SulAC148) により、野生型に比べその活性は著しく増加した。またそれ以上の欠失 (C135, C94) においては、もはや活性が消失した。両末端からの欠失変異体 N28C148 は、C148 と同様に強い細胞分裂阻害活性を保持していた。以上の結果から SulA の細胞分裂阻害活性には、N 末端から 27 残基、C 末端から 21 残基の領域を除く中央の約 120 アミノ酸残基が必要であることが解った。

SulA 蛋白質は、大腸菌生体内において非常に不安定な蛋白質の一つであり、また Lon プロテアーゼにより特異的に分解されることが知られている。そこで N28, C161, C148 欠失変異体において見られた細胞分裂阻害活性の上昇が、Lon プロテアーゼによる特異的分解を受けにくくなったためかどうか調べる目的で、大腸菌 *lon*⁻ 変異株を宿主に用いて各種 SulA 変異の細胞分裂阻害活性を検討した。野生型 SulA は、*lon*⁻ 変異株において著しく細胞分裂阻害活性が増加した。しかしながら N28, C161, C148 欠失変異体では、*lon*⁻ 株で少し (N28) またはほとんど全く (C161, C148) その活性が増加しなかった。さらに *lon*⁻ 株においては、これら変異型 SulA と野生型 SulA において顕著な活性の差が認められなかった。この結果は、N28 変異体においては部分的に、C161 と C148 変異体においては全く、Lon プロテアーゼによる分解を受けなくなることを示唆した。

上記の可能性を確認するために、精製した Lon プロテアーゼによる SulA の分解と、SulA の C 末端数残基の配列によるこの分解への影響を *in vitro* 系で検討した。SulA 蛋白質は大変不安定な蛋白質でありその精製が困難であるので、この *in vitro* 系では maltose binding protein (MBP) に fuse した SulA 蛋白質、MBP-SulA 及び MBP-SulAC148 を作成して用いた。これら fusion 蛋白質は、*in vivo* においてそれぞれ野生型 SulA と欠失変異 C148 と同様の性質を示し、前者は宿主菌の *lon* 変異に依存するが、後者では *lon* 変異による顕著な阻害活性の差が認められなかった。In vitro 系での両 fusion 蛋白質の Lon による分解を調べた結果、MBP-SulA は特異的に SulA のコドン 50 番目付近と 120 番目付近の 2 箇所切断されることが確認された。一方 MBP-SulAC148 は Lon で分解を受けなかった。すなわち SulA の C 末端の数残基は、その細胞分裂阻害活性には不必要である

が, Lon の特異的分解という生体内での調節機構において重要な領域であることが明らかになった. これは, SOS 応答において SulA による細胞分裂阻害が一時的であるために, その C 末端領域が重要な役割をになっていることを意味する. SulA の C 末端から 8 残基以上の欠失で Lon による分解を受けなくなることは確認されたが, どこまでがその分解や Lon との結合に必要な十分な領域なのか, 現在検討中である.

研究業績

(1) 原著論文

1. 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.*, **209**, 198-204, 1995.
2. Higashitani N., Higashitani A. and Horiuchi K.: SOS induction in *Escherichia coli* by single-stranded DNA of mutant filamentous phage: Monitoring by cleavage of LexA repressor. *J. Bacteriol.*, **177**, 3610-3612, 1995.
3. Hara H., Abe N., Nakakohji M., Nishimura Y. and Horiuchi K.: Overproduction of penicillin-binding protein 7 suppresses thermosensitive growth defect at low osmolarity due to an spr mutation of *Escherichia coli*. *Microbial Drug Resistance*, in press.

(2) その他

なし.

(3) 発表講演

1. Higashitani A.: Primer-RNA Synthesis for DNA Replication of Filamentous Bacteriophage by RNA polymerase. The First Indo-Japan Workshop on Gene Transcription in Prokaryotes. Symposium. Hyderabad, April.
2. Hara H., Abe N., Nakakohji M., Nishimura Y. and Horiuchi K.: The *psv* gene coding for penicillin-binding protein 7 of *Escherichia coli*. FEMS Symposium on the Envelope in Bacterial Physiology and Antibiotic Action, Garda, Italy, September.
3. 浅野 敏, 東谷篤志, 堀内賢介: 大腸菌繊維状ファージの複製開始蛋白は origin DNA と covalent complex を形成する. 第 11 回ワークショップ「DNA 複製」, 大阪, 8 月.
4. 浅野 敏, 東谷篤志, 堀内賢介: 大腸菌繊維状ファージの複製開始蛋白は origin DNA と covalent complex を形成する. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
5. 原 弘志, 堀内賢介: 大腸菌染色体 2 分領域の細胞壁合成・細胞分裂遺伝子クラス

ターの最初にあるプロモーターは *ftsW* までの 9 遺伝子の発現に必要である。第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月。

6. 東谷なほ子, 東谷篤志, 堀内賢介: 繊維状フェージ f1 のマイナス鎖複製開始機構の解析。第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月。
7. 東谷篤志, 東谷なほ子, 堀内賢介: SOS 応答の分子機構—シグナルから細胞分裂阻害まで。第 18 回日本分子生物学会年会, シンポジウム, 名古屋, 12 月。
8. 八塩在子, 藤崎真吾, 西村行進, 東谷篤志, 堀内賢介: 大腸菌 *metZ* 欠損変異株のテトラサイクリン超感受性。第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月。

B-c. 細胞質遺伝客員研究部門

(1) 動く遺伝子トランスポソンの研究: 大坪栄一

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生産される。フレームシフトが起こらない場合 A, B 両タンパク質が生産されるが、これらのタンパク質は IS3 の転移の抑制に関与することを明らかにした。また、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が生じることを見いだした (Sekine *et al.*, 1996, J. Biol. Chem., **271**, 197-202; 文献 7)。これらの分子は、トランスポゼースによる IR 末端での double-strand breaks によって切り出されたもので、最終的に標的分子に単純挿入されると考えられる。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が示唆される (Ohtsubo and Sekine, 1996, Current topics in Microbiology and Immunology, **204**, 1-26; 文献 5)。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; 文献 1)。

また、DNA の複製を伴って転移するトランスポソン Tn3 の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が、このニックング活性を上昇させる宿主タンパク質が ACP であることを見いだした。

イネにおいて、種々の異なるトランスポソン (5 種) 及びレトロトランスポソン (5 種) を見いだした。トランスポソンの内の *Tnr3* と名付けたものは、既知の *En/Spm* ファミリーの属するトランスポソンであることを明らかにしたが、そ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 (Motohashi *et al.*, 1996, Mol. Gen. Genet., **250**, 148-152; 文献 6)。

(2) 大腸菌の接合による DNA 伝達機構の解析: 大坪栄一

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つが, 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 (Fukuda and Ohtsubo, 1995, J. Biol. Chem., **270**, 21319-21325; 文献 3). 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 カ所の結合部位部位が *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., **177**, 4350-4355; 文献 2).

(3) トランスサイレチン遺伝子の発現制御に関する研究: 山村研一

トランスサイレチン遺伝子は, 主として肝臓, 脳脈絡叢上皮細胞で発現している. 上流部分に種々の転写因子が結合する配列が確認され, 組織特異性との関連が指摘されているが, 肝臓についての知見のみであり, 脈絡叢については解析が進んでいない. このため, トランスジェニックマウスのシステムで組織特異性に関与する領域がどこにあるかを検討した. その結果, 上流 600 bp を含む遺伝子では, 肝臓特異性は保たれたものの, 発現量は約 10 分の一であり, 脈絡叢における発現も認められなかった. それに対し, 上流約 6 kb を含む遺伝子では, 組織特異性, 発現量, 時期特異性もほぼコントロールと同じであった. 詳細は, 文献 8 に発表した.

(4) 遺伝子トラップによる未知遺伝子の単離: 山村研一

遺伝子トラップ法は, 内在性遺伝子の下流に組み込まれたときに発現するようデザインしたトラップベクターを, ES 細胞に導入し未知遺伝子を単離する方法である. トラップベクターは薬剤耐性遺伝子, プラスミド部分, マーカー遺伝子よりなる. この方法によって得られた薬剤耐性 ES 細胞クローンから, 遺伝子の単離を試みたところ新しいセリンスレオニンキナーゼ遺伝子を単離することができた. 塩基配列の比較から, *Xenopus laevis* の XLP46 タンパクキナーゼと 71% の, ショウジョウバエの *aurora* タンパクキナーゼと 62% の相同性があることがわかった. 細胞周期における発現パターンを解析したところ, S 期の中間で最も高い発現をしました. 詳細は印刷中の文献 9 に発表した.

研究業績

(1) 原著論文

1. 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**, 209-222, 1995.
2. 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.*, **177**, 4350-4355, 1995.
3. Fukuda H. and Ohtsubo E.: Large scale purification and characterization of

- TraI endonuclease encoded by sex factor plasmid R100. *J. Biol. Chem.*, **270**, 21319-21325, 1995.
4. Bauer W. B., Ohtsubo H., Ohtsubo E. and Benham C. J.: Energetics of coupled twist and writhe changes in closed circular pSM1 DNA. *J. Mol. Biol.*, **253**, 438-452, 1995.
 5. Ohtsubo E. and Sekine Y.: Bacterial insertion sequences. *Current topics in Microbiology and Immunology*. Saedler H. and Gierl A. (Eds.), **204**, 1-26. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo (1996)
 6. Motohashi R., Ohtsubo E. and Ohtsubo H.: Identification of Tnr3, a Suppressor-Mutator/Enhancer-like transposable element from rice. *Mol. Gen. Genet.*, **250**: 148-152.
 7. Sekine Y., Eisaki N. and Ohtsubo E. Identification and characterization of the linear IS3 molecules generated by staggered breaks. *J. Biol. Chem.*, **271**: 197-202
 8. Nagata Y., Tashiro F., Yi S., Murakami T., Maeda S., Takahashi K., Shimada K., Okamura H. and Yamamura K.: A 6-kb upstream region of the human transthyretin gene van direct developmental, tissue-specific, and quantitatively normal expression in transgenic mouse. *J. Biochem.*, **117**, 169-175, 1995.
 9. Niwa H., Abe K., Kunisada T. and Yamamura K.: Cell-cycle-dependent expression of the STK-1 gene encoding a novel murine putative protein kinase. *Gene*, in press.
- (2) その他
1. 山村研一: トランスジェニックマウス技術による成人病モデル動物の開発. *臨床成人病*, **25**, 21-24, 1995.
 2. 山村研一: 遺伝子ノックアウト. *CLINICAL NEUROSCIENCE*, **13**, 112, 1995.
 3. 山村研一: トランスジェニックマウス. *炎症と免疫*, **3**, 87-92, 1995.
- (3) 発表講演
1. 山村研一: 遺伝子改変マウスの医学への応用. 第13回日本脳腫瘍病理研究会, 熊本, 4月.
 2. 山村研一: Regulation of a human transthyretin gene expression in transgenic mice. 5th Italy-Japan Joint Seminar on Molecular Biology and Biotechnology, 山梨, 6月.
 3. 山村研一: トランスジェニックマウスの心臓疾患研究への応用, 第1回久留米心臓・血管研究会, 久留米, 9月.
 4. 山村研一, 磯田菊夫, 萬谷昭夫: 神経系における Cre-loxP システム, 第12回日本

疾患モデル学会総会, 岡山, 11月.

C. 個体遺伝研究系

C-a. 発生遺伝研究部門

当研究部は, 日本産クビヒドラ (*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. また最近では, 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名であった. その他, 総合研究大学院大学生命科学研究科の村手源英は前年度に引き続きヒドラ組織の超微細構造の研究を行った. 藤沢千笑は3月まで大学院生として, その後は国際科学振興財団研究生として前年度に続いて間幹細胞集団の研究を行ない, 岸本康之は9月まで大学院生として, その後は研究生としてヒドラ外・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ラーゲンの遺伝子の研究を3月に完了し, その後博士研究員として研究を続けるために渡米した. 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の, 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と機能解析: 藤沢敏孝, 清水 裕, 服田昌之, 杉山 勉, 宗岡洋二郎, 高橋俊雄¹, 小泉 修² (¹広島大学, ²福岡女子大学)

ヒドラ発生機構の制御に関与するペプチド性シグナル分子のスクリーニングを, 昨年から継続して行った.

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, 重要な生体調節機能を有している. 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) としても, 発生過程の重要な調節機能を果たす. しかし, これまで形態形成因子として分離され, 構造決定されたものは少ない. 本研究ではヒドラの発生制御に関与するペプチド性シグナル分子, 特に形態形成因子の分離を目的として, 新しい方法を開発し, 大規模スクリーニングを行っている.

本研究で用いている新しいアプローチの概要は以下の通りである. (1) ヒドラ組織から活性検定を行わずに, 先ずペプチドを単離する. (2) Differential Display PCR (DDPCR) (Liang & Pardee, 1992) を用いて遺伝子発現に影響を及ぼすペプチドをシグナル分子として選び出す. (3) DDPCR 法で活性の認められたペプチドの構造決定を行う. (4) 大量のペ

ペプチド化学合成を行う。(5)合成ペプチドを用いて生物活性の検索を行う。これらの方法の有効性については既に昨年の本報で述べた。

現在まで、286のペプチドを単離し、112のペプチドのアミノ酸配列を決め、19のペプチドにつき化学合成をおこなった。これらのうち、2つのファミリー (GLWamide ファミリーとPW ファミリー) につき生体内機能の解析を進め、以下の結果を得た。

1) GLWamide ファミリーには、6種のペプチドが属し、アミノ酸7又は8個からなり、いずれもC-末端がGLWamideである(例: Hym-54GPMTGLWamide)。イソゲンチャクから同様の神経ペプチド、Metamorphosin-A (pEQPGLWamide) がすでにとられ、ヒドラの近縁種である海産のHydractiniaの幼生の変態を促進することが報告されている(Leitz, 1994)。ヒドラのGLWamide ペプチド6種いずれもHydractiniaの幼生の変態を促進する活性を持つ。またヒドラにおいては筋肉系、特に芽体が親から分離するときに収縮すると考えられている外胚葉のスフィンクター筋肉を特異的に収縮させる。

2) PW ファミリーに属するペプチドは4種で、アミノ酸5-8個からなり、いずれもC-末端がPWである(例: Hym-33HAALPW)。PW ペプチドはいずれもヒドラの神経細胞分化を特異的に抑制する活性を持つ。

現在、2つのペプチドファミリーの更に詳細な機能解析を行うと共に、残った合成ペプチドの機能解析も進めている。

(2) ヒドラ細胞接着分子の解析: 服田昌之, 杉山 勉, Engelbert Hobmayer¹ (¹フランクフルト大学)

ヒドラは単一の細胞にまで解離しても再集合させればそこから再生することができ、その過程は多細胞動物の形態形成の原理を探る良いモデルとなる。そこでは細胞選別や上皮構造の形成といった細胞間認識と移動が中心的役割を担う。そこでヒドラの細胞接着に着目し、細胞接着活性の検出と細胞接着分子の単離を行ってきた。単一にまで解離した細胞を旋回培養によって再集合させると、第一段階として外胚葉細胞と内胚葉細胞とが別々の小さな集合塊を形成し、第2段階として両胚葉細胞塊が混ざりあって大きな集合塊を形成する。細胞選別から混成集合への急激な変化は集合塊から上皮構造を形成する原動力と考えられ、その分子機構の解析を開始した。ヒドラ細胞膜に対する抗血清を旋回培養に加えると、細胞選別が起こらず初めから内外両胚葉細胞が混ざり合うと共に大きな集合塊を形成しなくなる。このように抗体を用いたアプローチが有効と分かり、現在分子の同定を進めている。また第一段階の細胞選別はカルシウム依存性とトリプシンに対する性質から細胞接着分子カドヘリンによると考えられる。カドヘリン関連の分子を単離する目的で、PCR法によってカドヘリン結合分子の β カテニン(文献2)と α カテニンのクローニングを行なった。さらに細胞-基質間接着分子も重要と考えインテグリン β をクローン化した。またエピトープ選抜法によって、膜タンパクとアクチン束を連結するABP-280をクローン化しセブテート結合の構成分子であることを明らかにした。

(3) ヒドラ細胞外マトリックス(メソグリア)と頭部再生: 清水 裕, Sarras M.¹ (¹カサス大医)

腔腸動物ヒドラはメソグリアと呼ばれる厚さ 2~5 ミクロンの細胞外マトリックス層を持つ。その組成は哺乳類の基底膜と基本的に同一である。メソグリアは外胚葉と内胚葉の間に存在し、細胞の支持基盤として働くと考えられる。

ヒドラ頭部を切断除去すると、2, 3 日以内に触手や口丘の再生開始が認められる。再生過程におけるメソグリア構造変化を抗体染色法を用いて調べたところ、頭部切断直後に再生組織からメソグリアが完全に欠失することが明らかとなった。欠失部分は傷口から約 30~50 ミクロンの範囲である。メソグリアの欠失状態は約 18 時間続き、その後新たなメソグリアの合成、そして触手、口丘の形成が認められた。さらに興味深いことに、メソグリア欠失部域と再生組織の間には強い相関が認められた。すなわち、将来の触手形成は、必ずメソグリア欠失部域の組織に限定され、メソグリア存在部域からは形成は全く認められなかった。

この結果は、ヒドラ頭部再生過程において、まずメソグリアの構造変化が生じ、この変化が以後の形態形成に重要な影響を及ぼすことを強く示唆する。メソグリア欠失が頭部再生に及ぼす影響のメカニズムとして、大きく 2 通りの可能性が考えられる。(1)メソグリア欠失により外胚葉上皮細胞と内胚葉上皮細胞が直接接触する。この接触により両細胞間の相互作用が活性化され、再生が開始される。(2)メソグリア構成成分には再生を直接的あるいは間接的に抑制する因子が含まれている。メソグリア欠失に伴ってこの因子が失われ、再生が開始される。一番目の可能性を検討するために、再生開始直後に発現が認められる *Hom/Hox* 遺伝子群(カリフォルニア大 Bode 教授らが分離)の発現パターンとメソグリア欠失パターンとの相関の有無を調べる事を試みている。

(4) ヒドラの Epiboly 再生過程の解析: 岸本康之, 村手源英, 杉山 勉

ヒドラは内外二層の上皮細胞層から形成されている。外側の外胚葉組織と内側の内胚葉組織を一旦分離し、その後両組織を再接触させると、外胚葉組織が内胚葉組織を薄く広がって包み込む Epiboly 運動が見られ、やがて完全なヒドラが再生する。この再生系を利用し、ヒドラの再生過程における外胚葉と内胚葉の役割と相互作用について解析した。

蛍光色素を用いた生体染色法によって、Epiboly 運動における細胞移動の様子を観察した。その結果、外胚葉と内胚葉をそれぞれ単独に培養した場合、どちらにも全く細胞移動は見られなかった。これに対し、両者を接触させて培養すると、両胚葉に活発な細胞移動が起きることがわかった。特に内胚葉において、外胚葉との接触面に位置する細胞と細胞の間に内胚葉内部から細胞が侵入する Cell intercalation 運動が活発に進行していることが観察された (Kishimoto *et al.*, 1996, *J. Cell Sci.*, in press)。

また走査型及び透過型電子顕微鏡を用いた形態学的観察を行った。その結果、内胚葉上皮細胞が、Epiboly 再生過程の進行に従い、細胞形態に著しい変化を示すことがわかった。正常ヒドラにおける内胚葉上皮細胞は単層上皮構造を形成し、個々の細胞の上端と下端には細胞極性を示す特徴的構造が見られる。しかし外胚葉と分離すると、内胚葉細胞の極性を示す構造が消失し、単層上皮構造を壊して細胞どうしが乱雑に接着する細胞集塊になることがわかった。この状態は外胚葉との再結合後においても、Epiboly 運動進行

中持続した。ところが、Epiboly が終了し内胚葉が薄い外胚葉層に覆われると、外胚葉に直接接した内胚葉上皮細胞のみが細胞極性を回復し、単層上皮構造を再形成することが観察された。

これらの結果は、Epiboly 再生過程において、少なくとも 2 段階の外、内胚葉間相互作用が機能することを示している。第一の相互作用は Epiboly 運動進行中において内胚葉の Cell intercalation 運動を活性化し、第二の相互作用は Epiboly 運動終了後、内胚葉上皮細胞に極性を与え上皮構造を再構築すると考えられる。これらの相互作用は、ヒドラの二層性上皮構造形成及び維持に、深く関与していると思われる。Cell intercalation 運動の活性化に関与すると考えられる因子をヒドラ細胞膜トリプシン可溶化物物に見いだした。現在この因子の分離同定を進めている。

(5) ミドリイシサンゴの系統進化: 深見裕伸¹, 王 文樵¹, 大森 信¹, 林原 毅², 下池和幸², 服田昌之, 杉山 勉 (¹東京水産大学, ²阿嘉島臨海研究所) サンゴはヒドラと同じ腔腸動物に属し, その中でもミドリイシ属 Genus *Acropora* は造礁性サンゴの主要な種を占める。ミドリイシ属は多くの種が同一海域内で同一日時に一斉産卵を行なうため, 種間交配の確率が高く, 地理的隔離の無いままにどのようにして多様な種を分化させてきたのかが大きな問題となっている。そこで遺伝子の塩基配列に基づく種内および種間の遺伝的多型性を調べると共に, 実験的交配によって生殖隔離を調べた。まず腔腸動物に特異的な刺胞の主要構成成分をコードするミニコラーゲン遺伝子をミドリイシサンゴから単離し (原著論文参照), 交配実験に供した個体の DNA から PCR によってミニコラーゲン遺伝子第 2 イントロン部分を増幅して得られた塩基配列の遺伝子進化系統解析を行なった。交配実験の結果と合わせると, (1) 一斉産卵に参加しない 2 種の遺伝子塩基配列は系統的に遠く独立している, (2) 散房花状形態の種では遺伝子塩基配列の種内多型が約 3% と非常に高い, (3) 散房花状の形態的近縁種では遺伝子塩基配列の種内多型と種間変異が区別できないのに加えて種間で交雑の起こる組み合わせがある, (4) 枝状形態の優占種 *A. formosa* では遺伝子塩基配列が allele 間で種間程度に大きく異なるうえに例外的に自家受精し, さらに散房花状形態の優占種 *A. nasuta* と種間交雑する, (5) テーブルサンゴの優占種 *A. hyacinthus* は種内で生殖隔離が進行している, ということが明らかになった。以上のことからミドリイシサンゴは, 生殖隔離による種分岐と雑種形成による種の融合とを繰り返すことで多様な種を進化させてきたことが示唆される。

研究業績

(1) 原著論文

1. Wang W., Ohmori M., Hayashibara T., Shimoike K., Hatta M. *et al.*: 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.
2. Hobmayer B., Hatta M., Fujisawa T., Holstein T. and Sugiyama T.: Identification of a Hydra homologue of the b-catenin/placoglobin/arma-dillo gene

family. Gene, in press.

3. 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, 1995.
4. 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*, **204**, 349–357, 1995.
5. Kishimoto Y., Murate M. and Sugiyama T.: Hydra regeneration from recombined ectodermal and endodermal tissue. I. Epibolic ectodermal spreading is driven by cell intercalation. *J. Cell Sci.*, in press.

(2) その他

なし

(3) 発表講演

1. 藤沢敏孝, 杉山 勉, 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無標的大規模スクリーニング, 日本発生物学会大28回大会, 名古屋, 5月.
2. 藤沢敏孝, 杉山 勉, 服田昌之, 清水 裕, 宗岡洋二郎, 高橋俊雄: ヒドラのペプチド性シグナル分子の無標的大規模スクリーニング, 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
3. 服田昌之, 坂口雅彦, 小早川義尚, 小泉 修, 杉山 勉: エピトープ選抜法によるヒドラ分子マーカーの単離. 日本発生物学会第28回大会, 名古屋, 5月.
4. 岸本康之, 杉山 勉: ヒドラ外胚葉上皮組織エピボリーにおける上皮細胞の再配置. 日本発生物学会第28回大会, 名古屋, 5月.
5. 王 文樵, 服田昌之, 伊奈康夫, 杉山 勉, 林原 毅, 下池和幸: ミドリイシサンゴの種間関係と多型性. 日本動物学会第66回大会, 東京, 9月.
6. Takahashi T., Muneoka Y., Fujisawa T., Shimizu H., Hatta M., Sugiyama T., Koizumi O., Bosch T., deHaro M., Lohmann J., David C. and Bode H.: Hydra peptide project I. Isolation structure determination and chemical synthesis. 6th International workshops on hydroid development. Tuzing, Germany, September.
7. Bosch T., Solleder G., deHaro M., Lohmann J., David C., Fujisawa T., Shimizu H., Hatta M., Sugiyama T., Takahashi T., Muneoka Y., Koizumi O. and Bode H.: Hydra peptide project II. Differential display assay for signal peptide activity. 6th International workshops on hydroid development. Tuzing, Germany, September.

8. Fujisawa T., Shimizu H., Hatta M., Sugiyama T., Koizumi O., Bode H., Bosch T., deHaro M., Lohmann J., David C., Takahashi T. and Muneoka Y.: Hydra peptide project II. Biological function assay. 6th International workshops on hydroid development. Tuzing, Germany, September.
9. Lohmann J., Bosch T., deHaro M., David C., Fujisawa T., Shimizu H., Hatta M., Sugiyama T., Takahashi T., Muneoka Y., Koizumi O. and Bode H.: Hydra peptide project IV. Cloning of Hym-54 responsive genes. 6th International workshops on hydroid development. Tuzing, Germany, September.
11. Hatta M., Sakaguchi M., Kobayakawa Y., Koizumi O. and Sugiyama T.: Isolation of Cytoskeletal Molecules in Hydra by Epitope Selection. 6th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
12. Shimizu H. and Sarras P. M.: Disappearance and reappearance of mesoglea in hydra tissue during regeneration after head removal. 6th International Workshop on Hydroid Development, Tutzing, Germany, September.
13. Kishimoto Y., Murate M. and Sugiyama, T.: Hydra regeneration from recombined ectodermal and endodermal tissue. I. Cell rearrangement. 6th International Workshop on Hydroid Development, Germany, September.
14. Murate M., Kishimoto Y., Sugiyama T., Takahashi-Iwanaga H. and Iwanaga T.: Hydra regeneration from recombined ectodermal and endodermal tissue. II. Electron microscopic study. 6th International Workshop on Hydroid Development, Germany, September.
15. Kishimoto Y. and Sugiyama T.: Hydra regeneration from recombined ectodermal and endodermal tissue. The 6th Naito Conference, Gifu, November.

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発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、国立遺伝学研究所外国人研究員・李 豊備、総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻・小林正友、影山裕二、岡田聖裕、竹丸憲一、劉 慶信、国立遺伝学研究所特別研究学生（岩手大学大学院）川崎陽久、国立予防衛生研究所・鈴木えみ子が参加した。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。広瀬は「動物遺伝子の転写制御」（代表者：東京工業大学生命理工学部・半田 宏）、「DNA 超らせんによるウニ初期胚の転写調節に関する研究」（代表者：広島大学理学部・赤坂甲治）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）、「昆虫の個体と細胞の寿命に関する遺伝学的・細胞学的解析」（代表者：東京農工大学農学部・岩淵喜久男）、「カイコガ科における家蚕 (*Bombyx mori*) と野蚕 (*Bombyx mandarina*) の類縁関

係の遺伝学的研究」(代表者:九州大学農学部・藤井 博)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“細胞核の機能構造”(1)「核機能発現の場の構築」(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),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)の支援を受けた。

上田と影山は第36回ショウジョウバエ研究会(4月,アメリカ合衆国アトランタ)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

(1-a) 真核生物のDNA超らせん化因子に関する研究:小林正友,広瀬 進

超らせん化因子はDNAトポイソメラーゼIIと協調して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+} を結合してコンパクトな形に変換する。また, C末端にはカイコとショウジョウバエの因子に共通な4アミノ酸配列HDEFが存在する。このような特徴的な構造が超らせん化因子の機能に果す役割りを明らかにするため, 各種の欠失変異体とアミノ酸置換変異体を作製し, 発現したタンパクの活性を調べた。その結果, EFバンドドメインを2つまで欠失させても超らせん化活性は失われなかったが, 3つ欠失させると Ca^{2+} 結合能が著しく低下し, それに供なって超らせん化活性も低下した。4つ欠失させると, Ca^{2+} 結合能, 超らせん化活性共にほとんど検出できなくなった。一方, C末端のHDEF配列を欠失させると, DNAトポイソメラーゼIIと結合できなくなり, 超らせん化活性は完全に失活した。これらの結果は, 超らせん化因子がC末端HDEF配列を介してDNAトポイソメラーゼIIと相互作用し, Ca^{2+} の結合に供なって高次構造を交換することによって超らせん化活性を誘起することを示唆している。

(1-b) 真核生物の遺伝子発現調節:岡田聖裕,上田 均,赤坂甲治¹,広瀬 進(¹広島大学理学部)

真核生物のゲノムのうちほとんどの領域はクロマチン構造をとっており, 遺伝子が発現されていない。このような不活性なクロマチンから転写を活性化する機構を明らかにするため, ショウジョウバエの *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, GAGA因子を作用させることにより, クロマチンをリモデリングして転写を活性化する系を開発し, 解析を進めている。また, ウニのアリルスルファターゼ遺伝子上流に存在するインシュレーター様エレメントについても解析している。

(2) 転写因子FTZ-F1の研究

(2-a) ショウジョウバエFTZ-F1遺伝子の時期特異的発現制御機構の解析:影山裕二,広瀬 進,上田 均

FTZ-F1は, エクジソンのパルスによって誘導され, 孵化直前の後期胚, 幼虫脱皮, 蛹化の直前に一過的に発現する転写因子である。前年度までの解析により, FTZ-F1の時期特異的発現に関わる領域が, FTZ-F1遺伝子の転写開始点付近約1.6 kb以内に存在すること

を明らかにした。そこで、この 1.6 kb の領域に結合する因子を検索したところ、後期胚および前蛹の両方の時期にエクジソンの体液中の濃度の変化に応じて検出される 3 つの因子、I-4, II-4, II-7 を見出した。それぞれの結合配列を決定したところ、因子 I-4 は既知の DNA 結合因子とは異なる配列に結合することが判明し、新規の因子であると考えられた。一方、II-4 と II-7 の結合塩基配列は類似しており、いずれも核内レセプタースーパーファミリーに属する因子であるヒト ROR α のものとよく一致した。また、合成オリゴヌクレオチドを用いた競合実験から II-4 と II-7 は同じ因子であると考えられた。ROR α のショウジョウバエでのホモログである DHR3 は、エクジソンの体液中の濃度が上昇した直後に発現することが知られているが、II-4/II-7 の検出パターンはこれとよく一致し、II-4/II-7 は DHR3 である可能性が考えられた。現在、これらの因子が FTZ-F1 遺伝子の発現制御にかかわるかどうかが検討中である。

(2-b) FTZ-F1 の標的遺伝子の発現制御機構の解析: 上田 均, 広瀬 進

ショウジョウバエの EDG84A 遺伝子は、クチクラタンパクをコードすると考えられ、前蛹期の中期から後期にかけて成虫原基で特異的に発現することが知られている。前年度までの解析により、この遺伝子の転写開始点を含む約 0.8 kb の領域は、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を含むことを示した。また、転写開始点の上流 100 bp のところに FTZ-F1 が結合することが EDG84A 遺伝子の発現に必要であることを示し、FTZ-F1 が EDG84A 遺伝子の時期特異的発現を決める因子であると考えられた。本年度は、組織特異発現を制御する機構を明らかにするため、EDG84A 遺伝子の転写開始点付近の様々な領域を LacZ 遺伝子に結合させた融合遺伝子を作成し、その発現パターンを解析した。その結果、+80 から -400bp までの領域があれば組織特異的発現が再現されるが、+80 から -200bp までの領域では、成虫原基以外の組織でも LacZ 遺伝子の発現が認められ、この -200 から -400bp までの領域に、成虫原基に限定した発現を規定する因子が結合し、発現の組織特異性を決めるものと考えられた。

(2-c) FTZ-F1 の強制発現によるクチクラ構造への影響の解析: 上田 均, 鈴木えみ子, 広瀬 進

ショウジョウバエの FTZ-F1 は、幼虫脱皮の直前に一過的に発現すること、また、FTZ-F1 を本来発現する時期より早く強制発現させると、脱皮ができないことを明らかにした。脱皮の直前の時期は次の齡のためのクチクラを形成する時期であり、脱皮ができなくなる原因として、クチクラの形成異常が考えられた。そこで、FTZ-F1 を本来発現する時期より早く強制発現させることによる、クチクラ構造への影響を電子顕微鏡を用いて観察した。正常な 3 齡幼虫のクチクラは、外側から epicuticle と procuticle の 2 層から成るが、2 齡中期に FTZ-F1 を強制発現させた幼虫では、3 齡の epicuticle が層状には成らず、分断されていることが明らかとなった。このことから、FTZ-F1 の強制発現により、クチクラ形成にかかわる遺伝子の発現に異常が生じ、脱皮ができなくなった可能性が考えられた。一方、3 齡幼虫の時期に FTZ-F1 を強制発現させても表面的には影響がみられなかったが、電子顕微鏡を用いて観察すると、procuticle 層に epicuticle 様の顆粒ができたこと

が観察された。このことから、FTZ-F1 は、クチクラ形成にかかわる遺伝子の発現制御にかかわることが示唆された。

(3) 転写メディエーターに関する研究: 竹丸憲一, 李 豊情, 劉 慶信, 上田 均, 半田 宏¹, 広瀬 進 (¹東京工業大学生命理工学部)

FTZ-F1 による *fushi tarazu* 遺伝子の転写活性化には、FTZ-F1 と基本転写因子の間を中介する2つのメディエーター MBF1 と MBF2 が必要である。MBF1 は MBF2 とヘテロダイマーを形成すると共に、FTZ-F1 の DNA 結合ドメインに結合して FTZ-F1・DNA 複合体を安定化する。また、TATA ボックス結合タンパク TBP とも直接結合する。一方、MBF2 は TFIIA の β サブユニットと結合して転写を活性化する。これらの事実にもとずき、FTZ-F1 と MBF1 が positive cofactor MBF2 を FTZ-F1 結合 site をもつプロモーターに recruit することにより、FTZ-F1 site に依存した転写活性化が起きるというモデルを提唱した。cDNA を大腸菌で発現させて得た recombinant MBF2 と native MBF2 の比較から、MBF2 は N-グリコシド結合を含む糖タンパクであることが明らかとなった。O-グリコシド結合を含む転写制御因子は多数知られているが、N-グリコシド結合をもつ転写因子は MBF2 が初めてである。また、カイコから MBF1 の cDNA をクローニングしたところ、この因子は酵母や植物からヒトまで広く保存されていることが判明した。

(4) カイコ成虫の短命遺伝子 *sdi* (short duration of imaginal lifespan) の生理遺伝学的分析

(4-a) 脳移植実験からみた遺伝子 *sdi* の機能: 島田¹, 神原², 村上 (¹農工大・農, ²東大・農)

種の維持は、種固有の遺伝情報を子孫に伝達する巧妙な機構によって保証されるが、両性生殖生物の次世代の子孫をもうけた以後の生殖後期の維持機構には、必ずしも種維持にみられるような保証性がなく、老化過程を経て死にいたる。とはいえ、老化・死の過程も生長、成熟期～生殖期を完了した時点から発現する生命現象の一つであり、生殖後期の個体の生命維持もジェノムの設計図に則った脳（中枢）神経系の働きによる恒常性の維持にあると考察される。

カイコ成虫の短い生存期間を発現する自然発生の常染色体の劣性突然変異体 *sdi* が検出・同定され、その生物・遺伝的特性の分析が、Murakami と彼の共同研究者 (1986～1995) によって進められている。本実験は遺伝子 *sdi* をホモに保有する個体の脳の機能を分析する目的で、*sdi* 系統、その野生型 (+^{sdi}) を保有する J106 系統個体と *sdi* 系統との F₁ 個体を用いて、脳の摘出・移植が成虫生存期間に及ぼす影響を追究した。

sdi, +, (+×*sdi*) F₁ 個体を実験対象とし、25°C、湿度 70% の条件下で実験を行った。脳の摘出・移植手術は常法に従って行い、対照は模擬手術による受傷個体とした。

その結果、F₁(+/sdi) 個体への *sdi* の脳の移植は、被移植個体自身の脳の有無にかかわらず、成虫生存期間の変化はみられず、また、その逆の実験においても生存期間は不変であった。従って、移植脳には成虫生存期間の短縮・延長効果は認められず、*sdi* の脳の恒常性維持機能の異常は、脳の神経内分泌物によるのではなく、むしろ、神経細胞間の情報伝

達機構の遺伝的異常と推論された。

遺伝子 *sdi* の短命化は成虫脱皮後に発現する (Murakami ら, 1986) こと, あるいは体重の減少もみられず致死することなどから, *sdi* 個体の脳による生殖後期の恒常性維持に何らかの支障をきたすことによると考察される。昆虫の成虫羽化などを誘導するエクジソンは, 双翅目昆虫の多系染色体の遺伝子を活性化させる事実等が明らかにされている (Clever, Karlson, 1960)。さらに, 昆虫の神経系は成虫脱皮前後に, ニューロンの再分化が起こり, 幼虫から成虫型へ再構築され, この時期のプログラム細胞死の誘導は, エクジソンの濃度変化がその受容体を発現することに原因するとの報告 (Robinow ら, 1993) がある。かような諸点を考慮すると, *sdi* 系統の成虫期間の短命形質は生命維持機能の欠損で, 変態期における脳ニューロンのプログラム死によると説明されうる。

(4-b) 遺伝子 *sdi* の染色体連関分析: 藤井¹, 土井良¹, 村上¹(九大・農)

カイコ成虫の寿命の短い突然変異が発見され, これまでのその遺伝形質の分析の結果, 常染色体に座乗する一劣性遺伝子 (*sdi*) によることが明らかにされているが, ここではその遺伝子の染色体連関分析を行った。成虫短命変異体 *sdi* は産下時点から, 胚, 幼虫, 蛹期へと正常に生育するが, 成虫 (蛾) の生存期間は本昆虫の平均生存期間に比べ, きわめて短く, 大部分の個体は羽化後 3 日以内に死亡する。そこで常法にしたがって遺伝子 *sdi* の連関検索を行った。連関検索に用いた標識連関群は第 2(Y), 3(Ze), 4(L), 6(E^{Kp}), 7(q), 8(st), 9(Ia), 11(K), 13(ch), 14(U), 15(bl), 16(cts), 18(mln), 19(nb), 22(mw), 24(Sel), 27(so), 28(Etr) である。検定に際して, 標識遺伝子が優性である場合には標識系統との交雑 F₁ 雌に用いて戻し交雑, 劣性の場合には F₂ における分離を調べ連関の有無を調べた。その結果, 第 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 22, 24, 27, ならびに 28 連関群に対して独立していることが判明した。ところが 25 連関群に所属する Nb (まゆを作らず裸の蛹) の平均的寿命タイプの雄を *sdi* 雌に交配し, Nd となった F₁ 雌に *sdi* の雄を戻し交配した実験区を 1 蛾育成し, 分離した Nd と正常にまゆを作ったタイプとに分けて飼育し, 各々の成虫の生存期間を計測した。その結果, 正常区では雄・雌共にすべて (216 匹) が短命で平均的生存期間の個体は認められなかった。一方, Nd では雄・雌併せて平均的生存期間の 102 匹と短命の成虫が雄・雌併せて 33 匹であった。

すなわち BF₁ における分離比は Nd 133: +216 と Nd タイプが正常の約 50% であったが, すでに述べたように, Nd 個体は本昆虫の平均的寿命を示すが, 生理的障害によって幼虫期 (とくに蛹化時点), あるいは蛹で死亡する個体が多数生じるので, 正常なまゆを形成する野生型に比べて Nd の成虫化した個体が少なかったと考えられる。さらに羽化後短期間に死亡した個体は一般に自然死した状態と明らかに異なり, 腹部は黒く腐った状態で柔らかく, 胸部を攪むと胸部と胴部が容易に離れ遺伝的死と判定された。また, Nd 区において短命な個体は生理的な死と判断されるのでこれらを除くと, BF₁ における分離比は Nd 133: +216 と Nd が野生 (正常) 型の約半数であったが, 本来 1:1 の分離比であったと考えられるので, 遺伝子 *sdi* は遺伝子 Nd と連関していると結論した。

参考までに, Nd/+同志の交配を行い, Nd 区の生存期間を調べた結果, 羽化後 4 日まで

のいわゆる短期間に死亡した雄は4匹、雌は6匹の合計10個体であり、5日以上生存の雄(69匹)、雌(73匹)の合計142個体であった。これら短命な成虫は遺伝的形質であるかについて検討すると、理論的には長命:短命=3:1の分離となるが実際には長命142:短命10となり、明らかに3:1の分離比からかけ離れていて、この場合、短命な個体は生理障害によって致死したとみなされた。

次に3点実験を行って遺伝子 *sdi* の座位を求めるべきであるが、ここでは *Nd*+/+*sdi* 個体の F_1 の雄を +*sdi* 雌に交配して、次代において *Nd* と *sdi* の距離を調べた。*Nd*+タイプが雌雄合計151匹、*Nd sdi* タイプが52匹に対し、+*sdi* タイプは254、+タイプは20匹であった。組み換え型の *Nd sdi* 個体52匹、+20(16)匹となった。したがって組み換え価を求めると、12.3%(72/472×100)となるが、*Nd* 個体は生理障害で途中で多数死亡したので、*Nd* 個体を除いた、野生(正常)(+)タイプのみから求めた結果、5日目をも短命として加えた場合7.3%(20/274×100)、5日目を除外した場合6.0%(16/174×100)となり、*Nd* と *sdi* との距離は±7.3~5.9となる。現在第25連関群に座乗する遺伝子 *oy* と *sdi* の二重劣性系統を育成し、*Nd* との3点実験を進めている。

(5) カイコの2・3の行動に関する研究

(5-a) 産卵行動にみられる概日性周期: 村上昭雄

本昆虫の交尾したメス成虫はその日の夕刻から夜半にかけて体内のほとんどの卵(厳密には第一卵母細胞)を受精卵として産下する。しかし、未交尾のメスは、系統によって多少の差異のあるものの、羽化後1日から7~8日目にかけて未受精卵を産下する性向がある。この産下行動を未交尾のメス個体毎に25℃の自然光周期(日長)条件下の実験室内で、羽化直後から死亡時点まで、1時間当たり10mmで移動する自動産卵計測器を用いて計測すると、羽化当日から産卵を開始する個体(系統)や2~3日後に産下を始める個体(系統)が観察されるものの、季節にかかわらず、日没前後から日の出前後にかけて産下し、以後日中から日没前後にかけては全く産下せず、成虫体内に卵があるかぎり、数日間(~7日間)にわたって、正確な概日性リズムが観察される。かような正確な産卵リズムは日の出(入)という時点の太陽光の光量の増減によって生体時計が調整される事実を物語るのである。しかし、系統間差異もみられるが、概して、羽化後の経過に伴って、産卵行動のリズムに乱れがあらわれて、昼間でも産下するケースが認められるようになる。かかる産卵行動の周期性の乱れは個体の死亡率の急増するいわゆる生殖後期に相当し、この現象は成虫の加齢に伴う、脳・中枢神経系の機能の低下に原因する生理的活性の鈍化にあると推察され、生命維持系としての中枢神経系の重要性が再認識された。

羽化時点まで、自然日長の条件下で飼養されてきた未交尾メスを全暗条件下に置くと、未受精卵の産下行動は、自然日長条件下でみられたように明確な概日性周期は観察されなかったが、観察対象の系統(品種)によって程度の差異はみられるものの、羽化後3~4日間の産卵行動にある程度の概日性周期が認められた。興味あることに、全暗条件下における交雑 F_1 個体の産下行動は概して周期性は弱い、純系の中にはかなり鮮明な自然日周(長)性と同調した概日性リズムを示した事例が観察された。上記したような、産下行動か

らすれば、本昆虫の諸々の行動の底流には概日性周期の生体時計が作動していると推論された。

(5-b) ふ化・羽化行動における突然変異体：村上昭雄，深瀬与惣治

カイコにおける一ふ化 (hatching), 羽化 (eclosion) の両行動は、個体レベルで分析できる産卵行動とは異って、集団レベルで観察されるタイプである。しかし、同一生育集団の中には個体による遅速がみられて、日の出前後に始まって、大略午前中に終了する周期性の事象が数日間にわたって観察される。これらの事象は周期性なのであるが、日の出から30~60分前後にみられる大多数の個体群 ($chr-h^+$; $chr-e^+$) を中心として、日の出より30分程早くみられる個体群 ($chr-h^+$; $chr-e^-$)、それに日の出から数時間後にあらわれる少数派の個体群 ($chr-h^-$; $chr-e^-$) に分類できる。しかも、両行動において、数世代にわたる選抜によって、比較的容易に、各々の3グループは固定される遺伝形質で少数の遺伝子によって制御されることが分かる。なお、両行動における変異体、ことにふ化事象は年間の世代数形質による制約があるので、実験には亜熱帯性の非休眠性系統を用いた。

ところで、 $chr-h^+$, $chr-e^+$ のラインのように、光周期 (日長) とは無関係に概日性のみられる事実はふ化・羽化両行動が体内時計によって測時される生物事象であることを示唆する。両行動には、内分泌物質が介在することが知られているが、それらの行動に参与するそれぞれの内分泌物質の合成、蓄積は、行動が終了した時点、ことに日没後から夜半にかけて、生物時計に測って脳・中枢神経系からの関連諸器官への指示によっておこなわれると推定される。そして蓄積された内分泌物質の放出はそれぞれのラインに固有の時刻に脳・中枢神経系からのそれぞれの器官への指示によると考えられる。

(6) カイコにおける細胞遺伝学的研究

(6-a) 相互転座染色体の形成とオスの致死性：村上昭雄

カイコにおけるオスの絹タンパク質の生産性はメスのそれに比して効率が高いことから、オス (XX) のみを飼育する方法が提案され、雌性決定能を有する性染色体 Y に可視形質 (例えば、幼虫の斑紋、卵の漿膜細胞の着色性など) を転座または付着させた系統を作製し、標識されたメス (XY) 幼虫 (卵) を廃棄する技術が開発された。しかし、ある標識系統では標識染色体が時々解離するが、標識染色体の由来が転座あるいは付着によるのかについての分析はない。さて、橋本転座といわれる染色体、 $T(Y:3)Ze$ の作製過程において、第3染色体に座乗する遺伝子 Ze を含む部分が Y 染色体の切断部位に転座したが、Y 染色体の切断部分 (~) は第3染色体の切断部位に相互に転座し、その結果、第3染色体の一本は雌性決定に関係した染色体の一部 (~) が挿入した染色体を有するオスでは染色体構成に異常をきたし、致死し易いが、一方新たに形成された転座染色体、 $T(Y:3)Ze$ 、を有するメスは健常でしかも、性形質の発現に何等の異常も認められない。はたして、橋本転座系統におけるオスの致死性は上述した機構によるのであろうか？ この橋本転座染色体、 $T(Y:3)Ze$ の形成は Y (性) 染色体と第3染色体との相互転座事象によると結論されている。しかし、当時、可視形質で標識された Y 染色体可視創作されていなかったため、かかる事象についての適切な分析ができなかったが、現在では上述した橋本転座染色体、

T(Y:3)Ze, が創作されているので第5染色体 ($pe^+; re^+$) に座乗する黒 (pe^+) 色卵を指標に X 線を用いて相互転座 $rcpT[t_1(Y:5)pe^+; t_2(5:Y)Ze]$ 系統を容易に作製することができた。この染色体構成から明らかなように Y と第5両染色体上に同時に切断が生じ、それぞれの切断部位は第5と Y 染色体とに相互に転座事象が生じたことは明らかである。ところが、オスにおいては、転座染色体 T(Y:3)Ze にみられたように、かなり高率の致死性がやはり認められる。当然のことながら、メスでは致死性は全く認められず、標識された Y 染色体の雌性決定 (因子) にも何らの異常も生じなかった。オスにおける高い致死性は第5染色体の遺伝子 pe^+ を含むかなり大きな領域の切断による遺伝情報の欠落によって致死性が高くなったのであり、第5染色体への Y 染色体の一部の挿入による染色体機能の異常によるとは考えられない。同様に、橋本転座系統におけるオスの致死性も染色体の欠陥によると説明されうる。いづれにせよ、この相互転座染色体、 $rcpT[t_1(Y:5)pe^+; t_2(5:Y)Ze]$ は典型的な染色体の転座形成機構—切断と再結合—によると考えられた。

(6-b) 染色体断片の保全と分散動原体: 村上昭雄

上述した相互転座染色体の形成過程から理解されるように、転座染色体、T(Y:5) pe^+ 、を作製するには第5染色体の野生型の卵色遺伝子 $pe^+(5-0.0)$ と $re^+(5-31.0)$ と性 (Y) 染色体とを同時に放射線などの人為的手段によって切断し、第5染色体の先端部に座乗する遺伝子 pe^+ を含む染色体断片を Y 染色体の切断部に相互転座させればよいことが理解される。ところで現在までのところ、Y 染色体には雌性決定因子の外には本昆虫の生命活動に必須の遺伝情報が存在しないと考えられている。したがって、転座染色体、T(Y:5) pe^+ 、における Y 染色体の雌性決定因子は不変で、第5染色体の pe^+ 座位を含む切断部分に転座した Y 染色体の断片は生命活動に必須の因子を保有していなかったと推論できる。事実、転座染色体、T(Y:5) pe^+ 、を有するメス個体 (T(Y:5) $pe^+/X:pere/pere$) は第5染色体に座乗する卵色に関して2重劣性の $pe:re$ で標識されているので、赤色卵として容易に識別ができる。ところが、上記の転座染色体の形成・固定過程にはメスでしかも黒い卵色の個体、T(Y:5) $pe^+/X:pere/(re^+)$ (あるいは T(Y:5) $pe^+/X:pere/Df(5)pe^+$)、が頭初検出され、それに再度 $pere$ ホモ雄個体を交配することによって、その次世代には先に記した赤色卵と黒色卵タイプの子がほぼ同数の1:1に分離してくる。その際にオス個体 (X/X:($re^+/pere$ あるいは X/X: $pere/pere$) は全て黄白色卵として検出される。しかし、オスの個体数はメスより幾分少く、X/X:($\sim re^+/pere$) タイプの欠失 (pe^+) 染色体を有する個体は虚弱で、致死率が高いものと推定された。一方、第5染色体の遺伝子 pe^+ 座位を Y 染色体に転座した系統の赤色卵のメス個体は、Y 染色体に第5染色体の先端部が転座しているので、遺伝情報は全く失われることなく、しかも、カイコの染色体が鱗翅目昆虫の特徴として分散動原体型であるので、切断された第5染色体の後半部は、欠落 (消失) することなく、正常に複製され、新たな染色体構成で生命が維持されると結論できる。

なお、第5染色体に相互転座した Y 染色体の切断部分を保有すると推定される黄白卵色の個体は雌性でないことから、Y 染色体の切断部位には雌性決定因子は存在していないことを如実に示し、カイコにおける Y 染色体上の雌性決定因子は当染色体上に極在する

と推論できる。すなわち、第5染色体の先端部が転座したY染色体上には雌性決定因子が無傷で残存しているといえる。当然のことながら、カイコにおいて検出されたいづれの転座Y染色体は雌性決定因子を保有し、他方かかる因子を欠くY染色体を保有した個体は生存しえないこと、そして雌性決定因子を保有したY染色体部分が常染色体へ転座挿入した場合、かかる染色体を有する個体は生理的障害などで致死すると考察された。

(7) ショウジョウバエに於ける母性効果による胚致死作用の遺伝学的解析：山田正明

ショウジョウバエの初期発生に於ける卵細胞質と受精核の相互作用を調べるために、卵形成に関与する遺伝子を検索した。エンハンサートラップ法によるP因子挿入系統から雌不妊性を指標として卵形成に関与する遺伝子のスクリーニングをし、因子に組込まれている β -ガラクトシダーゼ活性を指標として遺伝子発現を調べたが、得られた系統では卵巣内での発現が弱く、殆どの遺伝子は卵殻形成に関与していると考えられた。本年はP因子挿入系統から、 β -ガラクトシダーゼの活性を指標として成虫卵巣内で発現している遺伝子のスクリーニングを行った。その結果、卵巣で活性が検出される42系統が得られた。得られた系統は、卵巣での活性の染色部位の特異性と染色強度により、①卵形成細胞巣と卵細胞質で活性が検出された系統(8)、②哺育細胞と卵細胞質で検出された系統(7)、③卵形成細胞巣と哺育細胞と卵細胞質で活性が検出された系統(14)、④卵形成細胞巣と濾胞細胞で活性が検出された系統(7)、⑤哺育細胞で活性が検出された系統(3)、④卵巣全体とマルピギー氏管で活性が検出された系統(2)の6グループに分けられた。これらの遺伝子は卵巣内での卵形成のいろいろな時期に異なった組織細胞で発現していた。また、この中のいくつかについて、ハエ成虫体での発現を調べたところ、⑥の1系統では前翅の前縁、平均棍基部、足の間接、また④の1系統では前翅の前縁、平均棍基部、口器、触覚基部に活性が検出された。これらの結果は、得られた系統の遺伝子は組織細胞での遺伝子発現に調節的に作用していることを示唆している。しかし、得られた系統は、表現型がほぼ正常であり、その遺伝子の機能を知るためにはP因子の切出しによる表現型突然変異体を分離することが有効な手段になると考えられ、現在P因子切出しによる変異体を検索中である。

(8) 昆虫の「完全変態」機構：湊 清

生物界の中で種類数と恐らく個体数の上からも、昆虫綱の圧倒的な繁栄の理由として、進化の過程での「翅による飛翔」と「完全変態」の二つの機構の獲得がある。未だ充分に解明されたとは云い難いこの二つの機構の内、後者の「完全変態機構」すなわち無変態あるいは不完全変態類昆虫に比べて、外部形態上比較的単純な「幼虫」と呼ばれる特徴的な時期と、「成虫」との間に存在する「蛹」という特有な令期の存在に関して、文献上と野外観察から得られた諸資料に基づき、昨年度に引き続き考察を加えた。

完全変態類昆虫の幼生、すなわち、生長期は、不完全変態類のそれが、「若虫(Nymph)」と呼ばれる、機能的な翅と生殖能力を欠くことを別にすれば、比較的親に似た外部形態をとるのに反して、「幼虫」と呼ばれる比較的単純な外部形態をとるのが特徴である。すなわち、「内部に潜在化した翅原基」「複眼の欠如」「比較的未発達な胸部歩行脚」、これらに相まって「比較的柔軟なクチクル構造」等の結果、非常に多様な環境下一特に、地面・木

材・果肉・葉肉・液体等種々な立体的な構造への潜行、鱗翅目・膜翅目と甲虫目の一部に見られる匍匐や腹脚や腹節末端の吸盤等により、複雑で動き易い構造を持つ草本や木本上での容易な移動や固着、また、膜翅目と双翅目の一部に見られる寄生や親による保育等々に明瞭に見られる一での生活を可能にさせ、その結果極めて多くの種類数が生まれることになったと思われる。一般に、これら幼生の生活型は、成虫のそれとは異なるので、これら昆虫群の繁栄の理由に、これらの幼生型が、「餌および生活場所の面で親と競合しない有利さ」を上げる説もあるが、孵化した幼生の内、親にまでなる個体数は、食物連鎖のより上位にいる種による捕食の結果、普通数パーセントを越えないと考えられるので、餌・生活場所の面での親・幼生間の競合はそんなに大きいものではなく、したがって、この面での寄与はそれほど評価出来ないのではと思われる。むしろ、これら幼生型の結果可能となった新しい生活圏の獲得という積極面の方が大きく評価されるべきだろうと思われる。

これら比較的単純な幼生型の出現を、Berlese and Imms (1913) は、より未熟な胚期—原脚期・多脚期・少脚期—での孵化（幼形成熟=ネオテニー）の結果で、また、この場合に成虫になる前に経る「蛹」という特有な令期を、不完全変態類昆虫の成長過程で見られる何令かの「若虫」期が、一つの令に凝縮されたものとして説明している。特に、上述した、鱗翅目と、膜翅目の一部に見られる腹脚を持った幼虫の場合等は、胚期の腹部体節に原基状の腹脚が一時的に現れる時期—多脚期—に早熟的に孵化したものと考えると、うまく説明出来るように思えるが、調査の結果、胚発生におけるこの時期は全胚期の30%前後を経過した段階に当たる場合が多く、この時期には、まだ筋肉・神経・気管・内臓等の組織の分化がほとんど進んでいない。したがって、これらの場合に早熟的に孵化した幼生がその後成虫まで生き残れる確率は非常に低いと思われる。加えるに、この場合、成虫化の前に「蛹」という複雑な過程を経なければならないことになり、さらに、考え難いことになるとと思われる。したがって、完全変態類昆虫における比較的単純で、外形上未熟に見える幼生型は、胚発生段階での早熟的な孵化の結果ではなく、むしろ、本来なら胚発生の後期に見られる、上述の、複眼・翅・より発達した歩行脚等の諸形質を、積極的に「原基」の形で潜在化あるいは内在化—進化の過程で徐々に一させて来た結果生まれて来たのではないかと思われる。当然、それら幼生型が、地球進化の過程で生まれて来る新しい環境により上手に適応出来たからであろう。もちろん、その際に、胚発生のより未熟な段階に現れる—原脚・多脚・少脚等の胚型を、一時的な現象に止まらせずに残しておく、というようなやり方でうまく利用し、結果として、外部形態の上だけでは、幼形成熟（ネオテニー）の場合と同じ表現型になったということは、十分に考えられることである。

したがって、完全変態類昆虫の幼生型が出来る上で、上述のような諸形質を潜在化させる—翅の形成だけをとれば、不完全変態類の「外翅型」を、完全変態類の「内翅型」に変える—ような機構とはどのようなもので、それらは、遺伝子の上にとどのように反映しているかを知ることが重要であると思われ、現在、そのような方向でさらに調査と考察を進めている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ohta T., Kobayashi M. and Hirose S.: Cloning of a cDNA for DNA supercoiling factor reveals a distinctive Ca^{2+} -binding protein. *J. Biol. Chem.*, **270**, 15571-15575, 1995.
2. Li F.-Q., Takemaru K., Goto M., Ueda H., Handa H. and Hirose S.: Molecular cloning of MBF2 reveals its contact with TFIIA that leads to transcriptional activation. *Mol. Cell. Biol.*, in press.
3. Sano Y., Eiguchi M., Hirano H.-Y. and Yamada M.-A.: A nuclear gene modifying instability of fertility restoration in cytoplasmic sterile rice. *Genet. Res.*, in press.
4. Fuse N., Hirose S. and Hayashi S.: Determination of wing cell fate by the *escargot* and *snail* genes in *Drosophila*. *Development*, in press.

(2) その他

1. 広瀬 進: クロマチンを介した転写制御. *実験医学*, **13**(11), 109-113, 1995.
2. 広瀬 進: ステロイド/サイロイドホルモン受容体スーパーファミリー. *生体の科学*, **46**(5), 578-580, 1995.
3. 広瀬 進: 国立遺伝学研究所. *蛋白質・核酸・酵素*, **40**(13), 1963-1966, 1995.
4. 村上昭雄: 「抗変異原・抗発がん物質とその検索法 (黒田行昭編)」第9章 昆虫による検出法 (カイコを用いる方法). pp. 259-277, 講談社サイエンティフィック, 東京, 1995.

(3) 発表講演

1. Kageyama Y., Hirose S. and Ueda H.: Promoter of FTZ-F1 gene and identification of its trans-acting factors. 36th Annual *Drosophila* Research Conference, Atlanta, April.
2. Ueda H., Murata T., Lavorgna G., Wu C. and Hirose S.: Role of temporally restricted expression of FTZ-F1 in the process of ecdysis and metamorphosis in *Drosophila melanogaster*. 36th Annual *Drosophila* Research Conference, Atlanta, April.
3. Fuse N., Hirose S. and Hayashi S.: Function of *escargot* and *snail* during *Drosophila* imaginal disc development. 36th Annual *Drosophila* Research Conference, Atlanta, April.
4. Hirose S., Li F.-Q., Takemaru K. and Ueda H.: Transcriptional activation of the *Drosophila fushi tarazu* gene by FTZ-F1. International Symposium on "Gene Regulation in Higher Eukaryotes", Yamanakako, June.

5. 岡田聖裕, 上田 均, 広瀬 進: GAGA 因子による活性クロマチンの形成. 第 12 回染色体ワークショップ, 新潟, 2 月.
6. 広瀬 進, 岡田聖裕, 李 豊倩, 竹丸憲一, 上田 均: クロマチン構造による *fushi tarazu* 遺伝子の転写制御. 第 68 回日本生化学会大会シンポジウム「核構造・クロマチンの分子細胞生物学」, 仙台, 9 月.
7. 上田 均, 竹丸憲一, 李 豊倩, 広瀬 進: FTZ-F1 による転写活性化に必要なメディエーター. 第 18 回日本分子生物学会年会シンポジウム「真核生物の特異的機能発現を支配する転写調節の分子機構」, 名古屋, 12 月.
8. 竹丸憲一, 李 豊倩, 上田 均, 広瀬 進: 転写メディエーター MBF1 のクローニングと機能解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
9. 岡田聖裕, 広瀬 進: GAGA 因子による *fushi tarazu* 遺伝子の転写活性化. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
10. 影山裕二, 広瀬 進, 上田 均: ショウジョウバエ FTZ-F1 遺伝子の転写制御因子の同定. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
11. 八木克将, 広瀬 進, 林 茂生: ショウジョウバエ *escargot* 遺伝子の *cis*-制御領域. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
12. 小林正友, 広瀬進: 超らせん化因子の活性に必須な EF バンドと C 末端 HDEF. 第 18 回日本分子生物学会年会, 12 月.
13. 西村亜津子, 赤坂甲治, 広瀬 進, 光永敬子, 嶋田 拓. 第 18 回日本分子生物学会年会, 12 月.
14. 村上昭雄: 自然環境下における遺伝子の形質発現. 日本学術会議遺伝資源研究連絡会シンポジウム「自然生態系を生かした遺伝資源の保存」, 三島, 9 月.

C-c. 生理遺伝研究部門

(1) ヒドラのペプチド性シグナル分子の単離, 構造決定及び化学合成: 宗岡洋二郎

発生遺伝研究部門との協同研究として, ヒドラのペプチド性シグナル分子の研究を実施した. ペプチド性シグナル分子は動物組織に広く分布し, 重要な生体機能を担っている. 動物の発生過程においてもペプチド性シグナル分子が重要な役割を果たすと考えられているが, その構造が決定された例は少ない. 本研究ではヒドラの発生制御に関与するペプチド性シグナル分子, 特に形態形成因子の分離を目的として, 新たな方法を開発し, 大規模なスクリーニングを行っている (発生遺伝研究部門の項参照).

(1-a) ペプチド単離 ヒドラ (*Hydra magnipapillata*) から 2 つの異なった方法でペプチドを抽出した. 最初は 150 g のヒドラから熱酢酸法で抽出したが, 若干の問題があったので, 2 回目は 500 g のヒドラから冷アセトン法を用いて抽出を行った. 各抽出物は逆相クロマトグラフィーで 15 画分に分け, 前者からは第 8 画分, 後者からは第 8 及び 9 画分を選び, 数段階の逆相及びイオン交換 HPLC を経てペプチドを単離した. この間, 活性検定は, 一切行わない. 現在まで, 合計 286 個のペプチドを単離した. 限られた画分からの

単離であることを考えると、ヒドラには 1000 種以上のペプチドが存在すると予想される。ペプチドは単離して初めて、遺伝子発現に影響を与えるか否かの活性検定に供した。

(1-b) 構造決定 活性を示した全てのペプチドと、活性検定を経ないペプチドの一部につき、自動アミノ酸シーケンサーあるいはマスマスペクトロメーターを用い、アミノ酸配列を決定した。現在まで 193 個のペプチドについてアミノ酸配列分析を行い、112 個の配列決定をした。残りの 81 個 (42%) は N-末端がブロックされているか、あるいは非ペプチド性の物質であると考えられる。興味あると考えられたペプチドについてはアミノ酸配列に基づいて化学合成を行い、HPLC における動態が単離ペプチドと一致するものを最終的な構造とした。

(1-c) 化学合成 構造決定された 19 個のペプチドについて大量の化学合成を行い、生物検定に供した。これらの中には Metamorphosin-A (Leitz, 1994) と同様に C-末端に GLWamide をもつ 6 種のペプチド (アミノ酸数 7 又は 8 個) からなるファミリー及び、これまで全く知られていない、C-末端に PW を持つ 4 種のペプチド (アミノ酸数 5-8 個) からなるファミリーが含まれる。

(2) FISH による哺乳類ゲノムの解析: 奥村克純

FISH 法によるヒト・マウスの種々の cDNA や genomic clone の遺伝子マッピング, YAC のキメラの判定, Transgene や遺伝子の増幅ユニットの検出, 増幅様式の検討をはじめ, クロマチンファイバーや伸展染色体を利用した FISH により, 種々の解像度での genomic clone のオーダリング, オリエンテーション, ゲノム構造の確認等を行った。これらの結果については, 文献 1, 2, 6, 7, 10, および発表講演 10, 12, 13, 14, 15, 18 に発表した。

一方で, FISH 法による DNA 複製タイミングの解析法を利用して, ヒト MHC 領域の約 2 Mb にわたる領域の複製タイミングを調べ, HL60 細胞において, クラス II とクラス III の間に検討したゲノム上で, 最も複製の遅い領域が存在すること, 複製タイミングの変化がゲノム組成の GC 含量の変化とよく一致することを見出した。これらの結果は, この領域は少なくとも 2 つ以上のレプリコンクラスターからなること, ゲノムの複製が, GC モザイク構造をマイクロなレベルでも反映することを示唆している。これらの結果は, その他の 1, 発表講演 2, 15 で発表すると共に, 論文作成中である。

さらに, ゲノム上で統括して機能的制御を受ける領域を検出し, これらの領域を他に優先して解析すべきゲノム領域として提示することを試みた。すなわち, genomic imprinting を受ける遺伝子を含む領域や, 選択的に発現調節を受ける遺伝子群を含むゲノム領域の細胞周期における複製タイミングは, 両アレル間 (父由来, 母由来) で異なっており, その領域は数 Mb におよぶ。高橋らの開発したダイレクト R バンド法は, 基本的にゲノム領域の複製タイミングによってバンドがつくので, 上述のような広領域の DNA 複製タイミングの変化は, バンドレベルの変化として検出され得る可能性がある。ダイレクト R バンド法を伸展染色体について試み, FISH によってマップ位置を確認したところ, インプリント遺伝子が存在する Mb 以上の複製タイミングの調節を受ける領域では, バンドレベ

ルの変化が見られた。未知領域でもいくつかの候補があげられ、本法が、統括して機能的制御を受ける領域(複製タイミング制御ドメイン)の検出法となり得る可能性を示唆した。また、立体的に固定した細胞核内における染色体の配置を、ヒト12番染色体全体に分散する16個のコスミドクローンをを用いてFISH法により検討したところ、G1期の核内で12番染色体は特定の配置をとっており、S期における複製タイミングと関係していた。つまり、ヒト12番染色体はダイレクトRバンド法でバンドの大まかな強弱に基づいて、大きく5つの領域に分けられるが、複製タイミングの早い領域は核の内部に存在し、複製タイミングの遅い領域は核膜付近に存在していた。他の染色体について、YACクローンをを用いて解析する予定である。以上の結果は、発表講演7, 17, 19, 22, 23, 24で発表した。

その他、NADの生合成と代謝に関する研究として、発表論文3, 4, 5, 9および発表講演5, 8, 20, 21を発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Okumura K., Nogami M., Taguchi H., Hisamatsu H. and Tanaka K.: The Genes for the α -Type HC3 (PSMA2) and β -Type HC5 (PSMB1) Subunits of Human Proteasomes Map to Chromosomes 6q27 and 7p12-p13 by Fluorescence *in Situ* Hybridization. *Genomics*, **27**, 377-379, 1995.
2. Shiratori A., Okumura K., Nogami M., Taguchi H., Inoue T., Ando T., Izumi M., Miyazawa H., Hanaoka F., Murakami Y. and Eki T.: Assignment of the 49-kDa (RPIM1) and 58-kDa (PRIM2A and PRIM2B) Subunit Genes of the Human DNA Primase to Chromosome Bands 1q44 and 6p11.1-p12. *Genomics*, **28**, 350-353, 1995.
3. Nishitani H., Yamada Y., Ohshima N., Okumura K. and Taguchi H.: Identification of N-(beta-D-glucopyranosyl)nicotinic Acid as a Major Metabolite from Niacin in Cultured Tobacco Cells. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**(7), 1336-1338, 1995.
4. Nishitani H., Kikuchi S., Okumura K. and Taguchi H.: Finding of a Homarine-Synthesizing Enzyme in Turban Shell and Some Properties of the Enzyme. *Arch. Biochem. Biophys.*, **322**(2), 327-332, 1995.
5. Nishitani H., Morimura N., Hamano Y., Okumura K. and Taguchi H.: Homarine Promotes the Growth of Duckweed and Radish Seedlings. *Bull. Fac. Biores. Mie Univ.*, **15**, 27-31, 1995.
6. Kusaba H., Kohno K., Asakuno K., Kuwano M., Okumura K., Green E. D., Schlessinger D. and Wada M.: Functional Expression of Yeast Artificial Chromosome (YAC)-Human Multidrug Resistance Genes in Mouse Cells. *Genome Research*, **5**, 245-258, 1995.

7. Torigoe K., Sato S., Kohno K., Kuwano M., Okumura K., Green E. D., Tsui L.-C., Scherer S. W., Schlessinger D. and Wada M.: A YAC-based contig of 1.5 Mb spanning the human multidrug resistance gene region and delineating the amplification unit in two human multidrug resistant cell lines. *Genome Research*, **5**, 233-244, 1995.
8. Fukagawa T., Nakamura Y., Okumura K., Nogami M., Ando A., Inoko H., Saitou N. and Ikemura T.: Human Pseudoautosomal Boundary-Like Sequences (PABLs): Expression and a Model of Formation of Present-day Pseudoautosomal Boundary of Sex Chromosomes. *Hum. Mol. Genet.*, **5**, 23-32, 1996.
9. Nishitani H., Nishitsuji K., Okumura K. and Taguchi H.: Proton Pump Activation and Growth Promotion by Cinchomeric Acid in Radish. *Phytochemistry*, in press.
10. Mizuki N., Kimura M., Ohno S., Miyata S., Sato M., Ando H., Ishihara M., Goto K., Ono A., Taguchi S., Yamazaki M., Okumura K., Nogami M., Taguchi H., Ando H. and Inoko H.: Isolation of cDNA and Genomic Clones for a Human Ras-related GTP-Binding Protein and Its Chromosomal Localization to the Long Arm of Chromosome 7, 7q36. *Genomics*, in press.

(2) その他

1. 奥村克純: FISH による DNA 複製タイミングの解析とゲノム・インプリンティング. *組織培養*, **21**(4), 131-134, 1995.

(3) 発表講演

1. 藤沢敏孝, 杉山 勉, 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無標的大規模スクリーニング, 日本発生生物学会大28回大会, 名古屋, 5月.
2. 藤沢敏孝, 杉山 勉, 服田昌之, 清水 裕, 宗岡洋二郎, 高橋俊雄: ヒドラのペプチド性シグナル分子の無標的大規模スクリーニング, 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
3. Takahashi T., Muneoka Y., Fujisawa T., Shimizu H., Hatta M., Sugiyama T., Koizumi O., Bosch T., deHaro M., Lohmann J., David C. and Bode H.: Hydra peptide project I. Isolation structure determination and chemical synthesis. 6th International workshops on hydroid development. Tuzing, Germany, September.
4. Bosch T., Solleder G., deHaro M., Lohmann J., David C., Fujisawa T., Shimizu H., Hatta M., Sugiyama T., Takahashi T., Muneoka Y., Koizumi O. and Bode H.: Hydra peptide project II. Differential display assay for signal peptide activity.

6th International workshops on hydroid development. Tuzing, Germany, September.

5. 田口 寛, 大島信子, 山田義浩, 奥村克純, 柴田克己, 西谷 弘: ニコチン酸-N-グルコシド: タバコ培養細胞におけるナイアシンの主要代謝産物としての同定及びラットにおける代謝について. 日本ビタミン学会第47回大会, 仙台市, 5月.
6. 野上正弘, 菱田浩司, 安藤麻子, 猪子英俊, 深川竜郎, 池村淑道, 奥村克純, 田口 寛: FISH法によるヒトMHC領域のDNA複製タイミングの解析. 日本農芸化学会1995年度大会, 札幌市, 8月.
7. 箆谷和弘, 野上正弘, 菱田浩司, 猪子英俊, 深川竜郎, 池村淑道, 奥村克純, 田口 寛: FISH法によるインプリント遺伝子の複製タイミングの解析. 日本農芸化学会1995年度大会, 札幌市, 8月.
8. 西谷 弘, 大島信子, 山田義浩, 奥村克純, 柴田克己, 田口 寛: ラットにおけるニコチン酸-N-グルコシドの代謝について. 日本農芸化学会1995年度大会, 札幌市, 8月.
9. 野畑靖浩, 服部亜由美, 粟澤ゆう子, 奥村克純, 田口 寛: 微生物ポリマーによる変異原物質の吸着. 日本農芸化学会1995年度大会, 札幌市, 8月.
10. 草場仁志, 和田守正, 久保 毅, 鳥越清之, 奥村克純, 河野公俊, 桑野信彦: ヒト多剤耐性領域ゲノムDNAの導入マウス細胞における選択的遺伝子増幅の機序. 第68回日本生化学会大会, 仙台市, 9月.
11. 村田圭一郎, 右京政補, 奥村克純, 田口 寛: ニコチン酸結合タンパク質およびニコチンアミド結合タンパク質のコーヒー植物体における検出. 日本農芸化学会関西支部・中部支部合同大会, 鳥取市, 10月.
12. 奥村克純, 香田 淳, 野上正弘, 石田良司, 安藤俊夫, 池村淑道, 田口 寛: ヒト培養細胞からの伸展染色体の作製とFISH法によるゲノム構造の解析. 日本農芸化学会関西支部・中部支部合同大会, 鳥取市, 10月.
13. 白鳥亜希子, 奥村克純, 野上正弘, 田口 寛, 井上 正, 安藤忠彦, 柴田武彦, J. Hurwitz J., 泉 雅子, 宮沢 宏, 花岡文雄, 小沢和夫, 村上康文, 浴 俊彦: ヒト複製遺伝子の染色体マッピング. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12月.
14. 秦 眞美, 杉戸一博, 瀬戸加大, 奥村克純, 大塚健三: ヒトhsp40遺伝子の構造と発現. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12月.
15. Kikuti Y. Y., Maruyama C., Kawata H., Ando A., Mizuki N., Abe K., Ikemura T., Okumura K., Tsuji K., Kimura M. and Inoko H.: Analysis of 200 kb in the human MHC classII region and the sequence of 40 kb which include HKE4, HKE6 and RING 1 genes (part II). 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12月.
16. 中村保一, 山形哲司, 深川竜郎, 安藤麻子, 木村 穰, 猪子英俊, 奥村克純, 藤山秋佐夫, 池村淑道: ヒトゲノムに存在する巨大GC含量ドメイン境界に関する構造

解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12 月.

17. 野上正弘, 野上織江, 池村淑道, 奥村克純, 田口 寛: FISH によるヒト特定染色体 DNA の核内配置の解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12 月.
18. 藤原義博, 三輪雅美, 野上正弘, 奥村克純, 鈴木高成, 上田正次: トランスジェニック家畜による有用タンパク質の生産 1. ヒト乳蛋白質遺伝子 Yac クローンの解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋市, 12 月.

D. 集団遺伝研究系

D-a. 集団遺伝研究部門

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

人事面では, 助教授田嶋文生が 4 月 1 日付けで東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻教授として転出した. 本部門としては大きな損失であるが, 教育の大切さを考えるとやむをえない. John Wakeley は 1 年間の日本学術振興会特別研究員としての滞在を終え, Rutgers University のポストドクトラルとして研究するため 9 月 1 日帰国した. 10 月にはコーネル大学の W. B. Provine 教授とエモリー大学の T. Steen 研究員が本部門を訪れ共同研究を行なった.

教授・太田(原田)朋子は, 引き続き DNA 塩基配列の比較により理論モデルの検証を行なった. 哺乳類の遺伝子解析によりアミノ酸置換の多くが弱有害すなわちほぼ中立であることを検証した. また組織適合抗原の多様性起源に遺伝子変換が重要であると示唆する結果を得た. ほぼ中立理論については第 3 回分子生物学・進化学会国際大会のシンポジウムで発表した. 更に伊奈康夫と共同で, 同義置換と非同義置換の相関に関する解析も行なった.

助手・高野敏行は, ショウジョウバエを用いた種間雑種の発生・形態異常の遺伝学的解析を行なった. その結果は, 第 3 回分子生物学・進化学会国際大会, 日米二国間分子進化学ワークショップおよび日本遺伝学会第 67 回大会において発表した. また, ショウジョウバエの剛毛形成に関わる遺伝子群の分子進化学的解析を始めた.

助手・伊奈康夫は, 塩基置換の過程と遺伝子系図学の研究を行なった. 塩基置換の過程の研究については, 解析的手法とコンピュータシミュレーションを用いて, 同義置換数と非同義置換数の相関と同義置換数のバラツキに関する研究を行ない, その成果を第 3 回分子生物学・進化学会国際大会と日米二国間分子進化学ワークショップで発表した. 遺伝子系図学の研究については, 東京大学大学院理学系研究科の田嶋文生, 三沢計治と, DNA 多型の維持機構に関する共同研究を 11 月より行なった.

(1) 哺乳類の遺伝子における同義および非同義置換とほぼ中立説: 太田朋子 分子進化のほぼ中立説によれば, 非同義置換の多くは微弱有害効果をもつため, 集団の大きさと進

化速度の間に負の相関が期待される。これに対し同義置換では完全に中立なものが多くこの相関は期待されない。この予測を哺乳類の49の遺伝子配列を用いて調べたところ、同義置換に対する非同義置換の割合が、ネズミの類でヒトの類より低いことがわかり上の予測を検証できた。またほぼ中立説では進化速度にゆらぎが生ずることが予測される。哺乳類の遺伝子では、ポアソン過程で予想される分散を上まわる分散が推定でき、この点でもほぼ中立説を検証できた。進化速度のゆらぎは蛋白質の高次構造を反映していると考えられる。詳細は文献1に発表した。

(2) 組織適合抗原遺伝子の抗原認識部位多様性に関わる点突然変異と遺伝子変換：太田朋子 組織適合抗原遺伝子の多様性に点突然変異と遺伝子変換がどれ程大切かを明らかにするため、哺乳類遺伝子の解析を行なった。同義置換と非同義置換を、抗原認識部位とその他の領域に分けて別々に推定した。いろいろな場合のあることがわかった。すなわち、抗原認識部位で非同義置換が同義置換を上まわる場合、および両置換にあまり違いはないが同義置換が抗原認識部位でその他の領域より高まっている場合とがある。前者ではアミノ酸に変化をもたらす点突然変異が淘汰によりひろまり、後者では他の遺伝子座からの小領域遺伝子変換が淘汰によりふえたと解釈できる。したがって組織適合抗原の多様性には点突然変異、遺伝子変換、自然淘汰などすべてが関与している。詳細は文献3に発表した。

(3) ショウジョウバエ種間雑種の形態・発生異常の遺伝学的解析：高野敏行 種間雑種の解析は、致死・不妊あるいは形態異常などの表現型として容易に種間の遺伝的変異の存在を明らかにできる有効な手段である。種間雑種における発生・形態異常の原因遺伝子を単離しその種間変異の分子構造と機能を解明することを目的として以下の解析を行なった。キイロショウジョウバエとその近縁3種とのF1雑種の胸部背板剛毛数を解析し、キイロショウジョウバエとオナジショウジョウバエの雑種で特異的に胸部の剛毛が失われることを明らかにした。また、欠失染色体を用いたスクリーニングによって剛毛の消失に関与することを示唆する2つの領域を見出した。

(4) 同義および非同義置換数の推定：伊奈康夫 同義および非同義置換数を推定する方法を新たに開発し、Nei-Gojobori (NG) 法、Miyata-Yasunaga (MY) 法、Li-Wu-Luo (LWL) 法、Pamilo-Bianchi-Li (PBL) 法も含めてコンピュータシミュレーションにより精度を評価した。その結果、(1)トランジション/トランスバージョンのバイアスが強い場合には、NG法、MY法、LWL法は、同義置換数を過大評価し、非同義置換数を過小評価する、(2)新しい方法とPBL法は、塩基組成値の偏りが強くなければ、同義置換数、非同義置換数とも正しく推定する、ことが明らかになった。詳細は、文献2に発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ohta T.: Synonymous and nonsynonymous substitutions in mammalian genes and the nearly neutral theory. *J. Mol. Evol.*, **40**, 56-63, 1995.
2. Ina Y.: New methods for estimating the numbers of synonymous and non-

synonymous substitutions. *J. Mol. Evol.*, **40**, 190-226, 1995.

3. Ohta T.: Gene conversion vs point mutation in generating variability at the antigen recognition site of major histocompatibility complex loci. *J. Mol. Evol.*, **41**, 115-119, 1995.
4. Ohta T.: Evolution of gene families: A clue to some problems of Neo-Darwinism. In "Lecture Notes in Biomathematics" (S. A. Levin ed.), Vol. 100, pp. 174-185, *Frontiers in Mathematical Biology*, 1994.
5. Ohta T.: Molecular Evolution. In "Encyclopedia of Environmental Biology 2" (W. A. Nirenberg ed.), pp. 545-550, *Academic Press*, 1995.

(2) その他

なし

(3) 発表講演

1. 太田朋子: 遺伝子進化の機構. 日本植物病理学会創立 80 周年記念特別講演, 東京, 3 月.
2. Ohta T.: What do the patterns of synonymous and nonsynonymous substitutions tell us about selection? The International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Hayama, August.
3. Takano T.: Genetic study on species difference seen as loss of bristles in interspecific hybrids of *Drosophila*. The International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Hayama, August.
4. Takano T.: Genetic study of species differences as observed as loss of bristles in interspecific hybrids of *Drosophila*. The US-Japan Binational Workshop on Molecular Evolution, Hayama, August.
5. 高野敏行: ショウジョウバエ種間雑種の形態・発生異常の遺伝学的解析. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 10 月.
6. Ina Y.: Correlation between synonymous and nonsynonymous substitutions. The International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Hayama, August.
7. Ina Y.: Correlation between synonymous and nonsynonymous substitutions and variation in synonymous substitution numbers. The US-Japan Binational Workshop on Molecular Evolution, Hayama, August.
8. 伊奈康夫: 同義置換数と非同義置換数の相関. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 10 月.

D-b. 進化遺伝研究部門

本研究部門では、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、これに総研大の大学院生・菅谷公彦（3月に理学博士号を授与され、放射線医学総合研究所の研究員となる）、深川竜郎（9月に、2年6カ月の短縮期間で理学博士号を授与され、英国Oxford大学に博士研究員として留学）、中村保一、浜田玲、山形哲司、太田聡史（10月入学）、および日本学術振興会特別研究員(PD)の渡辺裕二（9月からフランスの分子細胞発生学研究所へ留学）が加わっている。宮内洋子、北きよみ、大野みずき、川本たつ子、市川恵子、杉村絵里が研究の補助業務を行ない、畠山靖子、鈴木和子、植田恭子は生命情報センター・分析研究室との共同研究に関する実験補助を行った。

助手・松本は文部省科学研究費補助金（国際学術研究：代表者池村）を受け、5月28日から6月11日まで、スイス国フリードリッヒ・ミーシャ研究所において、「細胞外マトリックス蛋白質テネインファミリーの遺伝子破壊による機能破壊」に関する国際共同研究をおこなった。教授・池村は同補助金により、フリードリッヒ・ミーシャ研究所における同研究の打ち合わせ及びギリシャで開催されたFEBSが主催するLecture Courseにおける講演のため、9月14日から9月22日まで、スイス及びギリシャへ渡航した。助教授・斎藤は、2月26日から3月6日まで、米国のナショナルゲノム資源研究所と国立バイオテクノロジー情報センターにおいて、文部省科学研究費補助金（国際学術研究：代表者五條堀 孝）を受けてDNAデータベースに関する調査研究を行なった。また4月2日から4月11日まで英国に滞在し、ケンブリッジ大学で行なわれた国際シンポジウム「分子生物学と人類の進化」で発表したのち、欧州生命情報学研究所で開催された国際DNAデータベース諮問委員会と実務者会議に出席した。4月20日に米国の国立バイオテクノロジー情報センターにおいて開催された生物分類学ワークショップに出席した。9月17日から9月28日まで、文部省科学研究費補助金（国際学術研究：代表者五條堀 孝）を受けて欧州各国の生命情報データベースの利用についての調査研究を行なった。

本年度の研究は、文部省科学研究費補助金一般研究B「温血脊椎動物染色体バンド境界部位の構造と機能について」、重点領域研究(2)「核の機能構造：高等動物の染色体バンド境界領域の核内配置とその動態」（以上代表者池村）、創成的基礎研究費「ヒトゲノム解析」（代表者松原謙一；分担者池村）、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）、科学研究費補助金一般研究C「細胞外マトリックス蛋白質テネインファミリーの総合的解析」（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）、試験研究B「遺伝子系統樹・種系統樹データベースの

開発], 一般研究 B「血液型関連遺伝子の集団遺伝学的解析」, 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」(以上代表者斎藤), 特別研究員奨励費「霊長類における Rh 血液型抗原遺伝子の分子進化」(代表者渡辺) 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, 岡田典弘・東京工業大学生命理工学部教授を代表に「染色体バンド構造と遺伝子塩基配列・反復配列との関係の解析」に関して, 巽 絃一・放射線医学総合研究所部長を代表に「ヒストン H1 サブタイプならびに非ヒストン核内蛋白質の DNA 構造特異的結合の解析」に関して, 酒井尚雄自治医科大学助手を代表に「癌細胞の増殖・浸潤過程での細胞外マトリックス糖蛋白テネイシン C・テネイシン X クロストーク機構の解明」に関して, 植田信太郎・東京大学大学院理学系研究科助教授を代表に「種の分化と遺伝子の分化に関する数理的解析」に関して, 國藤 進・北陸先端科学技術大学院大学情報科学科教授を代表に「塩基配列・アミノ酸配列の多重整列プログラムの開発」に関して, 実験的ならびに理論的研究を行なった。

助教授・斎藤は, 4 月から国際日本文化研究センターの客員部門に併任となった。また, 「系統樹作成法の開発を中心とする分子進化学の研究」により, 1995 年度日本遺伝学会奨励賞を受賞した。

(1) ヒトゲノムを構成する Mb レベルでの GC 含量の区分的構造の解析; MHC 領域の GC 含量区分境界の構造解析: 深川竜郎, 中村保一, 山形哲司, 宮内洋子, 池村淑道

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 含量ドメイン境界の構造解析を行なっている。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 の境界に同定し, その部位に大規模 Alu クラスタと LINE-1 クラスタ並びに性染色体の偽常染色体部位境界配列 (pseudoautosomal boundary; PAB) と相同性の高い PABL 配列を見い出した。MHC 領域の PABL をプローブにして, 既に約 200 個の独立なヒト PABL を持つコスミドクローンを得ている。PABL 配列から転写が起きていることが, cDNA のクローン化により明かになり, 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も判明した。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。これらの結果の主要部分は, Fukagawa *et al.* (Human Mol. Genet., 1996) に発表している。この論文で

は、ヒト Y 染色体の PAR の形成進化過程についてのモデルをも提唱している。MHC 領域のクラス II と非 MHC 領域の境界部位も GC 含量の区分境界である可能性が明らかになってきた。バント境界の一般的性質を明らかにして、バント境界が多様な遺伝プログラムの制御シグナル群より構成されているとの可能性を検証しようとしている。

(2) ヒト MHC 領域の DNA 複製タイミングの解析: 天前豊明, 浜田 玲, 藤山秋佐夫¹, 奥村克純², 池村淑道 (¹人類遺伝研究部門, ²生理遺伝研究部門)

ヒトを含む高等温血脊椎動物の染色体複製は、大別して S 期前半 (S_E) と後半 (S_L) の 2 期に区分される。染色体構造で見た場合、G バンドは S_L に、R バンドは S_E に複製される。DNA 複製タイミングはバンド境界で転換すると考えられるが、実際にどのようなシグナルがそこに存在するのかわかり残されている。バンド境界は DNA 複製制御機構から見た場合にも興味深い。R バンドで開始した DNA 複製は、隣の G バンドとの境界で休止しており、G バンドの複製フォークの到着を待つと考えられる。このことは、染色体上にはバンド境界とほぼ同数の複製終結部位が存在していることを意味する。大腸菌や酵母では ter や sog と呼ばれる複製終結部位の塩基配列が同定されているが、高等温血脊椎動物では、まだ同定されていない。以上の点をふまえ、ヒト MHC 領域のバンド境界、特にクラス II と III の境界に存在する GC 含量変移点 (バンド境界) 近傍の複製タイミングを塩基配列レベルで詳細に決定した。同調した培養細胞 HL60 が合成する新生鎖を、S 期開始後、1 時間ごとに回収、精製し、クラス II と III に存在する約 10 箇所における新生鎖のモル数を定量的 PCR 法で測定し、複製タイミングを解析した。その結果、複製タイミングの転換点が 1 コスミドの範囲内に限定でき、GC 含量変移点と一致した。HLA-DRA 遺伝子から PABL を含むクラス II の領域は S 期開始後、3-4 時間目に複製されるのに対し、AGER から TNX 遺伝子を含むクラス III の領域は 1-2 時間目に複製され、両者の間には 2 時間の複製タイミングの明瞭な差があることが明らかになった。現在、さらに詳細な解析を行っている。また、PABL と相同性の高い PAB (pseudoautosomal boundary) 配列を含む X 染色体の PAR (pseudoautosomal region) 領域の複製タイミングを知る目的で、この領域の連続コスミドクローンを藤山の作成した X 染色体特異的ライブラリーから選択している。

(3) ヒト MHC 領域に存在する新遺伝子の探索と構造解析: 菅谷公彦, 深川竜郎, 宮内洋子, 池村淑道

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。予想通りに、我々のゲノム歩行した GC の高いクラス III 側に 4 種類の遺伝子を見だし報告してきた。AGER 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、糖尿病の発症や進行に関係する可能性が考えられる。PBX2 は homeo-box を持つ遺伝子で転写因子と考えられ、PBX1 と同様に proto-oncogene である可能性を検証する予定である。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。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。GC の低い側は、予想通りに遺伝子密度が低いが、PABL の近傍に hnRNP の構成タンパク質である A1 の遺伝子と相同性の高い配列を見出しており、その構造を解析している。これらの遺伝子探索の研究は、東海大学の猪子グループと共同で研究を進めている。

(4) 遺伝子コドン選択パターンの研究：中村保一，池村淑道

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と併せて、World Wide Web で公開している (<http://tisun4a.lab.nig.ac.jp/codon/CUTG.html>)。現在、97968 遺伝子のコドン使用と、5349 生物種（ウイルスを含む）について、生物種別のコドン集計値を収録している。詳細は、Nucl. Acids Res. (Nakamura *et al.*, 1996) に紹介した。これらのコドンデータベースを基礎に、大腸菌及び酵母の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) を使用するかを、Fop (frequency of optimal codon use) として評価し、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の推定を試みた。これらの研究と並行して、金谷と工藤（山形大）と共同で、多変量解析法により、日本と米国の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行なった。

(5) 細胞外マトリックス・テネイン X の機能解析：松本健一，山本 博¹，北 きよみ，白吉安昭¹，池村淑道，中辻憲夫¹（発生工学研究室）

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なっている過程で、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 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、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。TN-X の機能を明かにする目的で、相同遺伝子組換えを利用したジーン・ターゲティング法により TN-X 欠損マウスの作成を行なっている。TN-X 遺伝子の 5' 領域の約 30 kb の DNA 断片のクローニングを行ない、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。次にエレクトロポレーション法により ES 細胞にターゲティングベクターの導入を行ない、相同組換えを起こした数個の ES 細胞を得た。現在ジャームライン・キメラマウスの作成中である。今後 TN-X 欠損変異に関しホモ欠損マウスが得られしだい形態・組織化学的また生化学的な解析を行なう予定である。

(6) テネイン X の発現制御機構：酒井尚雄¹，古川雄祐¹，池村淑道，松本健一（¹自治医大造血発生）

TN-X は繊維芽細胞などの非上皮細胞のみならず、腎癌由来 RenCa 細胞や神経膠種由

来の 203 glioma などの上皮（癌）由来細胞にも発現が認められる。 *in vitro* 系における TN-X 発現に関わる分子を明らかにするため、既存の TN-C 発現誘導因子である TGF- β , HGF, PDGF, EGF, bFGF を、また抑制因子として知られている glucocorticoid を培養細胞に添加し TN-X 蛋白産生の変化を調べた。 TN-X 発現は血清濃度に依存して発現誘導が見られたが、上記のどの因子に対しても発現誘導は認められなかった。 しかしながら glucocorticoid により強い TN-X の発現抑制が見られた。 次に *in vivo* 系における TN-X の発現制御機構を癌細胞の浸潤時において調べた。 RenCa 細胞などの癌細胞をヌードマウスに移植し癌細胞及び周りの宿主由来の間質における TN-X の発現様式の変化を調べたところ、 TN-X の発現は癌細胞及び周辺の間質において抑制されることが明らかとなり、この抑制機構には *in vitro* 系で明らかとなった glucocorticoid の関与が推測される。

(7) 人類集団の遺伝的近縁図分析：斎藤成也

血液型、血漿タンパク、赤血球酵素 12 遺伝子座の遺伝子頻度データをもとにして、30 人類集団間の近縁図を近隣結合法を用いて作成した。 その結果、アフリカ大陸（厳密にはサハラ砂漠以南）に分布するアフリカ人、ヨーロッパからインドにかけて分布する西ユーラシア人、インド以東のアジア・ポリネシアに分布する東ユーラシア人、かつて陸続きで、サファール大陸とよばれていたオーストラリア・ニューギニアに分布するサファール人、南北アメリカ人が、明瞭なグループとして示された。 これら遺伝的な近縁関係は、1 万年前、すなわち最終氷期が終わって完新世がはじまるころの、地球上の人類の地理的分布を反映していると考えられる。 この時代は、ヨーロッパ人による 15 世紀以降の大航海時代はおろか、ポリネシア人の大航海時代もまだ始まっていないので、太平洋の大部分には人類が進出していない。 そこで、アフリカ人・西ユーラシア人のグループと二分されるグループ（東ユーラシア人、サファール人、南北アメリカ人を含む）に、『環太平洋人』という名称を与えることを提唱した。 また、2 集団間の分岐年代を、遺伝距離からではなく、特定の対立遺伝子の頻度の差から最尤推定で求める新しい方法を提唱した。 詳細は文献 4 を参照されたい。

(8) 最尤法を用いた分子系統樹作成への並列論理プログラムの応用：太田聡史¹、斎藤成也、國藤 進¹（¹北陸先端科学技術大学院大学情報科学科）

分子系統樹を作成する方法には多数あるが、そのなかでも最尤法は正しい系統樹を推定する確率が高いという長所があるが、一方計算時間が膨大であるという短所がある。 そこで、並列コンピュータを用いて計算時間を短縮するプログラムを、論理プログラム言語のひとつである KL1 を用いて開発した。 開発した 2 種類のプログラムは、contour/1 と traverse/3 であり、いずれも塩基配列を仮定している。 前者は特定の 2 個の変数（枝の長さ）を変化させたときの尤度面の変化を視覚的に表示するものであり、後者は任意の本数の配列データから、与えられた樹形におけるすべての枝長の最尤推定値を計算する。 詳細は文献 5 を参照されたい。

(9) ミトコンドリア DNA を用いたウマ属の分子系統学的分析：石田信繁¹、T. オーユンスーレン²、真島 傑¹、向山明孝¹、斎藤成也（¹日本競馬会中央研究所、²モンゴル分子生物

学研究所)

ウマ属4種 (*Equus caballus*, *E. zebra*, *E. asinus*, *E. grevy*) のミトコンドリア DNA の D ループ領域約 300 塩基の配列を決定し、分子系統解析を行なった。その結果、いわゆる野生ウマ (Przewalskii 馬) は明らかに *E. caballus* (ウマ) の変異の中に属することがわかった。したがってウマの染色体数の変化は、従来考えられていた野生ウマの 66 本から 64 本という減少ではなく、64 本から 66 本への増大である可能性が生じた。塩基置換の大部分は転位であり、また置換速度はサイトあたり年あたり $2-4 \times 10^{-8}$ と推定された。詳細は文献 6 を参照されたい。

(10) 弥生時代人類集団の遺伝的近縁図分析: 太田博樹¹, 斎藤成也, 松下孝行², 植田信太郎¹ (¹東京大学理学系研究科生物科学専攻, ²土井ヶ浜人類学ミュージアム)

弥生時代人骨 26 個体 (佐賀県託田西分遺跡より出土) から、ミトコンドリア DNA のなかで特に進化速度の速い D ループの一部を PCR 法で増幅し、その塩基配列を決定した。これら古代人の配列をさまざまな現代人の配列と比較して遺伝子の系図を作成したが、明瞭なクラスターは見いだされなかった。一方、埋葬形式の違いがミトコンドリアの系統と相関があるかどうかを調べたところ、5%水準で有意な相関が見いだされた。これは、血筋によって埋葬様式を変えていたのか、あるいは埋葬様式に時代差があり、それぞれの時代で異なる系統の集団が埋葬されていた可能性がある。詳細は、文献 7 を参照されたい。

研究業績

(1) 原著論文

1. Fukagawa T., Nakamura Y., Okumura K., Ando A., Inoko H., Saitou N. and Ikemura T.: Human pseudoautosomal boundary-like sequences (PABLs): Core and consensus sequence, expression, and involvement in formation of the present day pseudoautosomal boundary of short arm of human sex chromosomes. *Hum. Mol. Genet.*, **5**, 23-32, 1996.
2. Nakamura Y., Wada K., Wada Y., Doi H., Kanaya S., Gojbori T. and Ikemura T.: Codon usage tabulated from international DNA sequence databases. *Nucl. Acids Res.*, **24**, 214-215, 1996.
3. 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.
4. Saitou N.: A genetic affinity analysis of human populations. *Human Evolution*, **10**, 17-33, 1995.
5. Oota S., Saitou N. and Kunifuji S.: Application of a parallel logic programming for reconstruction of molecular phylogenetic trees using the maximum likelihood method. In "ICLP '95 Workshop on Parallel Logic Programming" (Chika-

- wama T., Nakashima H. and Tick E. eds.), pp. 61–72, Department of Electronic Engineering, University of Tokyo, Tokyo, 1995.
6. Ishida N., Oyunsuren T., Mashima S., Mukoyama H. and Saitou N.: Mitochondrial DNA sequences of various species of the genus *Equus* with a special reference to the phylogenetic relationship between Przewalskii's wild horse and domestic horse. *J. Mol. Evol.*, **41**, 180–188, 1995.
 7. Oota H., Saitou N., Matsushita T. and Ueda S.: A genetic study of 2,000-year-old human remains from Japan using mitochondrial DNA sequences. *American Journal of Physical Anthropology*, **98**, 133–145, 1995.
 8. Jin F., Saitou N., Ishida T., Sun C.-S., Pan I.-H., Omoto K. and Horai S.: Genetic polymorphism of ADA in Taiwan ethnic groups. *Anthropological Science*, **103**, 227–234, 1995.
 9. Umetsu K., Yuasa I., Harada A., Suzuki T., Pan I.-H., Ishida T., Saitou N. and Horai S.: Orosomucoid phenotyping with monoclonal antibodies: polymorphic occurrence of ORM1*Q0 in aboriginal Taiwanese populations. *Human Heredity*, **45**, 181–185, 1995.
 10. Kitakami H., Shin-I T., Ikee K., Ugawa Y., Saitou N., Gojobori T. and Tateno Y.: Yamato and Asuka: DNA database management system. *Proceedings of the 28th Annual Hawaii International Conference on System Sciences—1995*, 72–80, 1995.
 11. Saitou N.: Methods for building phylogenetic trees of genes and species. In “Molecular Biology: Current Innovations and Future Trends” (Griffin H. and Griffin A. eds.), pp. 115–135, Horizon Scientific Press, Wymondham, U. K., 1995.
 12. Yanagihara R., Saitou N., Nerurkar V. R., Song K. J., Bastian I., Franchini G. and Gajdusek D. C.: Molecular phylogeny and dissemination of human T-cell lymphotropic virus. *Cellular and Molecular Biology*, **41**, S145–S161, 1995.
- (2) その他
1. 深川竜郎, 中村保一, 池村淑道: GC% の巨大区分構造が語るもの—ゲノム進化の視点から. *実験医学*, **13**, 1365–1370, 1995.
 2. 斎藤成也: 生物進化における突然変異の重要性. *SUT Bulletin*, 5月号, 24–29.
 3. 斎藤成也: 遺伝子から見たモンゴロイド. 赤澤威編, シリーズ「モンゴロイドの地球」第1巻『アフリカからの旅だち』, 119–184. 東京大学出版会, 1995.
 4. 斎藤成也: 人間・遺伝子の全容解明をめざすヒトゲノム計画. *アエラムック『人類学がわかる』*, 77–81. 朝日新聞社, 1995.
 5. 斎藤成也: カヴァーリ＝スフォルツァ博士について. ルーカ&フランチェスコ・カヴァーリ＝スフォルツァ著『わたしは誰, どこから来たの』, 467–472. 三田出版会,

1995.

6. 斎藤成也: DNA から探る現代人集団間の遺伝的近縁関係. 東京大学総合研究資料館編『ネアンデルタールの復活』, 40-43. 東京大学総合研究資料館, 1995.
- (3) 発表講演
1. 安藤麻子, 重成敦子, 菅谷公彦, 成瀬妙子, 河田寿子, 椎名 隆, 深川竜郎, 池村淑道, 猪子英俊: HLA クラス II-III 領域間に位置する *NOTCH3* 遺伝子とその周辺の多型性の解析. 日本分子生物学会第 18 回年会, 名古屋, 12 月.
 2. 深川竜郎, 中村保一, 菅谷公彦, 安藤麻子, 猪子英俊, 奥村克純, 斎藤成也, 池村淑道: ヒトゲノムに存在する巨大 G+C% 区分構造の境界に見出した pseudo-autosomal 領域境界と類似な配列 (PABL) の解析. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 10 月.
 3. Ikemura T., Nakamura Y., Yamagata T., Sugaya K., Okumura K., Ando A., Inoko H., Saitou N. and Fukagawa T.: Long-range G+C% mosaic structures in the human genome, The Third International Meeting of the SBE, Hayama, August.
 4. Ikemura T.: Long-range G+C% mosaic structures in the human genome; Isochore borders. FEBS Lecture Course, Spetsai Greece, September.
 5. Kanaya S., Kudo Y., Nakamura Y. and Ikemura T.: Assessment of Species-specific Diversity of Genes in Codon Usage. Genome Informatics Workshop 1995, Yokohama, December.
 6. Kanaya S., Kudo Y., Nakamura Y. and Ikemura T.: Estimation of Protein-production levels in *Escherichia coli* Genes on the basis of Multivariate Diversity in Codon Usage. Genome Informatics Workshop 1995, Yokohama, December.
 7. Kikuti Y.Y., Maruyama C., Kawata H., Ando A., Mizuki N., Abe K., Ikemura T., Okumura K., Tsuji K., Kimura M. and Inoko H.: Physical analysis of 200 kb in the human MHC class II region and the sequence of 40 kb which include HKE 4, HKE6 and RING 1 genes (part II). 日本分子生物学会第 18 回年会, 名古屋, 12 月.
 8. 松本健一, 山本博士, 白吉安昭, 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. 日本分子生物学会第 18 回年会, 名古屋, 12 月.
 9. Nakamura Y. and Ikemura T.: Fop (frequency of optimal codon usage): WWW service with its distribution analysis. Genome Informatics Workshop 1995, Yokohama, December.
 10. 中村保一, 山形哲司, 深川竜郎, 安藤麻子, 木村 穰, 猪子英俊, 奥村克純, 池村淑道: ヒトゲノムに存在する巨大 GC 含量区分構造ならびにその区分境界に関する

解析. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 10 月.

11. 中村保一, 山形哲司, 深川竜郎, 安藤麻子, 木村 穰, 猪子英俊, 奥村克純, 藤山秋佐夫, 池村淑道: ヒトゲノムに存在する巨大 GC 含量ドメイン境界に関する構造解析. 日本分子生物学会第 18 回年会, 名古屋, 12 月.
12. 野上正弘, 野上織江, 池村淑道, 奥村克純, 田口 寛: FISH によるヒト特定染色体 DNA の核内配置の解析. 日本分子生物学会第 18 回年会, 名古屋, 12 月.
13. 酒井尚雄, 古川雄祐, 池村淑道, 松本健一: 細胞外マトリックス蛋白テネイン X の発現様式及びその制御機構. 日本分子生物学会第 18 回年会, 名古屋, 12 月.
14. 天前豊明, 浜田 玲, 藤山秋佐夫, 池村淑道: ヒト巨大 G+C% 区分構造の境界における DNA 複製タイミングの解析. 日本分子生物学会第 18 回年会, 名古屋, 12 月.
15. 天前豊明, 浜田 玲, 深川竜郎, 藤山秋佐夫, 池村淑道: ヒト巨大 G+C% 区分構造の境界における DNA 複製タイミングの解析. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 10 月.
16. 斎藤成也: 新しい系統樹作成法の開発とその応用. ワークショップ「分子系統進化学の新展開」, 統計数理研究所, 1 月.
17. Saitou N.: Contrasting gene trees and population trees on human evolution. Conference on Molecular Biology and Human Evolution, Cambridge University, April.
18. 斎藤成也: 遺伝子で探る人類進化 500 万年. 横浜, 6 月.
19. 斎藤成也: DDBJ の現状と展望. 日本微生物資源学会, 岐阜, 6 月.
20. 斎藤成也: 分子進化学の現状と展望. 日本植物病理学会感染生理談話会, 静岡県浜名郡, 7 月.
21. Saitou N.: Evolution of the ABO blood group genes. Third Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution Workshop, Hamaya, August.
22. 斎藤成也: 遺伝子の系統樹と集団の系統樹—人類集団間の類縁関係を中心に. 日本動物学会関連集会「遺伝子の系統樹からみた種内変異と種間変異」, 八王子, 9 月.
23. Saitou N.: Human evolution viewed from species trees, gene trees, and population trees. Department of Mathematics, University of Hamburg, September.
24. Saitou N.: Reconstruction of Gene Trees from Sequence Data. Department of Ecology and Genetics, Aarhus University, September.
25. 斎藤成也: 遺伝子系統樹の作成法. 国際高等研究所サマースクール「生命の多様性」, 国際高等研究所, 9 月.
26. 斎藤成也, 植田信太郎, 隅山健太, Ferrell R., 山本文一郎: ABO 血液型遺伝子の進化. 日本遺伝学会, 岡山, 10 月.
27. 斎藤成也: 遺伝子の進化から見た人類集団間の系統関係. アイヌ民俗文化財専門職員等研修会, 札幌, 10 月.

28. 斎藤成也: 近縁種間における遺伝子系統樹と種系統樹の復元. 北海道大学理学部附属動物染色体研究施設セミナー, 北海道大学理学部, 10月.
29. 斎藤成也: 遺伝子系統樹における統計学的諸問題. シンポジウム「生物科学における統計モデルの研究」, 東京大学農学部, 12月.

D-c. 理論遺伝研究部門

(1) 生命体科学: 高畑尚之

高畑は, 8月21日から25日まで第3回国際分子生物進化学会(於: 葉山)を国立遺伝学研究所との協力の元に組織運営し, またこれに引き続き, NSFと総合研究大学院大学の援助でペンシルバニア州立大学の根井正利教授と共に日米の若手研究者によるワークショップを開催した. 国際学会では国内外から250名近くの参加者を得て成功を収めた. また, 若手研究者によるワークショップでは日米両国から14名ずつの参加を得た. このワークショップのProceedingsは現在印刷中である.

また, 本年度は, 主要組織適合性抗原遺伝子群(*MHC*)と人類進化に関する研究のとりまとめを行なった. 脊椎動物は無脊椎動物と異なり, 厳密な自己と非自己の識別, 記憶, 予見性といった特色をもつ自己防御系(免疫系)に守られている. 免疫系は各種の分子や細胞間のコミュニケーションのうえに成り立ち, 生物がもつ調和の取れた複雑系の典型でもある. 免疫系の出現は, 5億年まえの脊椎動物の出現と時を同じくする[詳細は文献(2)-2参照]. 免疫系の機能は, 一つ一つの個体を多様な種類の寄生体から防衛することである. このため, 脊椎動物は少数の子供を生むことによっても種を維持できるようになった. 子産数の制限は親子あるいは近親者の間に新しい関係を誘因し, 無脊椎動物では見られない複雑な社会構造の発展を可能にした. 人類の存在も免疫系の発明によるところが大である. *MHC* 遺伝子座にみられる特徴は, 自己・非自己の抗原ペプチドを結合した *MHC* 分子と T 細胞受容体分子のコミュニケーションの結果である[詳細は文献(1)-2参照]. *MHC* の変異には何百万年におよぶ生物の歴史が反映されている. 逆にいえば, *MHC* の変異は歴史的に拘束されていることになる. このため, *MHC* の変異は人類を含む生物進化の研究に有効な情報を与える[詳細は文献(1)-1及び3参照].

(2) SINE 配列の進化に関する集団遺伝学的研究 II.

マスターコピーモデルにおける配列進化: 舘田英典

マスターコピーが一つあり, しかも遷移状態であると仮定した SINE 進化の集団遺伝学的モデルを理論的に解析した. 各塩基サイトにおける遺伝子頻度の最大値, ホモ接合頻度, マスターコピーに起こった突然変異の数を反映する量である「Shared difference」の数等の統計量について, その平均・分散を計算機シミュレーション等を用いて求めた. その結果すべての量の平均値は増幅期間の単調関数であることが分かった. このためこれらの統計量は増幅期間の推定に使うことができるが, その標本分散はかなり大きい. これらの結果を用いて霊長類の SINE 配列であるアル配列のうち, Sb サブファミリーの配列データを解析した. 最初に増幅期間をホモザイゴシティとその分散から推定したところ, この期

間はそれが終わってからの期間に比べて非常に短いことが分かった。しかしながら、観測された「Shared difference」の数はマスターコピーモデルから予測される値の半分以下であった。この不一致を解決するモデルとして複数のマスターコピーを持つモデルなどについて議論した。

(3) 重複したアミラーゼ遺伝子上流領域のキイロショウジョウバエ種亜群における分子進化: 奥山栄策¹, 柴田弘紀², 館田英典, 山崎常行² (¹香川医科大学, ²九州大学理学部生物)

キイロショウジョウバエは逆向きに重複した二つのアミラーゼ遺伝子 (proximal gene, distal gene) を持つ。キイロショウジョウバエでの重複遺伝子の間の配列から、アミラーゼ遺伝子は上流 450 塩基を含んで重複したと考えられる。この重複はキイロショウジョウバエ種亜群の分岐以前に起こったと考えられるので、この 450 塩基部分について種亜群に属する 8 種のショウジョウバエで、アミラーゼ遺伝子上流領域の配列を決定した。8 種それぞれ二つ (proximal, distal), 総計 16 の配列のアラインメントを行なったところ、非常に保存されている領域とそうでない領域がモザイク状になっており、これまでに塩基配列からアミラーゼ遺伝子の調節に関与しているのではないかと考えられていたエレメントは、すべてよく保存されていることがわかった。系統樹を作成したところ、16 の配列はそれらが distal gene の上流か proximal gene の上流かによって二つのグループに別れ、上流領域におけるグループ間の塩基配列の違いは全体としてはコーディング領域のそれに比べて大きいことがわかった。上流領域は保存の程度から二つの部分領域に分けられる。この二つの部分領域で、同じグループに属する異なる種の間での塩基置換とグループ間での塩基置換数の比を較べたところ、有意な差が見つかった。これらの結果に基づいて、アミラーゼ遺伝子のすぐ上流にあたる領域で、遺伝子発現を変化させるような正の自然淘汰が働いている可能性を議論した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Takahata N.: A genetic perspective on the origin and history of humans. *Ann. Rev. Ecol. Sys.*, **26**, 343-372, 1995.
2. Takahata N.: MHC diversity and selection. *Immunol. Rev.*, **143**, 225-247, 1995.
3. Takahata N., Satta Y. and Klein J.: Divergence time and population size in the lineage leading to modern humans. *Theor. Popul. Biol.*, **48**, 198-221, 1995.
4. Horai S., Hayasaka K., Kondo R., Tsugane K. S. and Takahata N.: The recent African origin of modern humans revealed by complete sequence of hominoid mitochondrial DNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 532-536, 1995.

(2) その他

1. 高畑尚之: 集団・進化遺伝学の基礎. 21 世紀への遺伝学 VI, 裳華房, 1995.
2. 高畑尚之: 脊椎動物免疫系の起源と進化. *遺伝*, **49**(7), 76-82, 1995.

3. 高畑尚之：現在のロゼッタ・ストーンを解読する。創造の世界，94, 25-39, 1995.
4. 高畑尚之：遺伝子の系図と霊長類の系統樹。種生物学研究，19, 31-32, 1995.
5. 颯田葉子，高畑尚之：集団遺伝学の視点から見た生物進化。SUT BULLETIN 5月号，17-23, 1995.

(3) 発表講演

1. 高畑尚之：遺伝子の系図と霊長類の系統樹。種生物学会第26回シンポジウム，大阪，2月。
2. Takahata N., Satta Y. and Klein J.: Divergence time and population size in the lineage leading to modern humans. The 3rd International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, 葉山，8月。
3. 高畑尚之，颯田葉子：DNAとヒト及び霊長類の歴史。日本遺伝学会第67回大会，岡山，10月。
4. 高畑尚之：DNA多型と人類進化。DNA多型学会第4回大会，大阪，12月。
5. 笹田英典：SINE配列の進化についての集団遺伝学的研究III：マスターコピーモデルの解析。日本遺伝学会第67回大会，岡山，10月。
6. Tachida H.: A population genetic study of the evolution of SINE. 第三回 SMBE 国際会議，葉山，8月。

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。

当研究所が実施している共同研究事業の一環として、3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組んでいる外部の研究者25名および所内から今村教授、出原助手らが参加し、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、九大医学部の大塚講師らが、「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」のため来所し、今村教授、出原助手と

共同研究を行った。また、九州大学・医学部の中島 衡博士らの「自己免疫疾患におけるサイトカインレセプターの構造異常の解析」、住本英樹博士らの「インターロイキン4の細胞内情報伝達経路における p47phox の役割の解析」等の合わせて7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「分子進化学の進展開(代表者・長谷川政美)(宝来)、総合研究大学院大学グループ研究「生命体科学」(宝来)、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。

(1) 摂食行動とエネルギー代謝の制御機構と肥満・糖尿病の発症要因に関する遺伝学的解析: 今村 孝, 境 雅子, 稲葉利恵, 長谷川知子¹ (1) 県立静岡こども病院)

ヒトやマウスなどの摂食行動、脂質・糖代謝とエネルギー消費・蓄積の生理的恒常性、血圧や体温調節などは、脳・視床下部の制御中枢から発する自律神経・内分泌投射系によってフィードバック制御されることが知られている。ヒトのプラダ・ウイリ症候群(PWS)は、心身の発達障害、筋組織の低緊張などと共に、摂食行動の異常と肥満をおもな徴候とする先天性異常症であり、15番染色体の特定の領域(15q11-q13)に部分的欠損が認められる例が多いことから、この領域に複数の原因遺伝子が存在すると考えられている。そこで、PWS症候群のおもな徴候が、患者の視床下部・神経受容体ならびに神経伝達系に関連する遺伝子機能の欠損に基づくと考え、遺伝子の染色体地図上の位置の知見をも踏まえて、位置的クローン化操作によって遺伝子を取り出し、構造と機能を解析することとした。一方、肥満ラット、肥満マウス、糖尿病マウスなどは、それぞれ単一の常染色体劣性遺伝子による脂質・糖代謝の異常を示し、いずれも脳・視床下部による自律神経・内分泌制御系の発達障害に原因することが、これまでに報告された多くの実験結果によって支持されている。肥満マウスの原因遺伝子が同定された以外には、未だ遺伝子変異の詳細は明らかにされていない。この研究の目的は、ヒトのPWS症候群の主要な徴候である摂食行動の異常と肥満、高脂血症、高インシュリン血症など、神経内分泌制御系の異常を遺伝子解析によって明らかにし、さらに肥満ラットや糖尿病マウスの異常に関わる遺伝子変異の解析結果とも併せて、脂質・糖代謝の恒常性維持に関わる視床下部・神経内分泌制御系・シグナル伝達の仕組みを解明することにある。

PWS症候群の主要徴候が、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、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 配列クローン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。一方、Zucker 肥満ラットに認められる摂食行動の異常と肥満、糖尿病の

発症といった PWS 症候群相似の徴候が、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。そこで、ヒトのヒスタミン H1 レセプター (H1R) 遺伝子の全塩基配列を決定し、ヒトの各染色体 1 種類のみをもつマウス・ヒト雑種細胞パネルを用いて、遺伝子マッピングを行った結果、H1R 遺伝子は 3 番染色体短腕上にマップされた。肥満ラットの原因遺伝子はラット 6 番染色体上にマップされており、この染色体領域はマウスの 5 番染色体と相同性を示し、そこには糖尿病マウスの db 遺伝子がマップされている。マウスの 5 番染色体はヒトの 1p31-p34 に相当することが知られている。したがって、ヒトの摂食制御と肥満・糖尿病の罹病性を高める遺伝子の一つが 1 番染色体上に存在する可能性が高く、糖尿病 (db) マウスや肥満 (fa) ラットのそれらとも相同性を示すことが予測される。

(2) ヒト 18 番染色体・遺伝子地図の解析: 今村 孝, 境 雅子, 稲葉利恵, 中島 衛¹, 長谷川知子² (¹九州大学医学部第一内科, ²県立静岡こども病院)

18 番染色体の異常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。われわれはテトラソミー 18p 症候群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、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), また、長腕が欠失した染色体 (18q-) のみを保有している細胞株 (126-2, -3, -4, -7, -11, -16) などを作成した。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、2000 個のクローンを選択した。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。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。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 mRNA・cDNA を取り出し、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指している。

詳細は、文献 1 に発表した。

(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: 出原賢治, 境 雅子, 稲葉利恵, 今村 孝, 山岡邦宏¹, 原田登之² (¹九州大学医学部第一内科, ²結核研究所第一研究部)

インターロイキン (IL-4 および IL-13) は B 細胞に対して IgE 産生を誘導する活性をもつなど、機能的に類似したサイトカインである。IL-4 レセプター (IL-4R) は IL-4R α 鎖と IL-2R γ 鎖 (γ c) (IL-2, IL-7, IL-9, IL-15 レセプターにより共有されている) の少なくとも 2 本鎖で構成されている。IL-4R α 鎖は IL-13R の分子構成に関与しているが、 γ c は関与していない。最近、伴性重症免疫不全症 (XSCID) 患者は γ c 遺伝子の異常をもつことが判明した。二名の伴性重症免疫不全症 (XSCID) 患者に由来する B 細胞 (EB ウイルスにより形質変換) を用いて、IL-4 と IL-13 により誘導されるチロシンキナーゼ (Jak) 分子と転写因子 (STAT) 分子の活性化を解析したところ、患者の B 細胞では IL-4 の刺激により Jak3 のチ

ロシリン酸化と STAT6 の活性化が起こらないか、正常 B 細胞に比べて明らかに減弱していた。一方、IL-13 は患者由来の B 細胞において正常 B 細胞と同程度に STAT6 を活性化したが、正常 B 細胞においても Jak3 は IL-13 によって活性化されなかった。これらの結果より、B 細胞における IL-4 の情報伝達経路で γc は Jak3 と STAT6 の活性化に必須であり、IL-13 は XSCID 患者の B 細胞では傷害されていない副経路を介し、STAT6 を活性化していると考えられた。

また、チロシンキナーゼ (FES) の変異型を作製し、これらとインターロイキン 4 レセプター (IL-4R) およびホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ (PI3K) との結合を解析した結果、IL-4 の刺激によりプロトオンコジーン (FES) がチロシンリン酸化されるとともに、リン酸化された FES が IL-4R, PI3K と結合することを見出した。この研究では、FES 分子のどのチロシン残基が IL-4R, PI3K との結合に重要なのかを解明するため、3 種類の変異型 FES を作製し、これらの分子との結合を解析した。その結果、YXXM モチーフ内の 633 番目のチロシン残基、自己リン酸化部位である 713 番目のチロシン残基をフェニルアラニンに置き換えても、IL-4R, PI3K との結合に影響はなかった。一方、ATP 結合部位である 590 番目のリジン残基をグルタミン酸に置き換えたところ、IL-4R との結合は野生型 FES に比べて増加していた。PI3K との結合には影響しなかった。これらの結果より、FES と IL-4R, PI3K との結合には、FES の自己リン酸化は関係なく、633 番目、713 番目のチロシン残基以外のチロシン残基のリン酸化が FES と IL-4R の離合に関係していることが示唆された。詳細は、文献 2 および文献 3 に発表した。

(4) 細胞内情報伝達に關与する GTP 結合蛋白質の構造と機能に關する研究

(4-a) 低分子量 GTP 結合蛋白質の翻訳御修飾機構に關する研究：檀上稲穂、藤山秋佐
夫代表的な GTP 結合蛋白質 (G 蛋白質) は、3 分子のサブユニット (a, b, g) で構成されており、膜を介するシグナル伝達において中心的な機能を果たしている。近年になり、これ以外に、単一ペプチドからなる低分子量 GTP 結合蛋白質が数多く存在することが知られるようになった。*ras* スーパーファミリーはその代表的なものであり、*ras*, *rap*, *rho*, *rab*, *sas*, *sec*, *ypt* など、既に 40 種類をこえる分子種の存在が確認されている。これらの GTP 結合蛋白質は、細胞内で行われる各種のシグナル伝達 (形質膜シグナル伝達や分泌、細胞内輸送に關するシグナル伝達など) に關与し、細胞の増殖・機能制御に重要な役割を果たしている。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、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、伝達経路の上流および下流に位置する要素と相互作用を確立するメカニズムを明かにすることに焦点を当てている。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は、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) のシステムを用いる。本年度の研究により、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ち、基質認識に關与する領域が C 末端部分の共通モチーフの

みに存在するのではなく、さらに上流部分にも含まれていることを明らかにした。(European J. Biochem., in press; 文献6)

(5) 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、マーカーを集積し、低分解能遺伝地図を作成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、高解像度物理地図や塩基配列レベルでの基盤情報を産出し、応分の国際貢献を行うことと、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。

(5-a) 染色体特異的ライブラリの作成：藤山秋佐夫、前島ひとみ、遠藤光子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 2, 3, 7, 8, 13~22 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。全ゲノムの約 60% までカバーできており、今後 10 年のヒトゲノム解析およびその後に行われるであろう機能解析のための研究資材として重要なものと考えられる。(論文準備中)

(5-b) 単離染色体を用いる 2 次元マッピング法の開発：吉川浩英¹、松原謙一¹、浅川順一²、瀧本光弘³、小方則夫³、藤山秋佐夫¹(¹大阪大学、²放射線影響研究所、³新潟大学)

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大量に得ることが可能になった。染色体レベルでのゲノム機能の解析を目標とし、*NotI* 部位の染色体ごとの 2 次元スポットマップの作成を行った。現在、全ゲノムの 43% にあたる *NotI* 部位についてのマッピングが完了しており (Genomics, in press; 文献 5)、今後は遺伝子機能との関連を中心とした研究を進める予定である。

(5-c) ヒト第 2 染色体長腕領域の微細マッピング：藤山秋佐夫ヒトの第 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、まずヒト第 2 染色体特異的 cosmid ライブラリを作成した。今後は、これを基に微細地図の作成と *lco* 機能領域の解析を進める。

(6) ヒトゲノムデータベースの構築に関する研究：藤山秋佐夫、檀上稲穂、大山 彰¹(¹三井情報開発)

上記研究課題 2b の画像データベース化を進めている。第一段階のソフトウェアは、1996 年 3 月に完成の予定である。

(7) ヒト上科ミトコンドリア DNA 全塩基配列からみた現代人の起源：宝来 聰、早坂謙二、近藤み、梅根一夫、高畑尚之¹(¹総合研究大学院大学・教育研究交流センター)

現代人の起源に関しては、多地域並行進化説とアフリカ単一起源説が提唱され、現在大きな論争となっている。中心となる論争点は、現代人の起源の正確な年代を推定することにある。我々はこの問題の決着を目指して研究を行い、ミトコンドリア DNA の D ループ

領域の多型解析で最も多様性に富むアフリカ人1個体の全塩基配列(16.5 kb)を決定した。さらに、類人猿4種(チンパンジー、ボノボ、ゴリラ、オランウータン)の全塩基配列の決定を完成させた。既にあるヨーロッパ人と日本人のデータと併せて、ヒト3個体および類人猿4種のミトコンドリアDNAの全塩基配列のデータを分子系統進化的に解析した。非同義置換およびRNA 遺伝子(12S rRNA, 16S rRNA と22種類のtRNA 遺伝子)における置換をもとに系統解析を行った結果、ゴリラの分岐年代が 656 ± 26 万年前、ヒトとチンパンジーの分岐年代は 487 ± 23 万年前、チンパンジーとボノボの分岐年代は 233 ± 17 万年前であることを明らかにした。また、チンパンジー、ボノボの種間およびヒトの種内では、非同義置換に進化的なバイアスがかかっていることが示唆された。これは、特定のアミノ酸置換(アラニン-スレオニン間およびイソロイシン-バリン間)が頻繁に起こっているため、コドンの第1座位のAG非同義置換の偏りによるものであった。この研究によってヒト上科5種のミトコンドリアの全ゲノムが解明できたので、ミトコンドリアDNAの各座位における塩基置換速度の推定が可能になった。タンパク遺伝子では同義置換速度は、 3.89×10^{-8} /座位/年であり、非同義置換速度は 0.35×10^{-8} /座位/年と推定され、Dループ領域の置換速度は、 7.00×10^{-8} /座位/年であった。さらに、ヒトの種内で多く観察される同義置換およびDループ領域の置換とそれぞれの置換速度を用いた結果、ヒトのミトコンドリアDNAの最も深い分岐年代は、 $143,000 \pm 18,000$ 年前と推定された。この比較的新しい年代とアフリカ人が最初に分岐することから、現代人の起源に関しては、アフリカ単一起源説が強く支持された。詳細は、文献7, 8, 9に発表した。

(8) 新大陸へのモンゴロイドの移住: 宝来 聡, 近藤るみ, 園田俊郎¹, 田島和雄² (鹿兒島大学医学部, ²愛知県がんセンター研究所)

アメリカ大陸の広い地域に分布している72人のアメリカ先住民のミトコンドリアDNAのD・ループ領域の塩基配列を解析した。系統樹による解析から、アメリカ先住民は大きく4個のクラスターに分類され、それらのクラスターはヒト集団全体の中でも、明瞭に区別されるものであった。これらの4個のクラスターの大部分はアメリカ先住民だが、中にアジア人が少し含まれているものがある。その数はクラスターIで5人、IIIで3人、IIとIVでそれぞれ1人であった。例えばクラスターIIでは、1人の日本人が2人のアメリカ先住民とともに小さなクラスターを形成し、系統樹上では最後のところで分岐している。この小クラスターで日本人とアメリカ先住民が合体する点は系統樹全体の長さのわずか7%のところに位置する。我々の最新の研究成果(文献7)では、ヒトのミトコンドリアDNAの最も深い分岐年代は約14万年前であることが明らかとなった。また誤差を考慮しても、上限の年代は18万年前であることもわかっている。そこでこれらの年代(14~18万年前)を系統樹における遺伝的距離に当てはめると、この最初の合体は9800年から12600年前に相当する。他の3つのクラスターにおいてもアジア人とアメリカ先住民の合体は同じ時期に起こっている。アジア人とアメリカ先住民は現在は2つの異なる大陸に住んでいるので、アメリカ先住民の祖先が移住を開始したのは、少なくとも系統樹の上で2系統の最初の合体の後でなければならない。この点から、アメリカ先住民が新世

界に最初に現れたのは12600年前以降であると推定した。系統樹からは、アメリカ先住民の4つのクラスターが新世界に異なる波として移住してきた可能性を示唆している。4つのクラスターが全て合体する時間は系統樹全体の深さの約半分である。このように長い間、4個の系統がすべて含まれる単一の任意交配集団として存在し続ける可能性は極めて低いと考えられる。おそらく4個のクラスター内の人々は4個の異なる祖先集団の子孫であり、かなり長い間互いに独立した集団として存在したものであろう。詳細は、文献10に発表した。

(9) Y染色体多型からみた日本人の成立: Michael F. Hammer¹, 宝来 聰 (¹アリゾナ大学)

Y染色体上の非組み換え領域にある4つの遺伝子座に関して、日本人3集団(沖縄、静岡、青森)と台湾の中国人で遺伝子型を決定した。Y染色体上のAlu配列の挿入多型であるYAP因子は、日本人では42%に存在したが、中国人には見られなかった。このことによりYAP因子がアジアにおいて不規則な分布をしていることが明らかとなった。Y染色体上の4つの遺伝子座で得られたデータより、集団間の遺伝的距離の推定、Y染色体のハプロタイプの構築により集団内の遺伝的多様度および各ハプロタイプ間の多様度を検討した。Y染色体ハプロタイプの進化学的解析により、YAP(DYS287)座とDXYS5Y座の多型はただ1回の起源を持つのに対し、DYS1座の多型およびDYS19座におけるマイクロサテライトの対立遺伝子群は1回以上の起源を持つことが示唆された。遺伝的距離の解析により、沖縄の人は本土の日本人とは遺伝的に離れていることが明らかとなった。このことは、現代日本人が縄文人および韓国あるいは中国本土からの移入民である弥生人からの異なる遺伝的寄与を受けた結果であり、また沖縄の人は弥生人とはほとんど混合することはなかった、という仮説を支持する。YAP(+)染色体は縄文人によりもたらされ、YAP(-)染色体の流入は弥生人の移住によりもたらされたと考えられる。詳細は、文献11に発表した。

(10) ミトコンドリアDNAからみたテナガザルの系統関係: 林 誠司¹, 早坂謙二, 竹中 修², 宝来 聰 (¹名古屋大学理学部, ²京都大学霊長類研究所)

テナガザル(*Hylobates* 属)の4つの亜属のうち3つの亜属から7種(*Nomascus* 亜属の *concolor*, *Symphalungus* 亜属の *synductylus*, *Hylobates* 亜属の *klosii*, *lar agilis*, *pileatus*, *moloch*)のミトコンドリアDNAの塩基配列を決定し、分子進化学的解析を行った。配列決定を行った領域はND4, ND5およびtRNA^{His}, tRNA^{Leu}, tRNA^{Ser}の896-bpで、この領域は霊長類において進化解析に十分な量の変異を蓄積していることが示されている。*Hylobates* 亜属の種の数は以前から問題となっていたので、これを配列の類似度の観点から考察してみた。Brown *et al.* (1982), Hayasaka *et al.* (1988)の同じ領域の塩基配列データから類似度を計算したところ、種間では87.6%から96.4%、属間では82.9%から91.2%であった。我々のデータから3つの亜属間の類似度を計算したところ、87.9%から89.4%で、これは種間、属間両方の範囲内にあり、この亜属の分類の仕方が正しいことを示唆する。分子系統樹を構築したところ、*Hylobates* 亜属が単系統群であ

ることが強く示唆された。しかし、亜属間の系統関係は不確かで、他のデータを用いても統計学的確かさを持って1つの系統樹に決定することは出来なかった。Hylobates 亜属内の系統関係では我々の分子系統樹と形態学的な系統樹の間に明らかな違いがあった。形態学的な系統樹では *lar, agilis, pileatus* は単系統のグループを形成し、*klosii* はこのグループの姉妹群とされているが、我々の分子系統樹および *cyt b* の配列による分子系統樹 (Garza and Woodruff, 1992) では *klosii* はこのグループのクレード内に属していることが強く示唆されている。しかし我々の分子系統樹では *klosii* は *lar, agilis* に近いが、*cyt b* の系統樹では *pileatus* に近くなっている。この違いは *cyt b* のデータにおいて系統解析に有効な塩基座位が28しかない(我々のデータの約10分の1)のために、統計学的な誤りを生じたためであると思われる。ヒトとチンパンジーの分岐年代を500万年前 (Horai *et al.*, 1992, 1995) と推定し、テナガザルと大型類人猿で塩基置換速度の大きな変化がなかったとすれば、テナガザルの亜属への分岐は600万年前に起こり、Hylobates 亜属の分岐は350万年前に起こったと推定された。詳細は、文献12に発表した。

(11) 単クローン抗体によるオルソムコイド表現型—台湾先住民における *ORM1*Q0* の多型出現: 梅津和夫¹, 湯浅 勲², 鈴木肅夫¹, Pan I-H³, 石田貴文⁴, 斎藤成也⁵, 宝来聰¹ (山形大学医学部, ²鳥取大学医学部, ³台湾大学医学部, ⁴東京大学理学研究科, ⁵進化遺伝研究部門)

ヒトのオルソムコイド (ORM) は、分子量 45 kD の血清タンパクで、遺伝的多型が著しく *ORM1* および *ORM2* の2座位に約30種類の対立遺伝子が観察されている。*ORM* の表現型を判定する際に、時として *ORM1* あるいは *ORM2* のいずれの産物かを決定するのに困難なバンドに遭遇することがあった。このためオルソムコイド (*ORM*) に対する3種類のモノクローナル抗体 (*OR35, OR40, OR48*) を作成し、ヒトにおけるオルソムコイドシステムの表現型を決定するのに用いた。*OR35* 抗体と *OR48* 抗体はそれぞれ、*ORM1* 産物と *ORM2* 産物を認識する。*ORM40* は *ORM1* 産物には強く反応するが、*ORM2* 産物に対する反応は弱い。これらモノクローナル抗体の反応性の違いを用いて、*ORM* の表現型を台湾先住民の9種族集団から得られた658個体について決定した。注目に値することは、ヌルの対立遺伝子である *ORM1*Q0* のホモ接合体表現型をもつ個体が2人見出されたことである。さらに *ORM1*Q0* の対立遺伝子が、9種族集団中8集団で多型頻度 (1%以上) で観察されたことである。特にタイヤル族では、*ORM1*Q0* の遺伝子頻度は14.5%と非常に高頻度であった。詳細は、文献13に発表した。

(12) 台湾先住民集団における ADA 多型: 等電点電気泳動法による新たな ADA 変異型の同定: Feng Jin¹, 斎藤成也², 石田貴文¹, Cheih-Shan Sun³, I-Hung Pan⁴, 尾本恵市⁵, 宝来 聰¹ (東京大学理学研究科, ²進化遺伝研究部門, ³省立台東病院, ⁴台湾大学医学部, 国際日本文化研究センター)

ヒトのアデノシン脱アミノ酵素 (ADA) には遺伝的多型があり、通常観察される2種類の対立遺伝子 (*ADA*1* と *ADA*2*) 以外にデンブengel電気泳動法により様々な変異型対立遺伝子の存在が報告されている。我々は等電点電気泳動法を用いて台湾先住民の9種族

集団の計 654 人に関しての ADA の多型解析を行った。その結果、3 種類の通常の表現型 (ADA1, ADA2-1, ADA2) 以外に、4 種類の稀な表現型が観察された。このうち 2 種類の表現型は ADA*1, ADA*2 と新しい変異型遺伝子 ADA*Taiwan 1 のヘテロ接合体であった。さらに変異型遺伝子 ADA*Taiwan 1 のホモ接合体である表現型が観察された。もう 1 種類は、別の新しい変異型遺伝子 ADA*Taiwan 2 と ADA*1 のヘテロ接合体であった。このように、等電点電気泳動法によって新たに 2 つの変異型遺伝子、ADA*Taiwan 1 及び ADA*Taiwan 2 を見出した。デンブングエル電気泳動法によってこの 2 つの新しい変異型を検討した結果、等電点電気泳動法で検出された変異型対立遺伝子は通常の対立遺伝子 ADA*1 のサブタイプであることが明らかとなった。今回新たに見つかった対立遺伝子 ADA*Taiwan1 はアミ族とパイワン族に特に高い頻度 (それぞれ 33% と 35%) で存在することが明らかとなった。通常の対立遺伝子 ADA*2 もこの 2 族において他のアジアの集団よりも高い頻度で見られるという興味深い結果も得られた (それぞれ 13% と 14%)。台湾先住民の他の 7 集団における ADA*2 の頻度は、中国南部の少数民族と似た値となっている。ADA*Taiwan1 と ADA*2 の対立遺伝子頻度がアミ族とパイワン族において共に高いことがこの 2 集団の遺伝的類似性を示しているかは今のところ不明である。また、新たな対立遺伝子 ADA*Taiwan2 はサイセット族の 1 個体にのみ観察された。詳細は、文献 14 に発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Nakashima H., Hasegawa T., Sakai M., Inaba R. and Imamura T.: Identification of iso(18p) marker chromosome by fluorescence in situ hybridization with single-copy probe. *Jpn. J. Hum. Genet.*, **40**, 185-188, 1995.
2. Izuhara K., Sakai M., Inaba R., Imamura T., Howard M. and Harada N.: A synthetic peptide corresponding to a critical intracellular signaling region of the humoral IL-4 receptor inhibits IL-4 induced proliferation. *Cellular Immunology*, **163**, 254-259, 1995.
3. Izuhara K., Heike T., Otsuka T., Yamaoka K., Mayumi M., Imamura T., Niho Y. and Harada N.: Signal transduction pathway of Interleukin-4 and Interleukin-13 in human B cells derived from X-linked severe combined immunodeficiency patients. *J. Biol. Chem.*, **271**, 619-622, 1996.
4. Onozawa T., Danjo I. and Fujiyama A.: Biochemical Similarity of *Schizosaccharomyces pombe* ras1 Protein with RAS2 Protein of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, **11**, 801-808, 1995.
5. Yoshikawa H., de la Monte S., Nagail H., Wands J.R., Matsubara K. and Fujiyama A.: Chromosome Assignment of Human Genomic *NotI* Restriction Fragments in a Two-Dimensional Electrophoresis Profile. *Genomics*, in press.

6. Danjoh I. and Fujiyama A.: Enzymatic Characterization of Fission Yeast Farnesyl Transferase; Recognition of the-CAAL motif at the C-terminus. *European J. Biochem.*, in press
7. Horai S., Hayasaka K., Kondo R., Tsugane K. and Takahata N.: Recent African origin of modern humans revealed by complete sequences of hominoid mitochondrial DNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 532-536, 1995.
8. Horai S.: Evolution and origins of man: clues from complete sequences of hominoid mitochondrial DNA. *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Health*, **26** (Suppl. 1), 146-154, 1995.
9. Horai S.: Origin of Homo sapiens inferred from the age of the common ancestral human mitochondrial DNA. In *The origin and past of modern humans as viewed from DNA* (S. Brenner and K. Hanihara, eds.), pp. 171-185, World Scientific, 1995.
10. Horai S., Kondo R., Sonoda S. and Tajima K.: The first Americans: Different waves of migration to the New World inferred from mitochondrial DNA sequence polymorphisms. In *Prehistoric dispersal of Mongoloids*, (T. Akazawa and E. Szathmary, eds.), pp. 270-283, Oxford University Press, 1996.
11. Hammer M. and Horai S.: Y chromosomal DNA variation and the peopling of Japan. *Am. J. Hum. Genet.*, **56**, 951-962, 1995.
12. Hayashi S., Hayasaka K., Takenaka O. and Horai S.: Molecular phylogeny of gibbons inferred from mitochondrial DNA sequences: Preliminary report. *J. Mol. Evol.*, **41**(3), 359-365, 1995.
13. Umetsu K., Yuasa I., Harada A., Suzuki T., Pan I-H., Ishida T., Saitou N. and Horai S.: Orsomuroid phenotyping with monoclonal antibodies: Polymorphic occurrence of *ORM1*Q0* in aboriginal Taiwanese populations. *Hum. Hered.*, **45** (4), 181-185, 1995.
14. Jin F., Saitou N., Ishida T., Sun C-S., Pan I-H., Omoto K. and Horai S.: Genetic polymorphism of ADA in Taiwan aboriginal populations: New ADA variants detected by isoelectric focusing method. *Antropol. Sci.*, **103**(3), 227-234, 1995.

(2) その他

1. 今村 孝: 血液・腫瘍性疾患—サラセミア症候群. 遺伝子診断実践ガイド (中井利昭, 門脇 孝, 辻 省次, 他編集), pp. 239-244, 中外医学社, 東京, 1995.
2. 今村 孝: 遺伝子診断, その現状と展望. 異常ヘモグロビン症の遺伝子診断. 医学のあゆみ, **174**(5), 357-362, 1995.
3. 今村 孝: サラセミアの遺伝子解析. 臨床検査, **39**(7), 775-780, 1995.
4. 出原賢治: IL-4 によって誘導される転写因子 IL-4 STAT. 臨床免疫, **27**(7), 809-

- 813, 1995.
5. 出原賢治, 原田登之: インターロイキン4のシグナル伝達機構. 医学のあゆみ, **174** (14), 1019-1022, 1995.
 6. 出原賢治: IL-4, IL-7 受容体を介するシグナル伝達. 細胞工学, **14**(10), 1153-1157, 1995.
 7. 檀上稲穂, 藤山秋佐夫: 細胞内シグナル伝達 (バイオサイエンス用語ライブラリーシリーズ, 山本 雅編), 羊土社, pp. 112-114, 1995.
 8. 藤山秋佐夫: 分子細胞生物学事典 (村松正實編), 分担執筆, 1995.
 9. 中村桂子, 藤山秋佐夫, 松原謙一共訳: 細胞の分子生物学第3版, 教育社, 1995.
 10. 藤山秋佐夫 分担執筆: ゲノム解析, 分子医学シリーズ第1巻 (豊島久真男ら編), メディカルビュー社, 1995.
 11. 宝来 聡: ミトコンドリアDNAから探る人類集団の系譜. モンゴロイドの道 (科学朝日編), pp. 140-151, 朝日新聞社, 1995.
 12. 宝来 聡: ミトコンドリアDNAからみた日本人のなりたち. モンゴロイドの地球第3巻日本人のなりたち (百々幸雄編), pp. 217-238, 東京大学出版会, 1995.
 13. 宝来 聡: DNAからみたヒトの進化と多様性. ゆらぎの科学5 (武者利光編), pp. 71-101, 森北出版, 1995.
 14. 宝来 聡: 出土人骨のDNA分析. 新しい研究法は考古学になにをもたらしたか (田中 啄・佐原 真編), pp. 243-248, クバプロ出版, 1995.
 15. 宝来 聡: 出土人骨DNA分析法. 考古資料分析法 (田口 勇・斎藤 努編), 考古学ライブラリー65, pp. 90-91, ニューサイエンス社, 1995.
 16. 宝来 聡: ミトコンドリアDNA検査法. 臨床DNA診断法 (古庄敏行・井村裕夫, 監修編集), pp. 202-209, 金原出版, 1995.
 17. 宝来 聡: ミトコンドリア遺伝子全塩基配列からみたヒトの起源. 「最新医学」**50** (7), 15-20, 1995.
 18. 宝来 聡: トコンドリアDNA分析. 「人類学がわかる」(アエラムック8) 朝日新聞社, 56-57, 1995.
 19. 宝来 聡: DNAからみた現代人の起源. 「細胞工学」特集: 分子進化学の新展開, **14**(9), 1031-1035, 1995.
- (3) 発表講演
1. 出原賢治, 今村 孝, 原田登之: インターロイキン4によるプロトオンコジーンFESとホスファチジルイノシトール3キナーゼの結合の誘導. 日本血液学会, 名古屋, 6月.
 2. Izuhara K., Heike T., Sakai M., Inaba R., Mayumi M., Imamura T. and Harada N.: Abnormality of Jak-STAT pathway induced by IL-4 in X-linked severe combined immunodeficiency (XSCID) patient's B cell. Internatinal Congress of

Immunology, San Francisco, USA, July.

3. 今村 孝, 出原賢治, 長谷川知子: 神経ヒスタミン合成系の律速酵素とヒスタミン H1 受容体の遺伝子解析と染色体マッピング. 日本人類遺伝学会第 40 回大会, 熊本, 9 月.
4. 出原賢治, 平家俊男, 大塚 毅, 山岡邦宏, 真弓光文, 今村 孝, 仁保喜之, 原田登之: 伴性重症免疫不全症患者由来の B 細胞における IL-4, IL-13 の細胞内情報伝達機構. 日本人類遺伝学会第 40 回大会, 熊本, 9 月.
5. 出原賢治, 平家俊男, 大塚 毅, 山岡邦宏, 真弓光文, 今村 孝, 仁保喜之, 原田登之: 伴性重症免疫不全症患者由来の B 細胞における IL-4, IL-13 の細胞内情報伝達機構. 日本免疫学会, 福岡, 11 月.
6. 浅川順一, 小平美恵子, 藤山秋佐夫, Rork Kuick, 金岡里充, 今中正明, James V. Neel, Samir M. Hanash, 佐藤千代子: ヒトゲノム DNA の 2 次元電気泳動法で検出された, メチル化による X 染色体不活性化を免れた DNA 断片, 第 40 回日本人類遺伝学会大会, 熊本.
7. 浅川順一, 小平美恵子, 藤山秋佐夫, Rork Kuick, 金岡里充, 今中正明, James V. Neel, Samir M. Hanash, 佐藤千代子: ヒトゲノム DNA の 2 次元電気泳動法で検出された, メチル化による X 染色体不活性化を免れた DNA 断片の解析, 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋.
8. 藤山秋佐夫, 檀上稲穂, 前島ひとみ, 遠藤光子, 瀧本光弘: ヒト全ゲノムを網羅する染色体特異的ライブラリの構築とその利用 (III), 第 18 回日本分子生物学会大会, 名古屋, 12 月.
9. 吉川浩英, 永井尚生, 松原謙一, 藤山秋佐夫: 2 次元電気泳動によるヒトゲノム DNA の NotI 断片の染色体アサインメント, 第 18 回日本分子生物学会大会, 名古屋, 12 月.
10. 檀上稲穂, 藤山秋佐夫: Ras 蛋白質 C 末端 CAAX モチーフとシグナル伝達: CAAL モチーフを持つ Ras 蛋白質はシグナル伝達が可能である, 第 18 回日本分子生物学会大会, 名古屋, 12 月.
11. 天前豊明, 浜田 玲, 藤山秋佐夫, 池村淑道: ヒト巨大 G+C% 区分構造の境界における DNA 複製タイミングの解析, 第 18 回日本分子生物学会大会, 名古屋, 12 月.
12. 中村保一, 山形哲史, 深川竜郎, 安藤麻子, 木村 穰, 猪子英俊, 奥村克純, 藤山秋佐夫, 池村淑道: ヒトゲノムに存在する巨大 GC 含量ドメイン境界に関する構造解析, 第 18 回日本分子生物学会大会, 名古屋, 12 月.
13. Ohyama A., Akutsu T. and Fujiyama A.: A Software Tool for Mapping Human Genome by Chromosome-Specific Two-Dimensional Electrophoresis Method, Genome Informatics Workshop 1995, Yokohama, December.
14. 宝来 聰: ミトコンドリア遺伝子の民族差. 平成 7 年度日本癌学会シンポジウム

「がんの民族疫学」, 名古屋, 1月.

15. Horai S.: Human diversity and phylogeny as revealed by mitochondrial DNA. Symposium on "Human Molecular Diversity", The 1995 AAAS Annual Meeting and Science Innovation Exposition, Atlanta, February.
16. 宝来 聰: 出土人骨の DNA 解析. 国立奈良文化財研究所人骨講習会, 奈良, 3月.
17. 宝来 聰: ミトコンドリア DNA からみた現代人の起源: グループ研究「生命体科学」第4回ワークショップ, 葉山, 3月.
18. 宝来 聰: 現代人はどこから来たか? "人類の起源" を科学する一遺伝子解析. 「明日の社会・技術を考える会」, 東京, 5月.
19. 宝来 聰: PCR 法の活用: 現代人の起源. 生化学若い研究者の会平成7年度夏のシンポジウム「遺伝子技術の社会への応用」, 東京, 6月.
20. Horai S.: Mitochondrial DNA Polymorphism in Native Americans. Symposium on "Advances in HTLV-1: Virology, Genetic epidemiology and Clinical pathology", Santiago, August.
21. Horai S.: Recent African origin of modern humans revealed by complete sequences of hominoid mitochondrial DNAs. Symposium on "Human Origins", The Third International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Hayama, August.
22. 宝来 聰: ミトコンドリア DNA からみた人類の起源. 第5回遺伝医学セミナー, 千葉, 9月.
23. 宝来 聰, Hammer M. F.: Y 染色体多型からみた日本人の成立. 日本人類遺伝学会第40回大会, 熊本, 9月.
24. 宝来 聰: ミトコンドリア DNA からみた日本人の起源. 第12回遺伝分科会, 第49回日本人類学会・日本民族学会連合大会, 千葉, 10月.
25. 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 からみた現代人の起源. 第49回日本人類学会・日本民族学会連合大会, 千葉, 10月.
26. 宝来 聰: ミトコンドリア DNA からみた人類の起源. 聖マリアンナ医科大学第21回組換え DNA 実験セミナー, 川崎, 11月.
27. 後藤雄一, 埜中征哉, 宝来 聰: ミトコンドリア DNA 欠失に伴う重複に関する研究. 日本人類遺伝学会第40回大会, 熊本, 9月.
28. Hammer M. F. and Horai S.: Y chromosomal DNA variation and the peopling of Japan. The Third International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Hayama, August.
29. Igarashi S., Takiyama Y., Takano H., Sanpei K., Oyake M., Tanaka H., Sasaki H., Wakisaka A., Nishizawa M., Horai S., Brice A., Roganova E. A., George-Hyslop P. H., ST. and Tsuji S.: Single base polymorphism and the 3' end of CAG repeat

in MJD1 gene is associated with the size of CAG repeat and the inter-generational instability. 45th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Minneapolis, October.

30. Kondo R., Takahata N. and Horai S.: Substitutions in the hominoid mitochondrial DNA. The Third International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Hayama, August.
31. Ozawa M., Nishino I., Watanabe A., Yamamoto H., Fujimoto M., Horai S., Nonaka I. and Goto Y.: Novel point mutation in mitochondrial lysine tRNA in two Japanese families with myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease. 45th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Minneapolis, October.

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。近年は主として野生イネおよび栽培イネを用いて、分子から集団までのいろいろなレベルから、進化・適応・遺伝子の発現調節などの、いずれも植物の遺伝的改変の基礎となる重要な問題にとりくんできた。人事面では、約20年にわたってイネの進化遺伝学的研究を精力的に推進してきた佐野芳雄助教授が北海道大学農学部教授として2月に転出した。その後は、教授森島(沖野)啓子と助手平野博之が中心となり、以下の人達の協力を得て研究を進めた。H. S. Suh (客員教授, 韓国嶺南大学), 才 宏偉 (外国人研究員, 中国), 秋本正博 (北大・農学研究科) がイネの進化研究に参加した。総研大学生加賀谷安章は4月に三重大学農学研究科博士課程に転学した。また従来通り、技官の妹尾治子, 永口 貢, 宮林登志江, および松本美和子他多数のパートタイマーの人達の助力を得た。

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), 一般研究 C「同化デンプン合成系遺伝子の単離とその機能の解明」(代表・平野), 国際学術研究「中国に分布する作物資源の遺伝的評価と開発的研究」(代表・森島), 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・佐藤洋一郎, 分担・森島), 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) などである。

遺伝研共同研究としては次の3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理論的および実験的解析(京都産大・米澤勝衛)」, 「Wx 遺伝子座を中心としたイネの分子遺伝学的研究(北大・佐野芳雄)」。また以下の4件の研究集会を当部門がお世話した。「東南アジアにおける野生イネ遺伝資源の現状とその保存(東北大・佐藤雅志)」, 「自然生態系を生かした遺伝資源の保存(明大・秋濱友也)」, 「検証: イネの起源と進化一日中合同研究会(森島)」, 「イ

ネの分子遺伝学 (奈良先端科学技術大学院大学・島本 功)』

国外での活動としては、10月にマニラで開催された第3回国際イネ遺伝学シンポジウムに森島・才・秋本の3名が参加し、それぞれ研究発表を行った。引き続き森島は才と共に中国を訪問し、日中共同研究の一環として広西自治区の野生イネの調査を行った (国際学術研究)。また森島は本年より中国北京農業大学の客員教授となったので、この機会に同大学を訪問し特別講演を行った。イネ遺伝学研究者の国際的機関誌 Rice Genetics Newsletter については、編集委員長岡彦一名誉所員を編集委員森島が支援し、Vol. 11を発行することができた (文部省科研費・研究成果公開促進費)。

以下に本年進展のあったいくつかの課題について述べる。

(1) アイソザイム変異からみたアジア野生イネの分化: 才 宏偉, 王 象坤¹, 森島啓子 (1北京農業大学, 中国)

栽培イネの祖先種 *Oryza rufipogon* はアジアに広く分布し、種々の遺伝学的研究がなされてきたが、栽培イネの起源地の少なくとも一つがあると考えられる中国の系統については情報が少なく、イネの起源研究の盲点であった。今回中国の多数系統を含む106系統について21アイソザイム遺伝子座の変異を調査した結果、以下のようなことがわかった。

a) 中国, インドシナ, インド亜大陸, マラヤの4地域の系統群を比較すると、中国の系統が他地域の系統とは異なる遺伝子構成を持つ傾向が見出された。特に日本型栽培イネを特徴づける遺伝子を高頻度で含むことがわかった。

b) 21遺伝子座の変異を多変量解析したところ、地理的分化の傾向が認められ、中国とインドシナ/マラヤが最も離れ、インド亜大陸はその中間に位置した。この野生イネの種内に分化している二つの生態型である多年生型・一年生型の差はアイソザイムのレベルでは認められなかった。

c) 遺伝子座間の組み合わせのノンランダムネスを示す R^2 は0.022で、栽培イネ品種間で推定された $R^2=0.382$ より低く、栽培イネでみられるような明瞭な種内分化は起こっていないことがわかった。

以上のことから、アジア野生イネは全体として地理的分化を生じており、その中で中国の野生イネは日本型特有の遺伝子を含む複数の遺伝子の頻度に関して他の地域とは明らかに異なるが、日本型・インド型への分化は栽培イネにみられるほどは明瞭ではないと結論した。(論文2に報告)

(2) 野生イネの一年生・多年生を支配する遺伝子の解析: Kohn J. R.¹, 森島啓子 (1カリフォルニア大学・サンディエゴ校)

量的形質遺伝子 (Quantitative Trait Loci, QTL) の解析のために分子マーカーとの連鎖を利用する研究は近年盛んになってきたが、対象形質は主として収量性・耐病性などの農業形質であった。私共は、本研究で野生イネの種内で分化している生態型の変異に関わる形質のQTL解析を目的とした。

野生イネ *Oryza rufipogon* の一年生型は、早い開花期、自殖性、高い種子生産性、成熟後の枯死などで特徴づけられる生活史を持ち、他方多年生型は、遅い開花期、部分他殖性、

低い種子生産性、強い再生力など、対象的な生活史を持つ。これらの形質は自然界でも交雑 F_2 でも連続変異を示し、複数の遺伝子に支配されていると考えられる。タイ中央平原に自生する典型的な一年生型と多年生型の系統の交雑 F_2 約 250 個体を栽培し、上記の特性に関する種々の形質を調査した。また各個体から抽出した核 DNA を 40 種類の RFLP プローブを用いて評価した。

統計遺伝学的分析の結果は、これらの形質が 0.37–0.81 の遺伝力を持つことを示し、遺伝的効果の存在が確かめられた。各形質と有意な相関を示した QTL は 27 ヶ見出されたが、個々の効果は一般的に小さく、最大の説明力を示した QTL でも 27% であった。しかし多重回帰させると表現型分散では 7–38%、遺伝子型分散では 18–62% がこれらの QTL で説明できた。多面的発現を示した QTL も見出された。例えば第 1 染色体上のマーカーである G1184 Ca は開花期、草丈、穂長、有効分けつ割合、成熟後の再生力の変異を部分的に説明した。今回見出された QTL は個々の効果は小さいものばかりであったが、これは生態型レベルの変異は、種レベルの変異よりも小さい効果を持つ多数の遺伝子で調節されていることを示唆するものであろう。

(3) アマゾン野生イネの生態遺伝学的研究: 秋本正博, 宮林登志江, 島本義也¹, 森島啓子 (1 応用遺伝研究部門)

(a) *Oryza glumaepatula* の生活史特性とその適応的意義

O. glumaepatula は栽培イネ *O. sativa* と同じゲノムを持つ 2 倍体野生種である。このうちアマゾン河流域に分布する生態型は、年間の河川の水位差が 10 m 以上にもおよぶ環境条件に適応した独自の生活史を持っている。多数の採集系統を用いて、いくつかの生活史特性について調査を行い自生地環境への適応について考察を行った。

1) 茎の各節の上部に非常にもろい部分が認められここで折れ易いことがわかった。この特性が、イネの節間伸長能力の限界を越えるような深水条件下においても、植物体上部を土から離して水上へ浮上させることで、その後の生存を可能にしていると考えられる。

2) 地上部の各節を切断して再生力試験を行ったところ、上位節では再生能力が高く、下位節では低かった。深水条件下で茎が折れ上部が水上へ放たれると、各節より盛んに分けつや不定根が分化し水上で成長を続ける。一方水中に残された下部はそのまま枯死すると考えられる。上位節と下位節における個体再生力の差は深水に対する適応機構の一つと考えられる。

3) 花は大きい葯を持ち花粉生産量が高いので他殖性であることが予想されたが、アロザイム多型性を指標とした集団の遺伝構造解析の結果、集団内のヘテロ個体頻度が非常に低いことがわかった。不安定な水上において確実に受粉を行うため、主に自殖による種子生産を行っているのではないと思われる。(論文 1 に報告)

(b) *O. glumaepatula* と *O. grandiglumis* の集団構造の比較

O. glumaepatula の 25 集団および同所的に生育している 4 倍体野生イネ *O. grandiglumis* の 23 集団について、アロザイム多型性を指標とし集団の遺伝構造を調査した。

集団内の遺伝子多様度は、*O. glumaepatula* では、上流の集団に比べ下流の集団が高い

値を示した。一方向的に進む遺伝子流動の結果、下流域において遺伝変異の集積が行われたためと考えられる。*O. grandiglumis* では、上流の集団も下流の集団もほぼ同じ値を示した。*O. glumaepatula* は主に自殖を、*O. grandiglumis* は部分他殖を行っていると考えられる。*O. glumaepatula* と近縁のアジアの野生イネ *O. rufipogon* の自殖性集団では、集団内より集団間の遺伝子多様度的の方が高い値を示し、他殖性集団ではその逆の傾向を示すことがわかっている。しかし、本研究の結果では、*O. glumaepatula*, *O. grandiglumis* 共に、遺伝子多様度は集団内の方が集団間よりも高い値を示した。

前節に述べたように *O. glumaepatula* では流域内を漂流し遺伝子流動の経路が形成されていると考えられる。一方、*O. grandiglumis* は、増水しても根は定着し節間伸長によってのみ適応を行うので *O. glumaepatula* に認められたような移動能力はなく、遺伝子流動の程度も低いと考えられる。集団の遺伝構造は植物の生活史特性により大きく異なる。今回同所的に生育している二種の間で見出された集団構造の差はその生活史の差を反映しているであろう。

(4) アジア深水稻とインド型・日本型分化: 才 宏偉, 森島啓子

熱帯大河のデルタ地帯で栽培される深水稻は一般にインド型に属すると考えられている。しかしアジア栽培イネの広汎なアイソザイム変異の分析 (Glaszmann, 1985) においてバングラデッシュの深水稻の一部が特殊な群に分類され、研究者の関心を集めていた。今回私共はバングラデッシュを中心に他の国々も含め計 90 の在来品種の 8 アイソザイム遺伝子座の変異を調査した。クラスター分析および因子分析の結果、次のようなことがわかった。供試品種は、日本型・インド型およびバングラデッシュの深水稻の 3 つのグループに分類された。第 3 のグループは、野生イネに特異的な遺伝子を持ち、インド型・日本型の分化がはっきりしていない深水稻から成る品種群であった。野生イネから栽培イネへの進化を考える際に、特に注目すべき一群と考えられる。バングラデッシュの品種の中には、少数ながら典型的日本型のものが含まれていることもわかった。

(5) *wx* 遺伝子座の対立遺伝子による発現量の調節の解析: 平野博之, 永口 貢, 佐野芳雄¹ (現北海道大学農学部)

イネの *wx* 遺伝子座には Wx^a と Wx^b の二つの野生型対立遺伝子が存在する。これらは当初、 Wx タンパク質の発現量の違いによって定義された。タンパク質および RNA どちらのレベルにおいても、 Wx^a は Wx^b の約 10 倍の発現量である。後者は栽培イネの *Oryza sativa Japonica* に存在し、前者は Indica や野生イネの *O. rufipogon* などに分布している。Japonica も Indica も *O. rufipogon* から進化してきたイネであるので、 Wx^b は Wx^a から派生したと考えられる。イネの栽培化という短期間の進化の中で、いかなる DNA 上の変異が遺伝子の発現量の変化をもたらし、 Wx^b という対立遺伝子を生じたのであろうか？ Wx^a と Wx^b の発現量の調節の機構の解明は、その機構の進化との関連も合わせて興味深い。

私たちは、この Wx^a と Wx^b の遺伝子発現調節の分子機構を解明する目的で、本研究を進めている。イネの Wx 遺伝子の ATG より上流域には 1 kb 以上の長いイントロンが存

在する。この第1イントロンとプロモーター領域を含む Wx 遺伝子の上流域をレポーター遺伝子 (GUS) に連結し、イネの培養細胞より単離したプロトプラストを用いて transient assay 法により Wx 遺伝子上流域の解析を行った。その結果、 Wx^a 遺伝子上流域を用いた場合には、 Wx^b 遺伝子を用いたときの100倍以上のGUS活性が認められた。しかし、 Wx^a 遺伝子のプロモーター領域を上流から順次欠失させても、転写開始点近くまで、活性の大幅な低下は認められなかった。そこで、 Wx^a と Wx^b 上流域のキメラ配列を種々作製して解析を進めたところ、転写開始点より下流の約140 bpの領域が、大きな発現量の差に関与していることが判明した。この領域内には、第1イントロンのスプライシングのドナーサイトが含まれ、 Wx^a ではGTであるのに対し、 Wx^b ではTTに変異していた。また、ここにはCTからなる2塩基のリピートが存在し、 Wx^a と Wx^b ではその長さが異なっていた。約140 bpの領域内での Wx^a と Wx^b の塩基の違いはこの2点であり、このどちらかが、発現量に影響を与えていると考えられる。 Wx^b の発現をノザンプロットで解析すると、第1イントロンを含む大きな転写産物が、正常の長さの産物の他に認められる。したがって、 Wx^b ではスプライシングの効率が悪く、これが転写に影響し発現量が低下していることが考えられる。現在、 Wx^a と Wx^b のドナーサイト部位に相互に変異を導入し、この部位が Wx^a と Wx^b の発現量の大きな違いの原因かどうかの最終的な検討を行っている。

(6) 一年生型野生イネから導入した第7染色体断片の解析: 永口 貢, 佐野芳雄¹ (現北海道大学農学部)

野生イネと栽培イネの遺伝的差を明らかにすることを目的として、野生イネの種々の染色体の一部を戻し交雑により栽培イネ標準系統に導入する試みを続けてきた。今回は、 Rc (赤い粒色) と g^+ (短い護穎) を持つ一年生型野生イネ W107 に g (長護穎) と lg (無葉舌) を持つ台中65号を戻し交雑し、 Rc と g^+ を標識としてそれらが座乗する第7染色体の一部を持つ台中65号を選抜した。この断片上には、栄養生長期の矮性と感光性(短日条件でのみT65より早く出穂)を支配する遺伝子があることがわかった。BC₃F₂ および BC₅F₂ で観察された3:1の分離比から、これらはどちらも優性の単一遺伝子に支配されていると判断し、 $Ssv(t)$ と $Lh(t)$ と仮称した。

BC₅F₂ の分離から、これらは第7染色体上に g (17%)– Ssv (29%)– Rc (13%)– Lh の順で連鎖していることがわかった。 Rc と Lh に関しては分離の歪みが観察された。その機構はまだ明らかでないが、栽培イネに導入された Rc を持つ染色体断片が、期待されるよりも急速に減少して行くことはイネ栽培化の進化機構を考える上で興味ある事実であろう。(論文3に報告)

研究業績

(1) 原著論文

1. Akimoto M., Shimamoto Y. and Morishima H.: Gene flow and population structure of *Oryza glumaepatula* distributed in the Amazon basin. Rice Genet. Newslett., 12, 178–180, 1995.

2. Cai H. W., Wang X. K. and Morishima H.: Isozyme variation in Asian common wild rice, *Oryza rufipogon*. Rice Genet. Newslett., **12**, 176-178, 1995.
 3. Eiguchi M. and Sano Y.: Evolutionary significance of chromosome 7 in an annual type of wild rice. Rice Genet. Newslett., **12**, 185-187, 1995.
 4. Hirano H.-Y., Tabayashi N., Matsumura T., Tanida M., Komeda Y. and Sano Y.: Tissue-dependent expression of the rice *wx⁺* gene promoter in transgenic rice and petunia. Plant Cell Physiol., **36**, 37-44, 1995.
 5. 湯 陵華, 森島啓子: 中国長江下流雑草イネの起源. 「東アジアの稲作起源と古代稲作文化」(和佐野喜久生編), 88-91, 1995.
 6. Yonezawa K., Nomura T. and Morishima H.: Sampling strategies for use in stratified germplasm collections. In "Core Collections of Plant Genetic Resources" (T. Hodgkin *et al.*, eds.), pp. 35-53, Wiley-Sayce Publ. 1995.
- (2) その他
1. 平野博之: デンプン合成関連遺伝子, 「種子のバイオサイエンス」(種子生理生化学研究会編), 学会出版センター, 1995.
 2. Morishima H. and Oka H. I.: Genetic erosion in wild and cultivated rice species. Rice Genet. Newslett., **12**, 166-169, 1995.
 3. 森島啓子: 乾燥と一年生植物の進化. 植物の世界 (週刊朝日百科), **13**(4), 158-160, 1995.
 4. 森島啓子: アジアの野生イネ—その変異と栽培化—. 「東アジアの稲作起源と古代稲作文化」(和佐野喜久生編), 75-79, 1995.
 5. Morishima H., Tan L.-H. and Wasano K.: An observation of wild rice populations in Hainan and Yunnan, China. 「東アジアの稲作起源と古代稲作文化」(和佐野喜久生編), 98-105, 1995.
- (3) 発表講演
1. 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*) のアロザイム多型性の特徴. 日本育種学会第 87 回講演会, 茨城, 4 月.
 2. Akimoto M., Shimamoto Y. and Morishima H.: Allozyme variation and genetic diversity of intra and inter population of *Oryza glumaepatula* distributed in the Amazon. 3rd Intl. Rice Genetics Symposium, Manila, October.
 3. 秋本正博, 森島啓子, 島本義也: アマゾン河流域の野生イネ (*Oryza glumaepatula*, *Oryza grandiglumis*) のアロザイム多型性の特徴. 日本育種学会第 88 回講演会, 京都, 11 月.
 4. 才 宏偉, 王 象坤, 森島啓子: 中国野生イネの集団内の遺伝的多様性. 日本育種

- 学会第 87 回講演会, 茨城, 4 月.
5. Cai Hong-wei, Xiang-kun Wang and Morishima H.: Genetic diversity of Chinese wild-rice populations. 3rd Intl. Rice Genetics Symposium, Manila, October.
 6. 才 宏偉, 森島啓子: バングラデッシュ在来イネ品種の分類. 日本育種学会第 88 回講演会, 京都, 11 月.
 7. 永口 貢, 佐野芳雄: 野生イネから導入した第 7 染色体断片の遺伝分析. 日本育種学会第 87 回講演会, 茨城, 4 月.
 8. 平野博之, 国枝泰司, 佐野芳雄: イネ *Wx* 遺伝子の弱低温応答とアミロース含量の変動. 日本育種学会第 87 回講演会, 茨城, 4 月.
 9. 平野博之, 国枝素司, 佐野芳雄: 弱低温によるイネ *Wx* 遺伝子の活性化とアミロース含量の増大, 日本植物生理学会 1995 年度年会. 松江, 3 月.
 10. Kohn Joshua R., Leyva N., Dossey R., Sobral B. and Morishima H.: QTL analysis of annual/perennial life-history variation in *Oryza rufipogon*. 3rd Intl. Rice Genetics Symposium, Manila, October.
 11. 国枝素司, 秋浜友也, 佐野芳雄, 平野博之: 糖によるイネ *Wx* 遺伝子の発現解析, 日本育種学会第 87 回講演会. 茨城, 4 月.
 12. 宮林登志江, 森島啓子: アマゾン河流域の野生イネの形質変異とその評価. 日本育種学会第 87 回講演会, 茨城, 4 月.
 13. 森島啓子: 栽培イネ×野生イネ雑種集団の淘汰実験 I. 日本育種学会第 87 回講演会, 茨城, 4 月.
 14. Morishima H.: Genetic erosion in rice germplasm. SCOPE IXth General Assembly, Tokyo, May.
 15. Morishima H., Shimamoto Y., Sato Y.I., Songkran C., Sano Y., Barbier P., Sato T. and Yamagishi H.: Monitoring of wild rice populations in the permanent study-sites. 3rd Intl. Rice Genetics Symposium, Manila, October.
 16. 森島啓子: イネの進化と適応の遺伝的機構. 北京農大特別セミナー, 北京, 10 月.
 17. 森島啓子: 栽培イネ×野生イネ雑種集団の淘汰実験 II. 日本育種学会第 88 回講演会, 京都, 11 月.
 18. Morishima H.: Response of wild-rice populations to habitat disturbance—Toward basic study for *in situ* conservation of plant genetic resources—Japan-Korea Symposium in Biology, Nagoya, December.
 19. 佐野芳雄: イネ交雑不親和性遺伝子 (*Lcr*) の発育遺伝. 日本育種学会第 87 回講演会, 茨城, 4 月.
 20. Suh H. S., Cho Y. C., Chung T. Y. and Morishima H.: Genetic basis of weed rice collected from Korea. 3rd Intl. Rice Genetics Symposium, Manila, October.

E-c. 応用遺伝研究部門

(1) ペレニアルライグラスのミトコンドリアゲノムの品種内変異: 島本義也

ペレニアルライグラス (*Lolium perenne*) において、ミトコンドリアゲノムの品種内多型が存在することを明らかにした。ペレニアルライグラスの品種は、その多くが品種内で RFLP 像は単型であったが、品種内に 2 種類以上の異なる RFLP 像を持つ 3 品種が観察された。その内、2 種類の RFLP 像を持つ品種は、その 2 種類の各 RFLP 像を各々持つ品種が他に観察されることから、異なる RFLP 像を持つ 2 種類の品種が交配親としてその品種の育成に使われたものとおもわれる。一方、非常に多様な RFLP 像を示した 2 つの品種は、生態型から集団選抜され、品種として登録されてから長い年月を経ている。この 2 品種に観察された RFLP 像の組み合わせから識別した数種類のゲノム型は、品種間で互いに異なっており、また、他の品種に同じゲノム型を持つ品種が見つからなかった。この作物の祖先型は、そのミトコンドリアのゲノム型において非常に豊富な変異を包含していたものと考えられる。本研究成果の一部は、文献 1 に発表した。

(2) 九州地方のダイズ在来種における遺伝的分化: 島本義也

ダイズ (*Glycine max*) の栽培は、東アジアが中心で、その歴史も古く、栽培の起源地は中国とされている。中国、韓国、台湾、及び、日本では、ダイズを利用した様々な食文化が発達しており、また、多様な栽培法が観察され、それらと結びついた特異的な在来種が各々の地域で多く確立している。九州地方の在来種には、夏ダイズ (夏に成熟) 群と秋ダイズ (秋に成熟) 群の顕著な分化が観察される。評価対象とした生化学的特性を支配する 16 遺伝子座のうち 4 座の対立遺伝子頻度において、両群の間で顕著な差が観察された。これらの 4 座の対立遺伝子の組み合わせからの可能な 16 遺伝子型のなかで、最頻度の遺伝子型は両品種群の間で異なっており、各々 40% 前後と高い。夏ダイズと秋ダイズは異なる起源を持ち、異なった系統群として確立しているものとおもわれる。詳細は、文献 2 に発表した。

(3) ゲノムインプリンティングに関する分子遺伝学的研究: 佐々木裕之, 波多野直哉¹, モハマド・ズバイル¹, 加藤玲子¹ (九州大学遺伝情報実験施設)

哺乳類におけるゲノムインプリンティング (ゲノム刷り込み) 現象の分子機構を明らかにするため、マウスの第 7 染色体遠位部のインプリンティング領域を対象として研究を行っている。我々が対象としている領域には *Ins2*, *Igf2*, *H19* という 3 つのインプリンティングを受ける遺伝子がこの順で 100kb 余りにわたって存在している (前 2 者は父親由来アレルだけ、後者は母親由来アレルだけが発現する)。これまでの研究により不活性な父親由来 *H19* 遺伝子は高度にメチル化されていることが知られていたが、今回このプロモーター領域のメチル化はマウス胚発生過程の着床時に生じることを明らかにした。一方発現に関しては発生の初期から父親由来アレルだけが転写されていることから、プロモーターのメチル化は父親由来アレルの抑制の一次機構ではなく、むしろ安定化機構であろうと推定された。しかしプロモーターのさらに上流には初期発生の時期にもメチル化の違い

を保持している部位があるので、これらが各配偶子から伝達されるインプリント・シグナルである可能性が示唆された。以上の詳細は文献3に発表した。

次に、マウスで *H19* 遺伝子とその上流の合計 13 kb の領域を欠失させると、100 kb 近くも離れた *Ins2* と *Igf2* のインプリンティングが消失することが判明している。つまりこの領域はインプリンティング・ドメインとも呼ぶべき機能単位を形成しており、広い染色体領域にわたる遺伝子制御を明らかにする1つのモデルとなると考えられる。このような制御にはエンハンサー、サイレンサー、インプリンティング・エレメント、インスレーターなどの配列が関与すると思われ、我々はこれらを系統的に同定するため DNaseI 高感受性部位を検索している。これまでにこの領域全体にわたって多数の恒常の高感受性部位と3つの胚特異的高感受性部位を新たに同定した。この詳細は発表講演の4, 5, 7で詳しく報告した。今後はさらに広くかつ詳細に検索を続けるとともに機能解析も開始する予定である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Sato M., Kato S., Mikami T. and Shimamoto Y.: Mitochondrial DNA analysis reveals cytoplasmic variation within a single cultivar of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica*, **83**, 205-208, 1995.
2. Hirata T., Kaneko M., Abe J. and Shimamoto Y.: Genetic differentiation between summer and autumn maturing cultivars of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) in Kyushu district of Japan. *Euphytica*, **83**, in press.
3. Sasaki H., Ferguson-Smith A. C., Shum A. S. W., Barton S. C. and Surani M. A.: Temporal and spatial regulation of *H19* imprinting in normal and uniparental embryos. *Development*, **121**, 4195-4202, 1995.
4. Surani M. A., Ferguson-Smith A. C., Sasaki H. and Barton S. C.: Imprinting of *H19* and *Xist* in uniparental embryos. In "Parental imprinting: causes and consequences" (Ohlsson R., Hall K. and Ritzen M. eds.), pp. 142-156, Cambridge University Press, Cambridge, 1995.

(2) その他

1. 島本義也: 分子標識による飼料作物品種識別. 学術情報, **48**(11), 1237, 1995.
2. 佐々木裕之: インプリンティング研究の最近の進展: 染色体ドメインレベルの転写制御と翻訳されないRNA. 蛋白質・核酸・酵素, **40**, 1956-1957, 1995.
3. 佐々木裕之: ゲノム刷り込み現象. 臨床DNA診断法(古庄敏行・井村裕夫・中込弥男・岡田伸太郎・湯浅保仁・倉田毅編), 22-24, 金原出版, 1995.
4. 佐々木裕之: 章23 分子細胞遺伝学, C. ゲノム刷り込み現象. 人類遺伝学(柳瀬敏幸編), 226-230, 金原出版, 1995.

(3) 発表講演

1. 福士泰史, 山本 門, 大原 雅, 阿部 純, 島本義也: 日本および韓国に分布するツルマメの細胞質ゲノムの分化. 日本育種学会第 87 回講演会, 阿見, 4 月.
2. 島本義也, 富永陽子: ミトコンドリア DNA からみた *Lolium* 属植物の類縁関係. 北海道草地研究会 30 回大会, 札幌, 12 月.
3. 佐々木裕之: ゲノムインプリンティングによるアレル特異的遺伝子制御. 「遺伝子制御ネットワーク」冬のワークショップ, 蔵王, 1 月.
4. 佐々木裕之: ゲノムインプリンティングと染色体の機能ドメイン. 合同シンポジウム「分子生物学の新しい流れ」, 東京, 11 月.
5. 佐々木裕之, 小出 剛, Surani M. A.: ゲノムインプリンティングと染色体の機能ドメイン. 第 18 回日本分子生物学会年会, シンポジウム「核・染色体の構造からとらえた細胞核機能」, 名古屋, 12 月.
6. 植田孝之, 丹羽勝利, 野口基子, 高木信夫, 松田洋一, 藤本弘一, 佐々木裕之, 城石俊彦, 森脇和朗, 川鯨 滋, Chapman V., 芝田英生, 林崎良英: H19 遺伝子で見出されたメチル化インプリンティングの新しい成立機構. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
7. 芝田英生, Plass C., Kalcheva I., Mullins L., Mullins J., Kotelevtseva N., 佐々木裕之, 加藤玲子, 村松正実, 広常真治, 岡崎康司, 林崎良英, Chapman V.: RLGS 法を用いた系統的検索により同定されたマウス第 9 染色体インプリント領域の解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
8. 善岡克次, 中山耕造, 波多野直哉, 佐々木裕之, 山本健一, Karin M.: シグナル伝達分子 JNK の基質特異性に関する解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
9. Zubair M., 下崎康司, 太田浩平, 波多野直哉, 佐々木裕之, 小出 剛: インプリンティングを受けるマウス *Ins2/Igf2/H19* 領域の DNaseI 超高感受性部位の系統的検索. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.

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。各研究室の教官構成に関しては多くの異動があり、新たな気持ちでこれまで以上に活力のあふれる研究センターを作り上げることを目指している。現在の教官構成員は、哺乳動物保存研究室が城石俊彦助教授と小出 剛助手、無脊椎動物保存研究室が林 茂生助教授と後藤 聡助手、植物保存研究室が伊藤幸博助手、微生物保存研究室が西村昭子助教授と金丸研吾助手、遺伝資源研究室が山崎由紀子助教授、発生工学研究室が中辻憲夫教授と白吉安昭助手である。

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」、「形態形成機構の遺伝学的研究」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、昨年度から開始したマウスゲノム解析研究は、今年度も引き続き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に的を絞って、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。平成7年4月1日付けで小出剛氏が助手として赴任し、研究に参加した。

昨年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、枡屋啓志、石島淳子の2名が大学院に在学し、水野健一、佐藤 肇（東北大学医学研究科）が特別研究生として研究に参加した。さらに、吉野正康が日本学術振興会特別研究員として研究に参加した。

本研究室の本年度の共同研究には、米川博通（東京都臨床研）、坂井俊之助（金沢大がん研）、山口泰典（福山大学）、宮下信泉（香川医大）、土屋公幸（宮崎医大）、若菜茂晴（実中研）、前田正人（三島社会保険病院）、河野友宏（東京農大）の8名が、また、嵯峨井知子、内田紀久枝、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。城石俊彦助教授は、11月11日から11月17日まで米国 Ann Arbor 市で開催された第9回国際マウス・ゲノム・カンファレンスに参加し「マウス形態形成の遺伝学的解析」に関する発表を行うのと共に各国の研究者との情報交換を行った。小出助手は、10月12日から10月19日まで英国ケンブリッジ大学の Wellcome/CRC 研究所を訪問し、情報交換を行った。マウス系統の保存事業としては、「系統保存費」及び文部省がん重点研究「実験動物委員会」（山村研一委員長）の援助を受けた。平成7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。

(1) マウス亜種の遺伝的分化

(1-a) Sox 遺伝子によるマウス亜種分化：城石俊彦、内田紀久枝、嵯峨井知子、森脇和郎¹（総合研究大学院大学）

Sox 遺伝子ファミリーは、初期発生過程で発現し転写因子をコードする一群の遺伝子である。このファミリーに属する遺伝子は、Y-染色体上に存在して性決定に関与する *Sry* 遺伝子に始めに見出された DNA 結合ドメインの Sox-box を共通に持っている。Sox 遺伝子ファミリーの内、第 11 染色体上にマップされ *Sry* と同様に精巣形成に働くことが明らかになった *Sox9* 遺伝子と機能が未だに不明な第 1 染色体上の *Sox17* 遺伝子を指標として、野生マウスの各亜種の遺伝的分化を解析した。方法としては、マウス各亜種のゲノム DNA を用いて幾つかの制限酵素断片長の多型 (RFLP) を調べた。この結果、いずれの Sox 遺伝子ともヨーロッパ西部に分布する *domesticus* 亜種とヨーロッパ東部からアジアにかけて広く分布する *musculus* 亜種では明瞭に異なった RFLP を示すこと、また全体として、東南アジアの *castaneus* 亜種やその他のアジア亜種においても *musculus* 亜種と同様な RFLP を示すことがわかった。このように、Sox 遺伝子は亜種を区別するために極めて有効なマーカーになることが明らかとなった。性分化に働く遺伝子が原因となり生殖的隔離が生じこのような遺伝的分化が生じたのか亜種進化との関連についても今後検討してゆく予定である。

(2) マウス減数分裂期遺伝的組換え機構

(2-a) 単一生殖細胞 PCR を用いたマウス減数分裂期組換え時期の同定の試み：水野健一、嵯峨井知子、城石俊彦

減数分裂は、一度の DNA 複製の後 G2 期を経ずに連続して 2 度細胞分裂する分裂である。この分裂のうち第一分裂前期は細胞学的に細糸期、接合期、厚糸期、複糸期、移動期という 5 つの段階に分けられる。この時期のマウス染色体はダイナミックな変動を起こすので顕微鏡下で容易に識別できる。厚糸期には、シナプトネマル複合体と呼ばれる特殊な染色体の対合体が形成され、キアズマという染色体の交差が見られる。このキアズマが組換え中間体の細胞遺伝学的な像であると考えられている。また、接合期から厚糸期にかけて相同染色体間のシナプトネマル複合体上に組換え節と呼ばれる球形の構造体が観察され、この構造体の中で組換えが起こっていると考えられている。この様に細胞遺伝学的見地からマウスの減数分裂期の組換えは第一分裂前期の接合期から厚糸期の間で起こると考えられているが、いまだに決定的な証拠は得られていない。

マウス雌の生殖細胞は雄のそれと違い、ほとんど同調して減数分裂を行う。雌の始原生殖細胞は、10-11 d.p.c. に後腸から生殖丘に入り、そこで体細胞分裂を行い卵祖細胞となる。13 d.p.c. 前後になると卵祖細胞は減数分裂期に入り卵母細胞となり、生後直後から生後 5 日目までの間に卵母細胞は複糸期を終えて細胞分裂を止める。この後、発情期に入りホルモンの影響を受けるまでは分裂を再開しない。このマウス雌の生殖細胞の特徴を生かし、マウス減数分裂期の組換え時期の同定を試みることにした。

マウス MHC クラス領域での減数分裂期の組換えは任意ではなく、ある特定の領域で頻繁に起こることが知られている。組換えが頻繁に起こる領域のことをホットスポットと呼ぶ。抗原分解を担うプロテアソームのサブユニットの一つである *Lmp2* 遺伝子の下流にある *Lmp2* ホットスポットは約 2 kb の非常に狭い DNA 断片であり、この範囲内で約 2%

の高頻度で組換えが起こる。このホットスポットの両端の多型部位にプライマーを設定し PCR することにより、各アレルのホットスポットの DNA 断片を特異的に増幅することができる。その外側の多型の無いところにプライマーを設定すれば両方のアレルまたは組換え体を増幅することができる。様々な発生段階のマウスの雌の卵巣より生殖細胞を単離し、単一細胞を個別にその DNA を鋳型にホットスポットの外側に設定したプライマーで PCR を行う。次に多型のある部位に設定したプライマーでその PCR 産物を鋳型に 2 次 PCR を行い、プライマーの組み合わせで組換え体が存在するかどうかを調べる。この様にして、どの発生段階から組換え体が出現するかを調べることにより、分子生物学的に組換えが起こっている時期を同定することができる。現在、単一の生殖細胞から設定した PCR プライマーを用いてホットスポット部位の DNA を特異的に増幅できることが確認できた。今後、組換え型のアレルが検出できるか否か検討する計画である。

(2-b) MHC クラス II 領域内 *Pb* ホットスポットの構造解析: 磯部 拓, 吉野正康, 小出 剛, 水野健一, 城石俊彦

現在までのところ、哺乳動物において減数分裂期における相同染色体組換えの切断点が塩基配列レベルで組織的に調べられているのは、マウス主要適合抗原複合体 (MHC) のクラス II 以外に例がない。そこでは、組換えは任意に起こるのではなくホットスポットと呼ばれる特定の部位で非常に高頻度に組換えを起こすことが知られている。クラス II 領域において、ホットスポットは 4 つ報告があり、どのホットスポットで組換えが起こるかは、交配に用いるハプロタイプに依存している。例えば、*Eb* 遺伝子内にある組換えのホットスポットでは、多くの場合標準的な実験用近交系マウスどうしの交配において組換えが観察される。*Lmp2* ホットスポットでは、ほとんどの場合 *cas3*, *wm7* と名付けられた野生マウス由来のハプロタイプを交配相手に含むときのみ高頻度で組換えを起こす。また、*Pb* ホットスポットは、*cas4* と名付けられた野生マウス由来のハプロタイプを交配相手に含むと高頻度に組換えを起こす。現在、*Lmp2*, *Eb* 遺伝子近傍にあるホットスポットは塩基配列が決定されていて、比較検討されている。しかし *Pb* 遺伝子近傍にあるホットスポットについては未だ塩基配列が決定されていない。*Pb* 遺伝子近傍にあるホットスポットの塩基配列を決定することは、ホットスポットにおける組換え機構の解明に新たな知見を与えられると思われる。

これまで、当研究室では、*cas4* ハプロタイプを持つマウスを *wm7* ハプロタイプを持つマウスと交配した結果、*Pb* 遺伝子近傍に切断点を持つ組換え体を 6 個体得た。その組換え体を用いた解析から、このホットスポットの領域は最長でも 15 kb であることが明らかとなっていた。今回、その 15 kb の DNA 断片に関して制限酵素地図を作製し組換え切断点をさらに詳細にマップしたところ、組換えが 5 kb 以内の DNA 断片に含まれることがわかった。

(3) マウス形態形成の遺伝的解析

(3-a) マウス中軸骨格異常を示す *Tail-short* (*Ts*) 遺伝子の探索: 小出 剛, 三田旻彦, 内田紀久枝, 若菜茂晴¹, 吉川欣亮², 米川博道², 城石俊彦 (¹実験動物中央研究所 DNA 解

析室,² 東京都臨床医学総合研究所実験動物研究室)

Tail-short (Ts) は約半世紀前に見つかった骨格形成異常を示す優性突然変異である。*Ts* 遺伝子は第 11 番染色体の末端側にマップされ、その領域はヒトにおいて *Ts* と類似した骨格異常を示す遺伝病である *Campomelic Dysplasia (CMPDI)* がマップされている領域と同一性を持つことから *Ts* は *CMPDI* の発症機序を知る上での重要なモデル系になると期待できる。我々はマウスの *Ts* とヒトでの *CMPDI* に関わる遺伝子を明らかにする目的で *Ts* 遺伝子の高密度連鎖解析を行ってきた。その結果 *Ts* 遺伝子はマウス第 11 番染色体遠位部位に位置する 2 つのマイクロサテライトマーカー、D11Mit128 と D11Mit214 に挟まれた 0.2 cM の領域内に存在することが明らかとなった。マウスで 1 cM が約 2 Mb に対応することから *Ts* 遺伝子の位置は約 400 kb の DNA 領域に限定されたことになる。この高密度連鎖地図の情報をもとに酵母人工染色体 (YAC) のゲノムライブラリーをスクリーニングしてこの領域に位置する YAC クローンを 1 つ得ている。現在この YAC クローンから得られたマーカーを用いてさらに細かな *Ts* 遺伝子の位置情報を得るべく解析を続けている。また、*Ts* 遺伝子を単離するために YAC DNA 上に存在する遺伝子を特異的に増幅する cDNA 選択法などの手法を用いて遺伝子のクローニングを行っている。

(3-b) *Tail-short (Ts)* の表現型に関わる修飾遺伝子の探索: 石島淳子, 三田晃彦, 内田紀久枝, 小出 剛, 城石俊彦

Ts のホモ個体では、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。又、ヘテロ個体では、短尾を初めとする全身の骨格形成に異常を示す他、発生初期において頭部形態形成などに異常が生じる。これらの表現型は、遺伝的背景により大きく変化することが観察されており、例えば、*Ts* をヘテロに持つ *Ts^J/Ts/+* 系統と *C57BL/6J* 系統の F1 を *C57BL/6J* 系統に戻し交配した場合、*Ts* 遺伝子の遺伝子浸透度は高くほぼ全ての *Ts/+* 個体は、より激しい表現型を示し致死となりその出生率はほぼ 0% になる。それに対し、*Ts^J/Ts/+* 系統と日本産野生マウス由来の *MSM* 系統の F1 に、*C57BL/6J* 系統を交配した場合、*Ts/+* 個体の表現型はより軽くなり中には野生型に近い表現型のものも出現する。さらに、*Ts/+* 個体の出生率は約 40% までになる。このことは、*Ts* 遺伝子の表現型に影響を及ぼす別の修飾遺伝子が *MSM* と *C57BL/6J* の間で多型的であることを示している。現在、この候補遺伝子のマッピングを目的とした交配を行っている。また、*Ts* の表現型に影響を与える遺伝的背景について、さらに他の遺伝的に離れたマウス系統と交配することによって検討を行っている。

(3-c) *Tail-short (Ts)* を用いた中軸系形態形成の遺伝学的解析: 石島淳子, 三田晃彦, 内田紀久枝, 小出 剛, 城石俊彦

パターン形成の中でも前後軸の形成機構は、発生学における重要な研究課題の一つである。脊椎動物においても領域特異的に発現する遺伝子群が相互作用することで前後軸に沿ったパターン形成を行っている。*Hox* 遺伝子群などがその代表的な例であるが、脊椎動物においては関連する遺伝子群の役割についての報告は依然少ない状況にある。今回、我々は、*Ts/+* 系統の表現型についての詳細な観察を行った結果、椎骨 (頸椎、又は胸椎)

の一部が有意に後方化する現象を発見した。又それに伴い頭部後方域での神経管の形成不全が高率で起こることも明らかとなった。これらのことから、前後軸形成を中心とした中軸系の形態形成の機構を知るために、*Hox* 遺伝子群をはじめとする既知の形態形成遺伝子群と *Ts* 遺伝子の相互作用を明らかにすることを目的とした研究を行っている。

(3-d) マウス四肢前後軸形成の遺伝学的解析: 榎屋浩志, 嵯峨井知子, 若菜茂晴¹, 城石俊彦 (¹実験動物中央研究所 DNA 解析室)

脊椎動物の四肢形態形成において、遠近軸、前後軸それぞれについて、apical ectodermal ridge (AER), zone of polarizing activity (ZPA) が位置情報源として働く。現在では、AER からのシグナル分子として fibroblast growth factor-4 (FGF-4), FGF-2 が働くことがわかっており、ZPA の活性の本体であると考えられる *Sonic hedgehog* (*Shh*) 遺伝子が単離されている。後部 AER と ZPA の間には、正の相互作用があり、双方からのシグナルがないと互いの発現が維持されない。また両方のシグナルの存在下で、*Hoxd* 遺伝子群、*Bmp-2* 遺伝子は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 法による細胞培養、AER の除去により ZPA 活性を持つようになる。しかし、このような肢芽前端部の ZPA 化の鍵となる遺伝子や、ZPA を肢芽後端部に局在させるような遺伝的なメカニズムについては未だ知見が少ない。本研究では、マウスを材料とすることにより、四肢前後軸形成を遺伝学的に解析することを試みた。その利点は、次の通りである。

(1) マウスでは、肢の形態形成異常と考えられる軸前側多指症の突然変異が、多数報告されている。これらの遺伝子は、四肢の形態形成において重要な機能を持っていることが明らかである。それらの遺伝子の機能を解析することで、形態形成のプロセス一つ一つを理解することができる。

(2) 現在では、PCR によって容易に検定できるマウスゲノム上のマイクロサテライト多型マーカーが、6000 以上利用できる。突然変異の染色体上の位置を詳しく調べることにより、その原因遺伝子を同定、単離することが原理的に可能である。

(3) 遺伝的多型を持つ多数の実験用近交系統が確立されている。これらは連鎖解析に有利だけでなく、特定の突然変異の表現型を抑制または増幅し遺伝子浸透度 (penetrance) を変化させることがある。このことを利用して、ある遺伝的カスケードにある突然変異遺伝子と相互作用する新しい遺伝子の存在を明らかにし、それぞれの遺伝子があるカスケードのどこに位置するかについて解析することが可能である。

まず、国立遺伝学研究所において新しく得られ、すでにマウス第 6 染色体近位にマップされた軸前側多指症を示すマウス突然変異体 *Recombination induced mutant 4* (*Rim4*) について詳細なマッピングを試みた。その結果、*Rim4* は *D6Mit175* と *D6Mit187* の間にあり、*D6Mit16*, *D6Mit17*, *D6Mit243*, *D6Mit244*, *D6Mit97* に強く連鎖していた。現在、さらに *B10-MSM* パネルを用いて、これらのマーカーの高密度マッピングを試みている。

次に、*Rim4* と、*Hemimelic extra-toe* (*Hx*), *Extra-toes*¹ (*Xt¹*), *luxate* (*lx*), *Strong's luxoid* (*lst*), *X-linked polydactyly* (*Xpl*) の六つの軸前側多指症を示す突然変異体 (それぞ

れ第 6, 5, 13, 5, 2, X 染色体上にマップされる) について発生生物学的, 分子生物学的解析を行った。これらの突然変異体は肢第一指側に過剰指を形成する。 *Shh*, *Fgf-4* がこれらの突然変異体全てで肢芽前端部に異所的に発現していた。また, 機能欠損型の突然変異 *Xt^l* の原因遺伝子である *Gli3* 遺伝子は肢芽前側中胚葉で発現していた。以上の結果から, これらの突然変異体の多指症が肢芽前端部での異所的な ZPA の形成に起因すること, 肢芽前端部で ZPA 形成を抑制する遺伝的カスケードが存在することが明らかとなった。この結果は, 多くの軸前側多指症が ZPA の重複により形成されるものである可能性を示唆している。

さらに, 遺伝的背景が軸前側多指症の発現頻度に与える影響について検討を行った。 *Rim4* ヘテロの多指症の発現率が, 遺伝的背景により変化することに注目し, 多指症の抑制効果の最も顕著である MSM 系統のゲノムに局在する多指症の抑制に関与する遺伝子(ここでは *Rim4* レスキュー遺伝子と呼ぶ)のマッピングの試みた。また他の軸前側多指症において MSM 系統との交配によるレスキューがみられるか否かを検討した。さらに, *Rim4* マウスにおける *Gli3* の発現の検討を行った。この結果, *Rim4* レスキュー遺伝子として, 第 2 染色体上の *D2Mit13* 近傍, 第 15 染色体上の *D15Mit2* 近傍の二つの候補遺伝子座を特定した。また MSM 系統との交配は *Hx*, *Xt^l*, *lx*, *lst* の表現型をいずれもレスキューするが, *Xpl* を全くレスキューしないこと, *Rim4* ホモにおいて *Gli3* が正常に発現していることを明らかにした。 *D2Mit13* 近傍には, 本研究で用いた軸前側多指症突然変異の一つである *lst* が位置している。 *Rim4* レスキュー遺伝子が *lst* であるとする, このことは *lst* が *Rim4* の下流にある可能性を示唆しており, *lst* ヘテロの多指症を MSM 系統がレスキューすることもこれを支持する。これらの結果から, *Xt(Gli3)-Rim4-lst-Xpl* という遺伝的カスケードが肢芽前端部での *Shh* 発現抑制を制御している可能性が示唆される。

(4) 新しい実験用マウス系統の開発

(4-a) マウスマウス・コンソミック系統の作成: 城石俊彦, 三田彦彦, 高田京子, 内田紀久枝, 若菜茂晴¹, 米川博道² (¹実験動物中央研究所 DNA 解析室, ²東京都臨床医学総合研究所実験動物研究室)

マウス遺伝学ではマウスの高次機能や様々な疾患に対する遺伝因子を解析する手段として多数の近交系統や突然変異系統が作成されてきた。また, 特定の遺伝子領域の機能を解析するため研究対象とする遺伝領域のみが異なり他の遺伝的背景が共通であるようなコンジュニック系統も開発されてきた。問題とする個体レベルでの形質の連鎖解析を進めるためには二つの異なる系統の F1 雑種を出発点とする兄妹交配によって育成するリコンビナント・インブリード (Recombinant Inbred; RI) 系統も多数育成され利用されてきた。しかし, RI 系統では, 異なった二つの系統間の染色体の交換が計画的ではないため, 問題とする形質を支配する染色体を特定するためには多数の系統が必要となり場合によっては染色体マッピングが困難である。以上述べた問題は, コンジュニック系統と RI 系統の利点を合わせ持った実験素材が開発されれば解決する。この要望に答えるための新しいマウス系統がコンソミック系統である。二つの系統が一つの染色体全域について異なった由来を

持ち他の遺伝的背景が共通である場合、これらの二つの系統を互いにコンソミック (Con-somic) な状態にあると言いこれらの系統は、コンソミック系統と呼ばれている。この語源は、コンジェニック (Congenic) 系統等で用いられている遺伝的背景が共通であるの意の接頭後“Con-”に、異なった染色体を持っているという意味で Chromosome からの接尾語“-somic”を結合した合成語である。コンソミック系統の作成は、RI 系統の場合と異なり供与 (ドナー) 系統の特定の染色体に注目して計画的に染色体受容 (レシーピエント) 系統に戻し交配を繰り返して導入する。マウスは、合計 21 種類の異なった染色体 (19 本の常染色体+X, Y) を持っているからコンソミック系統 1 セットは、最低でも合計 21 のマウス系統で構成される。この 21 種類の系統によって供与系統の染色体は完全にカバーされている。供与系統と受容系統間で異なった表現型を示す遺伝形質について、この 21 種類の系統についてタイピングすれば瞬時に問題の形質を支配する染色体を特定することが可能である。コンソミック系統を作成する際には供与系統と受容系統間の遺伝的多型性が可能な限り大きいことが望ましい。そうすることでコンソミック系統を用いて解析できる遺伝形質の範囲が拡大される。また、コンソミック系統を基にした連鎖解析においてより詳細な遺伝子地図の作成も可能となる。この点を考慮して受容系統としては、標準的な近交系マウスである C57BL/6 を、供与系統としては日本産野生マウス系統由来の近交系マウスである MSM 系統を用いて新しいコンソミック系統の作成を開始した。マイクロサテライト DNA マーカーを調べたところ実験用近交系マウスと MSM 系統の間には、任意のマイクロサテライトで調べた結果、約 85% のマーカーで両者に多型が検出された。このように MSM 系統と実験用近交系マウスの間には大きな遺伝的多型性が存在することが明らかとなっている。現在、各染色体毎に最低 5 つのマイクロサテライト遺伝子座について各世代においてタイピングすることによって MSM 系統の染色体を C57BL/6J 系統の遺伝的背景に導入している。

(5) マウスゲノム解析

(5-a) NOD マウスにおける糖尿病感受性遺伝子に関する研究: 若菜茂晴¹, 伊藤 守¹, 佐藤健人², 垣生園子², 森脇和郎³, 城石俊彦 (¹実験動物中央研究所 DNA 解析室, ²東海大学医学部, ³総合研究大学院大学)

多因子疾患である I 型糖尿病 (IDDM) のモデル動物である NOD マウスでは、詳細な連鎖解析によって Idd-1-Idd-16 までの糖尿病感受性遺伝子がマウスゲノム上にマップされている。我々は、これまで第 3 染色体にマップされた Idd-3 と、第 11 染色体にマップされた Idd-4 の糖尿病発症における作用について解析を行なうため、これらの領域に日本産野生マウス由来の MSM 系統の染色体領域を導入したコンジェニックマウス系統を作出してきた。その結果、MSM 系統の持つ Idd-3 遺伝子座は、NOD/Shi 由来の遺伝子座に比べ糖尿病発症を抑制することが明らかになった。次に、NOD/Shi を背景に MSM 由来の Idd-3 および Idd-4 の両遺伝子をもつダブルコンジェニックマウスを作出し、これらの遺伝子の糖尿病発症における相互作用を解析したところ、このマウスでは Idd-3 のみに MSM 由来の遺伝子座をもつマウスよりも有意に Insulinitis の発症頻度が高く、なおかつ

Insulinitis の程度も烈しかった。この症状を指標にしてダブルコンジェニックマウスを用いて Idd-3 を詳細にマッピングしたところ、IL-2 を含む 1.1 cM 以内に位置することが明らかになった。そこで MSM 系統の IL-2 遺伝子を RT-PCR の後、ダイレクトシーケンスを行ったところ、第 1 エクソンのグルタミンをコードする CAG リピートの数が、NOD/shi マウスの 8 個に対して、MSM 由来のマウスは 14 個であることが明らかになった。

さらに NOD/shi. および MSM のリンパ球を採取し、ConA で刺激後その培養上清を用いて IL-2 依存性マウス細胞株 HT-2 に対する 3H-チミジンの取り込みを測定したところ、MSM 由来の IL-2 活性が NOD/shi に対して有意に高い値を示した。以上の結果は、糖尿病感受性遺伝子 Idd-3 が IL-2 である可能性を示している。現在、NOD/shi マウスにおける IL-2 の機能について検討中である。

(5-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 II: 嵯峨井知子, 小出 剛, 田上憲次郎¹, 石黒誠一², 森脇和郎³, 若菜茂晴⁴, 城石俊彦 (¹東京都臨床医学総合研究所循環器研究部, ²東北大学医学部眼科教室, ³総合研究大学院大学, ⁴実験動物中央研究所 DNA 解析室)

H-2. wm7 ハプロタイプは MHC 領域の減数分裂期に特定の部位で高頻度に遺伝的組換えを起こす。この *wm7* ハプロタイプ由来する H-2 内組換え体に複数生じた自然突然変異 (RIM) の一つ *rim2* 毛色突然変異体の解析を進めている。*rim2* 遺伝子が第 13 染色体上にマップされている *pe* (*pearl*) の対立遺伝子であることはすでに報告した。*pearl* や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 病 (SPD) と類似した異常を示すことが知られている。最近、*rim2* の血小板について複数のアゴニストによる凝集能および ATP 放出量が正常型に比べ著明に減少していることが明らかになり、*rim2* もヒトの血小板 storage pool 病のモデル動物になりうる事が示された。

rim2 と MSM の戻し交配による連鎖解析の結果、第 13 染色体上の二つのマイクロサテライトマーカーが 1570 の戻し交雑個体で *rim2* と組換えを起こさないことがわかった。この *rim2* 遺伝子座に極めて近接していると考えられる二つのマーカーについて YAC ライブラリーのスクリーニングを行ない、それぞれのマーカーを含む YAC クローンを得た。これらについては FISH 法によって第 13 染色体上のみシグナルを観察し、キメラクロンでないことを確認した。さらにポジショナルクローニングを行なう目的でこれらに近接するとみられる他の複数のクロンを分離し、YAC contig の作成を続けている。また *rim2* と組換えを起こさないマーカーを含む YAC クローンについては *rim2* ホモ個体を宿主としたトランスジェニックマウスを作成し、*rim2* 変異の rescue 実験を行なう計画である。

(5-c) *Rim3* 遺伝子の染色体マッピングおよび組織学的検討: 佐藤 肇, 榎屋啓志, 若菜茂晴¹, 嵯峨井知子, 森脇和郎², 城石俊彦 (¹実験動物中央研究所 DNA 解析室, ²総合研究大学院大学)

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様物質過形成を示す。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/10-*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 *D11Mit14*, *D11Mit124*, *D11Mit197* に強く連鎖すること、ケラチン type1 遺伝子 (*Krt-1*) が、これらのマイクロサテライトマーカーの近傍に位置することがわかった。*Krt-1* は少なくとも 11 種類存在することが予想され、それらのケラチンの分布は比較的详细に知られている。これにしたがって皮膚、毛包、角膜で発現しているケラチン 10, 12, 14, 16, 17 遺伝子を調べているが、現在のところケラチン 10, 12 遺伝子の変異でないことは明らかとなった。また、第 11 番染色体上のこの付近には *Rim3* と似た表現型を示す突然変異体 *Bsk* (bare skin), *Re^{den}* (Rex denuded) が報告されており、*Rim3* と *Rex^{den}* に対して角膜のヘマトキシリン-エオシン染色を施行したところ角膜上皮の肥厚、上皮下の細胞の集簇およびケラチン様物質の過形成が同様に認められた。今後は *Bsk* も含め免疫組織化学的にも検討をする予定である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Tanooka H., Ootsuyama A., Shiroishi T. and Moriwaki K.: Distribution of the p53 pseudogene among mouse species and subspecies. *Mammalian Genome*, **6**, 360-362, 1995.
2. Yoshino M., Sagai T., Fischer Lindahl K., Toyoda Y., Moriwaki K. and Shiroishi T.: Allele-dependent recombination frequency: Homology requirement in meiotic recombination at the hotspot in the mouse major histocompatibility complex. *Genomics*, **27**, 298-305, 1995.
3. Masuya H., Sagai T., Wakana S., Moriwaki K. and Shiroishi T.: A duplicated zone of polarizing activity (ZPA) in polydactylous mouse mutants. *Genes & Dev.*, **9**, 1645-1653, 1995.
4. Yoshino M., Sagai T., Moriwaki K. and Shiroishi T.: Meiotic recombination at the *Lmp2* hotspot tolerates minor sequence divergence between homologous chromosomes. *Immunogenet.*, **43**, 80-82.

(2) その他

なし

(3) 発表講演

1. 城石俊彦: マウス MHC 領域内組換えと高頻度突然変異. 第 24 回日本医学会総会シンポジウム, 4 月 9 日, 名古屋.
2. 城石俊彦, 三田旻彦, 内田紀久枝, 若菜茂晴, 吉川欣亮, 米川博通, Koopman P. and Balling R.: マウス骨格異常突然変異 Tail-short (Ts) の遺伝解析. 第 28 回日本

- 発生生物学会, 5月30日, 名古屋.
3. 柘屋啓志, 嵯峨井知子, 若菜茂晴, 森脇和郎, 城石俊彦: ZPAの重複によって起こるマウス遺伝性多指症. 第28回日本発生生物学会, 5月30日, 名古屋.
 4. 城石俊彦: 野生マウスDNAレポジトリとその利用, 日本学術会議主催シンポジウム「生物遺伝資源としてのDNAレポジトリ」, 9月8日, 東京.
 5. 城石俊彦, 吉野正康, 嵯峨井知子, 水野健一: マウスMHC全領域における組換え部位の分布: 遺伝的多型性と組換えのホットスポット. 第10回遺伝的組換えとその制御ワークショップ, 函南, 10月30-11月1日.
 6. Masuya H., Sagai T., Wakana S., Moriwaki K. and Shiroishi T.: Polydactylous mouse mutants with a duplicated zone of polarizing activity(ZPA). 9th International Mouse Genome Conference, Ann Arbor, Michigan, Nov. 12-16, 1995.
 7. Kikkawa YA., Gangadharan U., Wakana S., Kohara Y., Okamoto M., Matsuda Y., Kominami R., Moriwaki K., Shiroishi T. and Yonekawa H.: Genetic and physical mapping of the js gene on mouse chromosome 11. 9th International Mouse Genome Conference, Ann Arbor, Michigan, Nov. 12-16, 1995.
 8. Toyonaga T., Hattori M., McMurray A., Lund T., Yoshino M., Moriwaki K. and Shiroishi T.: Intra-MHC recombinant NOD mice at class I K region failed in development of type I diabetes. 9th International Mouse Genome Conference, Ann Arbor, Michigan, Nov. 12-16, 1995.
 9. Wakana S., Katakai Y., Shiroishi T., Moriwaki K., Maruyama C. and Nomura T.: Interaction of Non-MHC susceptibility genes to IDDM in mice. 9th International Mouse Genome Conference, Ann Arbor, Michigan, Nov. 12-16, 1995.
 10. 城石俊彦: 骨形成異常突然変異(Ts)マウスの原因遺伝子のクローニング. 第12回日本疾患モデル学会総会シンポジウム, 11月18日, 岡山.
 11. 小出 剛, Aiscough J, Barton S, 城石俊彦, Surani A.: YACトランスジェネシス法を用いたマウス発生過程での遺伝子発現調節機構の解析. 第18回日本分子生物学会年会, 12月6日, 名古屋.
 12. 柘屋啓志, 嵯峨井知子, 小堀綾乃, 若菜茂晴, 森脇和郎, 城石俊彦: マウス肢ZPAの局在化機構の遺伝学的解析. 第18回日本分子生物学会年会, 12月9日, 名古屋.
 13. 嵯峨井知子, 小出 剛, 若菜茂晴, 吉川欣亮, 米川博通, 遠藤真理, 田上憲次郎, 石黒誠一, 玉井 信, 松田洋一, 森脇和郎, 城石俊彦: MHC領域内組換え体由来するrim2突然変異の分子遺伝学的解析. 第18回日本分子生物学会年会, 12月8日, 名古屋.
 14. 若菜茂晴, 片貝祐子, 野村達次, 河野厚子, 丸山千佳, 森脇和郎, 城石俊彦: NODマウスにおけるNon-MHC糖尿病感受性遺伝子の解析. 第18回日本分子生物学会年会, 12月9日, 名古屋.

F-b. 無脊椎動物保存研究室

遺伝実験生物保存研究センター無脊椎動物保存研究室は、本年度になり研究室の一部改修が行われようやく本格的な研究を開始する事が出来た。まず平成7年4月に後藤聡が国立精神・神経センター研究所より赴任した。また日本学術振興会特別研究員、布施直之、名古屋大学大学院学生、八木克将、総合研究大学院大学学生、亦勝実穂、大阪府立大学大学院生、亦勝和が研究に参加し、文部技官原田和昌、実験補助員鈴木恵子、大藪陽子の技術的支援を得た。以上の人員によりショウジョウバエの発生遺伝学の研究を展開した。また系統保存事業としてショウジョウバエの系統の充実を図った。従来保持していた野生型系統に加えて多くの発生異常の変異を収集している。これらのリストは国内の研究者に向けてはハードコピーを郵送し、また最新のリストを容易に検索できるようにインターネットでアクセスできるようにした（遺伝資源研究室山崎由紀子助教授の協力による）。その結果、系統の請求件数は大幅に増加している。林、布施は平成7年4月、米国アトランタで行われた米国ショウジョウバエ学会に参加し、布施が発表を行った。

(1) ショウジョウバエの翅の形成機構：布施直之、広瀬 進¹、林 茂生（¹物質遺伝研究部門）

昆虫の翅は多様な形態をとり、飛翔を可能にする事で爆発的な種分化を可能にして来た。翅の発生的、進化的起源を理解する事は昆虫の形態の進化を理解する鍵となると思われる。我々が研究を続けてきた転写因子 *Escargot* (*Esg*) とその類似因子 *Snail* (*Sna*) は共に胚発生において成虫の翅の原基の細胞で発現していた。そこで *Esg*, *Sna* の翅発生における役割を検討した所、*esg* 及び *sna* の単独変異体では翅発生は正常に進行するのに対して、*esg sna* 二重変異体では翅原基が形成されない事を見出した。翅形成の初期過程の時間的経過を追跡したところ翅予定細胞の誘導は起こるが、その後翅原基特有の形態を持った細胞が観察されず、また細胞死もみられない事から翅予定細胞は翅の代わりに幼虫の表皮細胞としての運命をたどったと考えられた。この結果より *Esg* と *Sna* は翅原基の発生運命の維持に、重複した役割を担っている事が明らかとなった。*Esg*, *Sna* の発現を *esg*, *sna* の単独及び二重変異体で調べると、各々の遺伝子の発現には自分自身と相互の活性化が働いている事がわかった。この自己、相互の活性化作用によりいったん *Esg*, *Sna* が発現を開始すると安定に持続するので、*Esg* *Sna* による発生運命の維持機構をうまく説明する事が出来る。また体全体で強制的に発現させた *Esg*, および *Sna* は翅予定細胞においてのみ翅形成を回復させた。以上の結果より翅発生には翅予定細胞の誘導の段階と、*Esg*, *Sna* による発生運命の維持の二段階に分けられる事が明らかとなった。詳細は文献4に発表した。

(2) 初期胚における脚、翅原基の誘導機構：後藤 聡、林 茂生

ショウジョウバエの脚、翅の原基は胚発生6時間目頃に、ホメオボックス遺伝子 *Distal-less* (*Dll*) を発現する細胞群を共通の前駆体として形成される事がCohenらの研究によって示されている。*Dll* の発現は液性シグナル分子 *Wingless* (*Wg*) と *Decapentaplegic* (*Dpp*) の発現が重複する位置に見られることからこれらの二つの分子が脚、翅原基の誘導

に働いている可能性が示唆されていた。我々は翅のマーカーとして *Sna*, *Esg*, 脚のマーカーとして *Dll*, *Esg* を利用して *Dpp* による脚, 翅の誘導機構を解析した。*Dpp* の受容体の変異体を利用して *Dpp* シグナルを弱めると中程度のシグナル強度では翅マーカーの発現のみが失われ、*Dpp* シグナルが更に低下すると脚の基部のマーカーである *Esg* の発現も失われる事がわかった。また *Dpp* のシグナルを通常以上に増大させてやると逆に翅原基の細胞数が増大した。これらの結果より *Dpp* の誘導作用について以下のモデルを提出した。低濃度の *Dpp* に応答して脚の末端部が、中程度の *Dpp* 濃度に応答しては脚の基部が、そして高濃度の *Dpp* に対して翅が形成されると考えられた。これは *Dpp* が濃度依存的に多様な細胞分化を誘導するモルフォジェンであるとする以前の研究結果を支持するものである。

(3) *Escargot* と *Cdc2* による多倍体化の阻害機構: 林 茂生

ショウジョウバエの幼虫では成虫予定細胞を除いてほとんどの細胞が細胞分裂なしに DNA 合成を続けて多倍体化する。成虫予定細胞が二倍体を保っているのは *Esg* による多倍体化の阻害による事がこれまでの我々の研究によりわかっている。*Esg* 変異により多倍体化する細胞の性質を調べてみると G2 期においてはサイクリンと *Cdc2* の複合体が高レベルで蓄積している。そこで *Cdc2* の変異体を調べてみると通常二倍体の細胞が多倍体化している事がわかった。つまり *Cdc2* には以前から知られている細胞周期の進行に関わる機能に加えて、G2 期において DNA 合成を積極的に阻害している事が新たに明らかになったのである。*Esg* に依存して二倍体を維持している腹部ヒストブラストは核に高レベルのサイクリン A を蓄積していた。この蓄積は *Esg* 変異体では消失し、腹部ヒストブラストは多倍体化した。また *esg* と *cdc2* は遺伝的相互作用を示した。以上の結果から *Esg* の機能は G2 停止細胞でサイクリン A と *Cdc2* の複合体を蓄積させ、その結果多倍体化の阻害が起こることが強く示唆された。詳細は文献 3 に発表した。

(4) 気管の上皮ネットワークの融合における *Esg* の役割: 亦勝実穂, 林 茂生, 上村 匡¹, 小田広樹¹, 竹市雅俊¹ (¹京都大学)

昆虫の呼吸器である気管系は体内に広く分布した管状の上皮細胞のネットワークで、受動的な空気の拡散によりガス交換を可能にしている。気管の形成は外胚葉が陥入した袋状の前駆体が分枝し、となり同士の枝と融合してネットワークを形成する。融合する枝の先端には tip cell と呼ばれる細胞が同定されており、枝の伸展と融合に重要な役割を果たしていると考えられている。

融合における tip cell の役割を調べるため、融合の様子を tip cell に発現する *Esg* と細胞接着因子 *DE*-カドヘリンをマーカーとして調べた。tip cell は融合に先立って擬足を相手方に向かって伸ばした。擬足同士が接触するとその界面に *DE*-カドヘリンが蓄積し、その後擬足が短縮すると共に tip cell の中を気管の内腔 (lumen) が貫通して融合が完成した。上村らは *DE*-カドヘリンが気管の融合に必須である事を示している。従って融合に先立つ *DE*-カドヘリンの蓄積が、気管ネットワークの形成という組織の構築に積極的に関与している事が明らかとなった。

次に tip cell の機能に対する Esg の役割を調べるため esg の変異体の表現型を調べた。esg の null 変異体では擬足の伸展と接触までは正常に進行するが DE-カドヘリンの蓄積は起こらず擬足は他の方向を目指して長く伸展して行った。Esg を熱ショックプロモーターを用いて強制的に発現させると DE-カドヘリンは tip cell の接触面に蓄積し、気管の融合は完全に回復した。これらの結果は Esg が tip cell の接触の際の運動低下と DE-カドヘリンの蓄積に必須である事を示している。

(5) 形態形成運動と遺伝子発現マーカーとしての GFP 融合遺伝子の開発: 志賀靖弘¹, 亦勝実穂, 林 茂生 (¹現東京薬科大学)

昨年度に引き続き、クラゲの蛍光蛋白 green fluorescent protein(GFP) を効率良く発現させる試みを行った。核移行シグナルを付加した GFP と β -ガラクトシダーゼの融合蛋白質は強い蛍光を発し、胚、幼虫の二倍体細胞で検出が可能であった。この蛋白を胚の気管系で発現させ、コンフォーカル顕微鏡で観察すると気管の枝の分枝、融合の様子を生体内で連続的に観察する事が出来た。詳細は文献 2 に発表した。

(6) *escargot* 遺伝子の発現制御領域の解析: 八木克将, 林 茂生

esg の多様な機能の基盤はその組織、時期特異的な発現にある。*esg* の発現制御機構を解明するために遺伝子上流のエンハンサーを解析した。*esg* 転写開始点より上流 60 kb までを調べて神経系、気管系先端細胞、脚成虫原基、生殖原基、気門の発現に十分なエレメントを同定した。その中で胚の神経外胚葉における発現制御を更に解析した。神経上皮において Esg はまず片側二本の縦縞として発現を開始する。その後各体節の後部区画において発現が消失して格子状のパターンをとる。この発現パターンは神経前駆細胞の出現の位置とよく一致する。神経上皮のエレメントを分割すると中央側の発現のみに十分な領域が同定された。以上の結果より神経上皮の分割はまず背腹軸方向から起こり、続いて前後軸方向の分割が起こる事が示唆された。また背腹軸方向のシグナルに応答する部位特異的なエレメントが存在する事がわかったのでより詳細な解析を進めている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Sawamoto K., Okabe M., Tanimura T., Hayashi S., Mikoshiba K. and Okano H.: *argos* is required for projection of photoreceptor axons during optic lobe development in *Drosophila*. *Developmental Dynamics*, **205**, 162-171, 1996.
2. Shiga Y., Tanaka-Matakatsumi M. and Hayashi S.: A nuclear GFP/ β -galactosidase fusion protein as a marker for morphogenesis in living *Drosophila*. *Development, Growth and Differentiation*, **38**, 99-106, 1996.
3. Hayashi S.: A Cdc2 dependent checkpoint maintains diploidy in *Drosophila*. *Development*, **122**, 1051-1058, 1996.
4. Fuse, N., S. Hirose and S. Hayashi: Determination of wing cell fate by the *escargot* and *snail* genes in *Drosophila*. *Development*, **122**, 1059-1067, 1996.

5. Uemura T., Oda H., Kraut R., Hayashi S., Kataoka Y. and Takeichi M.: Zygotic DE-cadherin expression is required for processes of dynamic epithelial cell rearrangement in the *Drosophila* embryo. *Genes and Development*, **10**, 659-671, 1996.

(2) その他

1. 林 茂生: ショウジョウバエの発生遺伝学を拓く. *化学*, **51**, 43-45, 1996.

(3) 発表講演

1. Fuse N., Hirose S. and Hayashi S.: Function of *escargot* and *snail* during *Drosophila* imaginal disc development. 36th Annual *Drosophila* Research Conference, Atlanta, U.S.A., April.
2. 林 茂生: ショウジョウバエ *escargot* と *cdc2* 遺伝子による二倍体の維持. 日本発生生物学会第28回大会, 愛知, 5月.
3. 布施直之, 広瀬 進, 林 茂生: 成虫原基形成における *escargot* と *snail* の役割. 日本発生生物学会第28回大会, 愛知, 5月.
4. 林 茂生: 成虫原基の発生運命をたどる. 日本ショウジョウバエ研究会第2回研究集会, 京都, 8月.
5. 赤勝実穂, 林 茂生: 気管形成における *escargot* の役割. 日本ショウジョウバエ研究会第2回研究集会, 京都, 8月.
6. 八木克将, 林 茂生: *escargot* 遺伝子の cis 領域解析. 日本ショウジョウバエ研究会第2回研究集会, 京都, 8月.
7. 上村 匡, 小田広樹, Kraut R., Campos-Ortega J., 林 茂生, 竹市雅俊: DE カドヘリンの上皮のパターン形成における機能. 日本ショウジョウバエ研究会第2回研究集会, 京都, 8月.
8. 林 茂生: 成虫原基の発生運命をたどる. 第13回筑波昆虫科学シンポジウム, 茨城, 9月.
9. Fuse N. and Hayashi S.: Determination of wing cell fate by the *escargot* and *snail* genes in *Drosophila*. The 6th Naito Conference, Gifu, November.
10. Goto S. and Hayashi S.: The early development of *Drosophila* imaginal discs. The 6th Naito Conference, Gifu, November.
11. 布施直之, 林 茂生: ショウジョウバエにおける翅の起源と *esg/sna* 遺伝子. 第18回日本分子生物学会年会, 愛知, 12月.
12. 後藤 聡, 林 茂生: ショウジョウバエ成虫原基の初期発生の解析. 第18回日本分子生物学会年会, 愛知, 12月.
13. 赤勝実穂, 上村 匡, 小田広樹, 竹市雅俊, 林 茂生: さまよえる Tip Cell—ショウジョウバエ気管のネットワーク形成. 第18回日本分子生物学会年会, 愛知, 12

月.

14. 八木克将, 広瀬 進, 林 茂生: ショウジョウバエ *escargot* 遺伝子の *cis* 制御領域. 第 18 回日本分子生物学会年会, 愛知, 12 月.

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事業を目的としてきた. しかし, 研究スタッフの不在が続き, 保存系統の維持・管理・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きた. 平成 7 年 4 月より伊藤幸博が助手として着任し, 上記研究・事業に加え, イネを用いて植物の胚発生に関する分子遺伝学的研究を始めた.

(1) イネの胚発生関連遺伝子の構造と機能の解析: 伊藤幸博

植物の胚発生の遺伝的制御機構は, 胚が極めて小さいうえに何層もの細胞の内側で起こるため, これまでほとんど明らかにされてこなかった. そこで, イネを用い胚発生時に発現する遺伝子の単離を行なった. まず微量組織の cDNA ライブラリー作成法を用い, 3 種類のイネ受精後 3 日胚の cDNA ライブラリー (通常の cDNA ライブラリー, PCR cDNA ライブラリー, 固定化 cDNA ライブラリー) を作成した. PCR cDNA ライブラリーは, 微量の cDNA 全体を PCR 法により増幅し, ラムダファージに組み込んだものである. 固定化 cDNA ライブラリーは, 全 cDNA を金属樹脂に結合させたものである. これらのライブラリーよりイネ, トウモロコシ, シロイヌナズナのホメオボックス遺伝子をプローブとして数個のクローンを得た. また, ホメオボックスに保存された配列に相当するプライマーを用い, 固相化 cDNA ライブラリーを鋳型としていくつかの PCR 断片を得た. これらのことよりイネの胚発生にもホメオボックス遺伝子が関与している可能性がある.

研究業績

(1) 原著論文

1. Usami S., Banno H., Ito Y., Nishihama R. and Machida Y.: Cutting activates a 46-kilodalton protein kinase in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 8660-8664, 1995.
2. Shibata W., Banno H., Ito Y., Hirano K., Irie K., Usami S., Machida C. and Machida Y.: A tobacco protein kinase, NPK2, has a domain homologous to a domain found in activators of mitogen-activated protein kinases (MAPKKs). *Mol. Gen. Genet.*, **246**, 401-410, 1995.

(2) その他

1. 伊藤幸博: 植物の遺伝子発現. 長田敏行・内宮博文編 講談社サイエンティフィック, 講談社, 1995.

(3) 発表講演

なし

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5テーマの研究を行った。これらの研究は、西村昭子(助教授)、鶴飼英樹(総研大D2)、渡辺菜穂子・西森加奈・蓼沼磨貴(東邦大)、小林恭子・笹沼明美・倉富一興(東京医大)、守家成紀(奈良先端大)、鈴木啓子・植村 薫・上山清子(実験補助員)により行った。

本年度の研究は、文部省科学研究費特定研究“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。

本研究共同研究として、次の3件を受け入れ実施した。(1)大腸菌の細胞分裂に於けるGlycyl-tRNA合成酵素の役割(自治医大・山田優子)、(2)大腸菌の細胞周期に於けるAp₄Aとその結合タンパクの役割(東京医大・小林恭子・笹沼明美)、(3)大腸菌の細胞分裂に関与する遺伝子群の解析(東大・松沢 洋・上原 剛)。

[大腸菌の細胞分裂の時間的制御機構の研究]

普通、細胞分裂が停止すると細胞増殖が停止し死滅する。細胞分裂過程を解析しようとする時、一般には“細胞の狭窄そのものが細胞の生存にとって重要である”という大前提の基に、まず温度感受性変異株を分離する。細胞分裂の温度感受性変異株(*fts*)は、高温(41℃)で培養すると、各々固有の長さのフィラメント細胞となり死滅する。しかし必ずしも細胞分裂の初期過程の変異株は早く死滅し、後期課程の変異株は長いフィラメントに成長する迄生存しているという訳ではない。培養温度を低温(30℃)に戻した時増殖が復帰し得る変異株かどうかという事と、41℃で長いフィラメントになる変異株かどうかという事も必ずしも相関関係がない。大腸菌の細胞分裂遺伝子は凡そ百数十存在すると考えられている。私達は、細胞分裂遺伝子を全てマップしようとして、広田の温度感受性変異株バンクに、大変興味深い事実を見出した。1,000株のTs変異株についてふるい分けをした処、細胞分裂(*fts*)に欠損を持つ変異株は、全体の46%であった。ところがDNA合成(*dna*)や核分離(*par*)に欠損を持つ変異株も全て細胞分裂が停止する。ともかく直接であれ間接であれ、細胞分裂が停止する変異株を全て数え上げると、全Ts変異株の80%にも昇る。遺伝子座についても、*fts*遺伝子がクラスターを形成している例はあまり見当たらない。むしろ全く異なる遺伝子群とシストロンを形成している事の方が多いのである。細胞分裂は、「隔壁形成それ自身が重要な過程で、細胞周期の中で独立に進行している」というよりは、「多くの細胞分裂遺伝子が、細胞増殖の為に重要な過程と係わりをもっている」のではないかと思われる。実際私達は、約40の遺伝子から構成されている鞭毛レギュロンのマスター・オペロンの転写が、細胞分裂の初期調節過程の制御を受けている事を明らかにした(Nishimura and Hirota, 1989, Mol. Gen. Genet., 216, 340-346)。細胞周期の時間の問題の一つの捉え方として、「細胞分裂との相互識別を介して、増殖過程の整合性が保たれ

ている」という仮説の基に以下の研究を行った。

(1) 細胞分裂の時期決定に関与する因子 Ap_4A : 笹沼明美, 小林恭子, 倉富一興, 西村昭子

DNA 複製の進行を認識する機構に欠陥を持つ為、分裂時期を制御できず、1.3-1.5 倍過剰に分裂するようになった変異株 *cfcAI/glyS* 及び *cfcBI/apaH* 変異株の解析を行い、これらの変異株では Ap_4A の細胞内レベルが上昇している事、また Ap_4A 分解酵素をコードする遺伝子の多コピー化により、*cfc* 変異による過剰分裂は抑制される事から、細胞分裂の時期決定に Ap_4A が関与している事を昨年迄に明らかにした。DNA/mass, cell number/OD₆₀₀ 等の cell parameter を詳細に測定した結果、*cfc* 変異株は、DNA 複製終了前に、細胞分裂開始のシグナルが早くでる変異株である事が解った。また *cfcAI/glyS* 変異株の細胞内 Ap_4A レベルの上昇は、 Ap_4A 合成量の増加によるのか、あるいは Ap_4A 分解活性の減少によるのかを検討する為に、*cfc* 変異株の菌体抽出液の硫酸沈殿画分を用いて *in vitro* での分解活性を測定した。分解活性は、 $[^3H]$ Ap_4A と反応後、 $[^3H]$ Ap_4A の減少量及び分解生成物の放射活性の増加量の測定から得た。その結果、*cfcAI* 変異株と親株 *cfc⁺* 株では、反応時間と共に同じ速度で Ap_4A が分解された。しかし *cfcBI* 変異株では、 Ap_4A の分解活性は全く観察されなかった。従って *cfcBI/apaH* 変異株の細胞内 Ap_4A レベルの上昇は、 Ap_4A 分解活性の欠損によるが、*cfcAI/glyS* 変異株では、 Ap_4A 分解酵素の欠損でも合成量の減少でもなく、 Ap_4A の合成量が増加していると言える。 Ap_4A は *in vitro* では、幾つかのアミノアシル-tRNA 合成酵素により、アミノ酸活性化過程での逆反応により合成される。しかし *in vivo* では、アミノアシル化の阻害作用や、アミノアシル-tRNA 合成酵素の遺伝子・tRNA の構造遺伝子・修飾遺伝子・プロセッシング遺伝子等の変異株、何れも Ap_4A を合成した例は無く、*in vivo* での合成様式については解っていない。真核細胞では、細胞周期の G1/S 期に Ap_4A の細胞内レベルが 100 倍上昇する事や、 Ap_4A の注入により *in vivo* での DNA 複製が開始する事等が知られているが、*in vitro* での DNA 複製をエンハンスしない事から、その作用機構についても興味深い未解決の問題である。 Ap_4A の細胞内合成様式と作用機構を明らかにする為に、引き続き *glyS* の変異点と Ap_4A 合成との相関関係、遺伝学的及び生化学的アプローチによる Ap_4A の標的蛋白の探索を行っている。

(2) 大腸菌の増殖の整合性を制御する遺伝子: 鶴飼英樹, 守家成紀, 西村昭子

大腸菌の *ftsU349* 変異株は、41℃の培養温度条件下で、細胞分裂が停止し、同時に細胞当たりの DNA 含量が増加する。この条件で、細胞質は約 3 世代相当分増加した後停止し、コロニーを形成できない。*ftsU* 遺伝子領域の塩基配列を解析した処、4 種の ORF が重なって存在していた。各 ORF の発現ベクターへのクローン化、site-directed mutagenesis による単独 ORF のみ発現するクローンの作成により、一つの ORF を特定した。この ORF から推定される *ftsU* 遺伝子は、未知の遺伝子であった。予想アミノ酸配列からも特徴的な情報は得られなかった。しかし *ftsU* 遺伝子を *neo* 遺伝子の挿入により破壊すると増殖は阻害された。更に *ftsU349* 変異遺伝子の多コピー化は、野生株の細胞分裂と増殖を

著しく阻害した。従って *ftsU* 遺伝子は、細胞増殖過程に必須である。そこで *ftsU* 遺伝子の機能を推定する為の常套手段として、*ftsU349* のマルチコピー・サブレッサー *sunU* を分離解析した。塩基配列と相補性テストの解析から推定した *sunU* 遺伝子も未知の遺伝子であった。また *sunU* 遺伝子は、破壊してもコロニーを形成する事から、細胞の増殖に唯一必須の遺伝子ではない。しかし *sunU* 遺伝子の多コピー化は、*ftsU349* 変異株の他に、 H^+ の排出に欠損を持つと思われる幾つかの変異株を抑制する事が解った。そこで *sunU* 遺伝子の多コピー化は、 H^+ の排出に関与するか解析した。アンカプラーを用いて、野生株に H^+ イオンを強制流入すると増殖が阻害されるが、*sunU* 遺伝子を多コピー化すると、増殖阻害は抑制された。従って *ftsU349* 変異による欠損は、なんらかの理由で H^+ 排出機能の低下をもたらしている事が推定された。*ftsU* 遺伝子と *sunU* 遺伝子の、細胞の増殖過程での機能を推定する為に、細胞周期の中での発現パターンと、*ftsU*、*sunU* 両遺伝子の二重破壊株の性質、*ftsU349* 変異株での遺伝子発現パターンの変動等の解析を行っている。

(3) リポ多糖合成と細胞分裂遺伝子転写の共役：西森加奈，西村昭子

細胞分裂の温度感受性変異株 *ftsK830*、*ftsK1167* は、*kdsA* 遺伝子のアリアルである事を昨年迄に報告した。*kdsA* 遺伝子は、KDO-8-リン酸合成酵素をコードしている。従ってこれらの *fts* 変異株では、外膜の30%を占めるリポ多糖が減少し、膜の不安定化を引き起こしている事が予測された。増殖の限界温度 36°C に於ける、各種薬剤に対する感受性の確認実験を行った処、膜構造の変化が、単に膜蛋白の局在性だけに影響を与えているのではない事が示唆された。膜構造の変化が、遺伝子の転写に影響を与えている可能性を推定し、まず *ftsK830* 変異株とその親株について、分裂遺伝子 *ftsZ* の転写量測定の為の予備実験を行った。 41°C 、50分培養後にRNAを分離し、ドット・ハイブリダイゼーションにより定量した。その結果この条件で、*ftsK830* 変異株の *ftsZ*-mRNA量は、親株の1/2に減少していた。上記の結果は、*ftsK830* および *ftsK1167* 変異を、野生株 MG1655 に形質導入した株でも同じ結果を示した。引き続き膜構成成分の合成と細胞分裂がどのような分子機構で共役しているか追求している。

(4) 細胞分裂の頻度を決定する遺伝子：蓼沼磨貴，西村昭子

MT1 変異株は、 30°C では正常に増殖し桿菌となるが、 41°C で培養すると約2倍の頻度で細胞分裂し有核のミニ細胞となる。培養液中に短いフィラメント細胞も存在する事から、MT1 変異株では、分裂の位置を細胞の中央と両端の計3ヶ所から、ランダムに2ヶ所を選んでいと考えられる。フィラメントの核含有量は、野生株より高かった。マッピング解析と温度耐性復帰変異株の解析から、1. MT1 変異株は、*cfcMI* 変異と X^- 変異を持つ事、2. 過剰分裂の温度感受性は、*cfcMI* 変異による事、3. 増殖の温度感受性は、*cfcMI* と X^- の二重変異による事が解った。DNA合成を阻害すると普通細胞分裂が停止するが、MT1 変異株のDNA合成を阻害しても分裂は継続した。細胞分裂の頻度を決定する分子機構を明らかにする為、*cfcM* 遺伝子の構造解析を始めた。*cfcM* 遺伝子は、細胞内コピー数が数個のプラスミドにクローン化した場合でも、細胞にとって有害である。

(5) 低 pH 条件下での細胞分裂：鵜飼英樹，渡辺菜穂子，鈴木啓子，西村昭子

cpcA58 変異株は pH5.8 の培養液中, cAMP 依存的に, 41°C で細胞分裂がほぼ完全に停止し, 多核の長いフィラメントを形成する. この条件で, 細胞は約 3 時間生存し細胞の長さは約 40 倍となり, その後急速に死滅する. *cpcA58* 株は, テトラサイクリン (Tc) 耐性遺伝子を導入しても, Tc 耐性を示さなかった. この Tc 耐性の低下は cAMP 依存的に増加した. Tc 耐性遺伝子のコードする TetA 蛋白は, H⁺ と交換に Tc を排出するアンチポーターである事が知られている. 一方アンカプラーを用いて, 野生株の菌体内に H⁺ を多量に送り込むと生育阻害が起こるが, この生育阻害は, *cpcA58* 株のマルチコピーサプレッサー *sunN* によって回復した. 以上の結果から, *cpcA58* 株は, cAMP 依存的に, H⁺ の排出機構に欠損を持つ事, その結果細胞内外の ΔpH が減少し, 結果的に Tc の排出が不能とならしい事が推測された. また ΔpH が減少すると, 低 pH 条件下では, 水素イオン駆動力は非常に低下する事が知られている. 従って, *cpcA58* 変異株は, 水素イオン駆動力を必要とする分裂蛋白の局在に影響を与えている事が, 可能性の一つとして予測される.

以下の, 野生環境 (腸内, 低温) における大腸菌適応応答系の分子機構解析は金丸研吾 (助手), 金丸京子 (海洋科技センター) が行った.

本年度の研究は, 文部省科学研究費奨励研究 (A) "拡散性シグナル因子ホモセリンラクトンの大腸菌における合成系と作用系の解析" (金丸) の支援を受けた.

(6) 一次胆汁酸脱水素酵素遺伝子 *hdhA* の SdiA と σ^{38} による転写の独立二重制御: 金丸研吾, 金丸京子¹ (海洋科学技術センター深海微生物研究グループ)

SdiA は, 大腸菌細胞分裂装置遺伝子 *ftsQAZ* オペロンの *ftsQp2* に特異的な転写活性化因子として報告された. 一次アミノ酸配列上 SdiA は, *Vibrio*, *Erwinia*, *Pseudomonas* 属などグラム陰性細菌にみられる細胞濃度依存的転写系を制御する LuxR ファミリーに属する. LuxR ファミリーはホモセリンラクトンを共通骨格とする拡散性シグナル因子の結合により活性化されることが明らかになりつつある. こうした quorum sensing 機構は例えば菌体外プロテアーゼなどの構造遺伝子を一齐に発現してより効果的に高等動物へ感染, 侵入するための細胞間情報伝達系として機能している. そこで我々は, 大腸菌 SdiA の機能解析を進めるにあたり, SdiA が *ftsQAZ* 以外にも何らかの酵素遺伝子発現に関与している可能性を検討した. その結果, *ori-ts* ランナウェイプラスミド (pSY343) による *sdiA* の超多コピー化によって 7 α -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ (7 α -HSDH) が菌体内に大量に蓄積することをみつけた. 7 α -HSDH は腸内に分泌された一次胆汁酸を二次胆汁酸に変換 (脱水素) する酵素である. 期待通り, 7 α -HSDH の構造遺伝子 *hdhA* の転写には *sdiA* 依存性が認められたが, さらに興味深いことに *hdhA* の転写は増殖定常期特異的 σ 因子 (*rpoS*, σ^{38}) にも依存していた. 両因子による転写は約 30 bp 離れた位置から別々に開始しており, 対数増殖期には SdiA 依存的な *hdhA* 転写が増加を続け, 定常期直前にこれが激減し, かわって σ^{38} による転写が一過的に起こることで, 対数増殖期から定常期にかけて総転写量が 20~30 倍に増加することが判明した. さらに *sdiA* 自身の転写は *rpoS* に依存せず, *sdiA* の欠失, 多コピー化によっても *rpoS* 依存的な転写量は変化しなかった. したがって *hdhA* は両因子によって独立二重制御を受けていることが示唆され

た。しかし各種胆汁酸に *hdhA* の転写誘導効果はなく、*sdiA* 欠失株、*rpoS* 欠失株、さらに *sdiA/rpoS* 二重欠失株のいずれからも胆汁酸耐性の低下は観察されなかったことから、*SdiA* 活性化の分子機構と転写の二重制御の生理的意義は今後の課題である。一方、*ftsQAZ* オペロンにおいても *sdiA* 依存性 *ftsQp2* の下流の *ftsQp1* が *rpoS* 依存性であることが確認され、一見無関係な一次胆汁酸脱水素酵素と細胞分裂装置の合成が共通の転写制御を受けていることが明らかとなった。腸内環境における大腸菌の適応応答を探る上で、有力な足がかりとなることが期待される。詳細は講演 8, 10 で発表した。

(7) 大腸菌の新規低温誘導性遺伝子 *cspG* の同定: 金丸京子¹, 金丸研吾, 堀越弘毅¹ (海洋科学技術センター深海微生物研究グループ)

大腸菌を 10-15 度の低温環境にさらすと、数時間のラグタイムののち生育が再開する。この間細胞内では 10 種以上のタンパク質が合成誘導されることが生化学的に示唆されている。我々は、大腸菌の低温適応の分子機構を探る新たなアプローチとして、低温下での特異的遺伝子発現上昇を指標に低温誘導性遺伝子の検索を行った。pJAK4 プラスミド上のプロモーターレスのアンピシリン耐性遺伝子の上流に大腸菌クロモソーム DNA 断片をショットガンクローニングし、低温 (15 度) 培養下でアンピシリンに耐性で、高温 (30-37 度) では依然感受性を示すクローンを複数取得した。そのひとつをさらに解析した結果、この断片は染色体上 21 分にマップされ、これまで大腸菌で 6 分子種が知られた *csp* ファミリー (*cspA, B, C, D, E, F*) に属する新規遺伝子 (*cspG*) が同定された。低温誘導性 *csp* には *cspG* の他に *cspA* と *cspB* が知られており、CspA, B, G はアミノ酸一次配列に 70% 以上の一致が見られる。さらに ATG コドン上流の塩基配列についても *cspG* は *cspB* とよく似ており、転写開始点とプロモーター周辺領域では特に相同性が高い。*cspG*-mRNA 量は *cspA, B* と同様、低温ショック後約 2 時間で最大となり、4 時間後にはショック前のレベルに戻る一過性を示した。低温ショックで合成量が増加する RNA 分解酵素遺伝子 *pnp* を欠失させた株では、*cspG*-mRNA 量の顕著な増加が見られたが、速やかに減少するパターンは変わらず、*cspG* は発現そのものが低温ショックに対して一過性であることが示唆された。今後、*cspABG* 三重変異株の構築による Csp の機能解析、低温下での転写誘導の分子機構解析を進める予定である。詳細は講演 9, 11 で発表した。

研究業績

(1) 原著論文

なし

(2) その他

なし

(3) 発表講演

1. Nishimura A., Ukai H. and Yamada Y.: Molecular Mechanism that that Deter-

- mine the Timing of Cell Division in *Escherichia coli* K12. Workshop on Structure, Function and Controls in Microbial Division. Madrid (Spain), May.
2. Nishimura A., Ukai H. and Yamada Y.: Molecular mechanisms determining the timing of cell division in *E. coli*. Meeting in honor of Lucien Caro "DNA replication and transposition" Morzine (France), September.
 3. 鶴飼英樹, 守家成紀, 西村昭子: 大腸菌の増殖過程を制御する遺伝子 *ftsU* と *sunU* 遺伝子の解析. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
 4. 笹沼明美, 小林恭子, 倉富一興, 西村昭子: Ap_4A と Ap_4A 結合タンパク質の細胞分裂周期への関与の可能性. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
 5. 蓼沼磨貴, 西村昭子: 大腸菌の細胞分裂の位置と頻度を定める遺伝子. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
 6. 西森加奈, 西村昭子: 大腸菌の膜構造の安定性と細胞分裂. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
 7. 渡辺奈穂子, 鈴木啓子, 鶴飼英樹, 西村昭子: 低pH条件下の細胞分裂を制御する遺伝子. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
 8. 金丸研吾, 金丸京子: 大腸菌 *ftsQAZ* オペロンの転写調節と *SdiA* の機能. 日本農芸化学会1995年度大会, 札幌, 8月.
 9. 金丸京子, 金丸研吾, 堀越弘毅: 大腸菌の低温誘導性プロモーターの単離と同定. 日本農芸化学会1995年度大会, 札幌, 8月.
 10. 金丸研吾, 金丸京子: 大腸菌 *SdiA* は *ftsQAZ* だけでなく胆汁酸脱水素酵素の転写も活性化している. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
 11. 金丸京子, 金丸研吾, 堀越弘毅: 大腸菌の低温ショックタンパク質をコードする *csfG* 遺伝子発現の解析. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.

F-e. 遺伝資源研究室

平成6年9月以来空席であった助教授に5月1日付けで山崎由紀子が着任し, 10月には研究補佐員斎藤真理が加わった.

当研究室はこれまでに国内の生物系統情報の収集, カタログ出版およびその配布を研究事業として行っていたが, 今年度は「カタログ出版」を全廃し, anonymous ftp サーバーや WWW サーバーを立ち上げて「インターネットによる情報公開」を開始した.

7月には, 当研究所哺乳動物保存研究室・城石助教授および脊椎動物保存研究室・林助教授の協力により, マウスおよびショウジョウバエの所内保存系統情報のインターネットによる公開を開始した. また京都工繊大・山本助教授の協力により全国のショウジョウバエの保存系統情報が収集され, フォーマットの統一はなされていないものの9月には情報公開を実現できた.

コムギ系統情報については, 9月に横浜市立大学木原生物学研究所の系統情報を, 続いて11月には京都大学生殖質研究所の系統情報をそれぞれ公開することができた. 山崎は

総合研究(B)「コムギ類の遺伝実験システムの保存とそのネットワーク構築に関する企画調査」(代表者: 福井県立大学・常脇恒一郎教授)の班会議にオブザーバーとして出席し、文部省所轄機関における全コムギ保存システム情報のデータベース構築を担当することになった。データ収集のためのフォーマット統一段階からプロジェクトに参画することができたので、情報公開のみならず、インターネット上での情報更新システムの運営にも各保存事業担当者の協力を得ることができ、系統資源情報の本格的なデータベースの第一号として今年度末に完成の予定である。

また微生物遺伝研究部門の安田助教授の協力により、クローニングベクターデータベースの公開も12月に開始した。

文部省所轄機関のイネ系統資源情報は、北大・木下名誉教授や当研究所育種遺伝研究部門の森島教授によって情報収集は完了しており、蓄積したハードコピーをもとにデータベースを作成中である。今年度末公開の予定である。

当研究室では生物種の違いを越えて検索が可能となるような「統合型系統資源情報データベースの研究」を行っている。今年度は特にコムギとイネの資源情報が充実したので植物をモデルに、関係データベース管理システムSYBASE上にデータベーススキーマを作成中である。

また「生体分子情報データベース」構築を目指して「知識情報の記述法に関する研究」を開始した。

研究業績

(1) 原著論文

なし

(2) その他

なし

(3) 発表講演

なし

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」、試験研究B「哺乳類胎仔生殖細胞の操作による遺伝子導入技術の開発研究」、重点領域研究「生殖細胞の特質」の公募課題「マウス胎仔生殖細胞の分化制御機構に関する研究」、重点領域研究「がん生物」の公募課題「がん遺伝子導入マウス胚由来神経系幹細胞の増殖・分化に関する研究」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。さらに中辻は科学技術庁の科学技術振興調整費による総合研究「臓器・組織再生システムのための基盤技術の開発」の中で研究題目「初期胚細胞系列に由来する幹細胞の制御機構の研究」を担当した。

(1) マウス生殖細胞の発生分化機構: 中辻憲夫, 白吉安昭, 小清水右一¹, 大久保 悌², 川瀬栄八郎³, 渡部美穂⁴, 田村 勝² (¹学振ポスドク研究員, ²総研大大学院生, ³遺伝研受託研究員, ⁴広島大特別研究学生)

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。哺乳類における胎仔生殖細胞の増殖と分化という重要な現象に関する研究は, 最近になってようやく進展が開始した。その理由としては, これまで始原生殖細胞を分離して培養下で解析する実験が不可能だったことが大きい。我々の研究室ではこれまでに, 始原生殖細胞の体外培養系を確立して, TNF- α , レチノイン酸(文献1), BRL細胞の培養上清(文献5)が増殖促進に関与することや, 生殖巣に到着後の生存増殖にとってサイトカインレセプター gp130 が重要な機能を果たしている(文献4)ことを見いだすとともに, 未分化幹細胞に転換して増殖を継続する細胞コロニーがいわゆるEG細胞として出現する条件としてこれまでに知られているbFGF以外に細胞内cAMPレベルやレチノイン酸の関与でも引き起こされることを発見した(文献4)。また始原生殖細胞の培養下における増殖とその停止が細胞自律的にプログラムされていることを詳細なクローン培養などによって明らかにした(文献3)。一方, 生殖細胞や生殖巣の発生分化に関わる遺伝子機構の解析や生殖細胞の遺伝子操作手法の開発にアプローチするために, 培養下で増殖させた胎仔生殖細胞に遺伝子導入を行う方法を検討した結果, 10~20%の生殖細胞での一過性発現を確認できるまでに至っている。

(2) 神経系分化などに関わる遺伝子機構: 白吉安昭, 中辻憲夫, 湯浅喜博¹ (¹鳥取大特別研究学生)

マウス着床後胚では中枢神経系原基の形成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進展している細胞運命決定と分化の分子遺伝学的研究を, 哺乳類胚を対象として進展させようとしている。これまで, 着床後の各発生段階におけるマウス胚からのcDNAライブラリーの構築, Embryonal carcinoma幹細胞株のひとつであるP19細胞の未分化状態と神経細胞への分化誘導状態において発現が特異的に変化する遺伝子の検索などを行ってきた。これらによって, 神経系などの胚細胞分化にとって重要と思われる新たな遺伝子の発見とクローニングを目指している。これまでの成果としては, ショウジョウバエの神経分化に関わる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った。その結果 cDNA の全構造を明かにするとともに、その発現がマウス胚の血管系発生の開始時から血管壁に分化する細胞に特異的に見られることを明かにした。これまでのところ中胚葉細胞から血管系が分化する段階で機能している可能性が大きい。

(3) 中枢神経系幹細胞の発生分化機構：中辻憲夫，白吉安昭，大久保 梯¹，Shokunbi M. T.²，浜 太郎³（¹総研大大学院生，²文部省外国人研究員，³遺伝研研究生）

脳神経系の発生における各種神経・グリア細胞形成の細胞系譜や分化機構については極めて未知の点が多い。神経系の細胞を実験材料とするひとつの障害は培養下において容易に使用でき、しかも胎仔中枢神経系中に存在する細胞との性質が大きく異なる細胞株が殆ど存在しないことである。そこで、中枢神経系が発生する最も初期の原基に存在するはずの初期幹細胞から細胞株を樹立して、培養下での細胞分化を解析すると同時に胎仔脳内へ戻した場合の生体内での発生運命を解析することによって、神経系細胞の増殖分化と脳神経系発生の機構解明を目指している。これまでのところ、細胞株樹立に使用する温度感受性の SV40 ウイルス T 抗原遺伝子を導入したトランスジェニックマウスのコロニーを十分な匹数まで繁殖させた。この不死化がん遺伝子 T の発現はインターフェロンによって誘導可能であることに加えて、細胞は 33℃または 39℃の温度条件で培養することによって遺伝子活性を制御できる。このマウス系統の 8-9 日齢胚から切りだした中枢神経系原基の細胞を、33℃でインターフェロン γ 添加条件で培養して継代することによって、いままでに多数の細胞株を樹立することに成功した。これらの細胞については神経系幹細胞で発現しているとされる数種類のマーカー遺伝子を発現していることを確認した。さらにこれらの細胞株の培養下および胎仔脳内へ注入後の分化能についての解析を行っている。

(4) 脳皮質発生における神経細胞移動パターンの制御機構：中辻憲夫，Shokunbi M. T.¹，永田 功²，小野勝彦³（¹文部省外国人研究員，²東京都神経研，³岡山大（現所属島根大）

脳の発生に伴う組織構築機構について、我々が 1989 年に初めて報告した中枢神経系の神経細胞に特有な「直交性コンタクトガイダンス」が脳発生における神経細胞の移動制御に果たしている役割と、極めて特異的な細胞運動様式としての運動機構について解明することを目的として研究を進めている。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」を発見して様々な方向からの研究を行ってきた。さらに、小脳皮質や大脳皮質など実際の脳組織の発生過程で「直交性コンタクトガイダンス」が細胞移動のガイド役として働いているかどうかを解析している。

研究業績

(1) 原著論文

1. Koshimizu U., Watanabe M. and Nakatsuji N.: Retinoic acid is a potent growth activator of mouse primordial germ cells *in vitro*. *Devel. Biol.*, **168**, 683-685,

1995.

2. Ilic D., Furuta Y., Kanazawa S., Takeda N., Sobue K., Nakatsuji N., Nomura S., Fujimoto J., Okada M., Yamamoto T. and Aizawa S.: Reduced cell motility and enhanced focal adhesion contact formation in cells from FAK-deficient mice. *Nature*, **377**, 539–544, 1995.
3. Ohkubo Y., Shirayoshi Y. and Nakatsuji N.: Autonomous regulation of proliferation and growth arrest in mouse primordial germ cells studied by mixed and clonal cultures. *Exp. Cell Res.*, **222**, 291–297, 1996.
4. Koshimizu U., Taga T., Watanabe M., Saito M., Shirayoshi Y., Kishimoto T. and Nakatsuji N.: Functional requirement of gp130-mediated signaling for growth and survival of mouse primordial germ cells *in vitro* and derivation of embryonic germ (EG) cells. *Development*, in press.
5. Kawase E., Shirayoshi Y., Hashimoto K. and Nakatsuji N.: Combined effects of the Buffalo Rat Liver Cell (BRL-cell) conditioned medium, forskolin and membrane-bound stem cell factor accomplish rapid proliferation of mouse primordial germ cells *in vitro* comparable to that *in vivo*. *Devel. Growth Differ.*, in press.

(2) その他

1. 永田 功, 中辻憲夫: 脳皮質構造の形成機構とニューロンの移動パターン. 蛋白質核酸酵素, 臨時増刊号「分子から高次脳機能へ—脳の階層性をふまえて」(編者: 二木宏明・田中啓治・宮本英七・佐竹 明・中辻憲夫), **40**, 755–767, 1995.
2. 中辻憲夫: 哺乳類 ES 細胞の起源と性質. 蛋白質核酸酵素 臨時増刊号「トランスジェニック動物」(編者: 山村研一・勝木元也・相沢慎一・中辻憲夫), **40**, 2008–2012, 1995.
3. 湯浅喜博, 白吉安昭: Notch. *Bioscience 用語ライブラリー*, 羊土社, 100–101, 1996.

(3) 発表講演

1. 大久保 梯, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウス始原生殖細胞における自律的増殖制御の培養系を使った解析. 日本発生生物学会第 28 回大会, 名古屋, 5 月.
2. 小清水右一, 田賀哲也, 中辻憲夫: マウス始原生殖細胞の増殖・分化過程において gp130 が果たす役割とその意義について. 日本発生生物学会第 28 回大会, 名古屋, 5 月.
3. 渡部美穂, 小清水右一, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウス胎仔生殖細胞の体外培養系における遺伝子導入. 日本発生生物学会第 28 回大会, 名古屋, 5 月.
4. 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. 日本発生生物学会第 28 回大会, 名古屋, 5 月.

5. 大久保 悌, Shokunbi M. T., 永田 功, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウス胚神経上皮からの細胞株樹立と培養下及び脳組織内での分化能の検定. 日本発生生物学会第28回大会, 名古屋, 5月.
6. Nakatsuji N., Koshimizu U., Kawase E., Ohkubo Y., Watanabe M. and Shirayoshi Y.: Factors to regulate growth and differentiation of mouse primordial germ cells studied *in vitro*. EDBC'95 Congress of the European Developmental Biology Organisation, Toulouse (France), July.
7. Nakatsuji T., Yamamoto H. and Nakatsuji N.: Establishment of cell lines from the yolk sac blood islands of transgenic mouse embryos expressing an immortalizing gene. EDBC'95 Congress of the European Developmental Biology Organisation, Toulouse (France), July.
8. 渡部美穂, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウス始原生殖細胞への遺伝子導入による増殖と生存制御機構の解析. 日本分子生物学会第18回年会, 名古屋, 12月.
9. 湯浅喜博, 中辻憲夫, 白吉安昭: マウス Notch 相同遺伝子 int-3 の単離とその発現様式. 日本分子生物学会第18回年会, 名古屋, 12月.
10. 大久保 悌, Shokunbi M. T., 永田 功, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウス胚神経上皮由来細胞株 NIS の培養下および脳組織内での分化能の解析. 日本分子生物学会第18回年会, 名古屋, 12月.

G. 遺伝情報研究センター

センターの概略

当センターは、遺伝情報分析研究室と遺伝子機能研究室が4月1日付けで新たに発足した生命情報研究センターに移ったため、構造研究室・組換え研究室・合成研究室・遺伝子ライブラリー研究室内の4研究室となった。空席であった合成研究室の助教授には8月15日付けで兵庫教育大学より白木原康雄が着任し、研究を開始した。総合研究大学院大学の第7期生として4月に武内昌哉（組換え研究室）が入学して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、オリジナルな手法をもちいて行っている。

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、学術振興会奨励研究員久堀智子（7月まで）、当研究所非常勤研究員加畑博幸、総合研究員大学大学院3年鎌田勝彦2年高岸 雅、NEDO派遣研究員竹内 実（12月より）とで行なわれた。

遺伝研客員教授森川耿右（蛋白質工学研究所）、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、柞淵 隆（東京薬科大学）、荒牧弘範（第一薬科大学）が参加した。また前年に引き続いて、堀内恵美が研究を補佐した。

- (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短鎖 RNA の解離現象 (abortive initiation) を中心に行った。

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課程は、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 *P. Putida* の CamR リプレッサーの 1 分子ダイナミクス：嶋本伸雄、加畑博幸、黒沢 修、鷲津正夫、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た。この方法を用いて、*P. Putida* の CamR リプレッサータンパク質も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。

また、蛍光を用いて、CamR リプレッサーに対するインデューサー d-camphor の結合を測定し、ホモダイマーである CamR リプレッサーの両方の結合部位にインデューサーが結合することが必須であることが示され、通常のヘリックス・ターン・ヘリックスモチーフの相対距離や配置を変えて DNA から解離する結合蛋白質と異なる可能性を示した。

(3) 転写における RNA ポリメラーゼのコンフォーメーション変化のタンパク質フットプリンティングによる検出：永井宏樹、高岸 雅、嶋本伸雄

転写複合体の立体構造の変化は、従来は DNA フットプリンティングで求めた DNA に

対する相対位置変化でのみで議論され、尺取虫運動などのモデルが提案されてきた。近年開発された蛋白質フットプリンティングは、蛋白質側の変化を同定するもので、蛋白質ドメインの機能を同定するには必須の技術である。そこで大腸菌 RNA ポリメラーゼの各サブユニットに C 末あるいは N 末に HMK タグや Strept タグをもつ融合体を作って、再構成を行い、転写中のコンフォメーション変化を求めることを始めた。この結果 σ サブユニットの 3.2 領域が open complex 形成に伴い、よりヒドロキシラジカルの攻撃から保護されることが分かった。

(4) 大腸菌複製終結点結合蛋白質 (Tus) と DNA 複合体の結晶構造解析: 鎌田勝彦, 森川耿右¹, 嶋本伸雄 (核酸化学研究部門)

Tus 蛋白質は、大腸菌複製終結点 *Ter* に結合して、複製装置のヘリカーゼの特定の方向への進行を阻害して、複製を終結させる。Tus 蛋白質・*Ter* DNA の複合体を結晶化し、2.7 Å オングストローム分解能で構造を決定した。DNA 結合モチーフは β リボン的であり、major groove に結合していた。この β シートアームは、N 末と C 末の両ドメインに伸びている。ヘリカーゼの進行を止める側には、2つの突起が存在しており、この蛋白質の方向特異性との関連を示唆した。この研究は、堀内 嵩・大住克史 (基生研) と Dmitry G. Vassylyev (蛋工研) との共同研究である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Aramaki H., Kabata H., Shimamoto N., Sagara Y. and Horiuchi T.: Purification and characterization of a cam repressor (CamR) for the cytochrome P450cam hydroxylase operon on the *Pseudomonas putida* CAM plasmid. J. Bacteriol., **177**, 3120-3127, 1995.
2. Washizu M., Kurosawa O., Arai I., Suzuki S. and Shimamoto N.: Applications of Electrostatic Stretch-and-Positioning of DNA. IEEE Trans. on Indst. Appl., **31**, 447-456, 1995.
3. Kubori T. and Shimamoto N.: A branched pathway in the early stage of transcription by *Escherichia coli* RNA polymerase. J. Mol. Biol., in press.

(2) その他

1. 加畑博幸, 嶋本伸雄: DNA 上にある蛋白質 1 分子のダイナミクス. 生物物理, **35**, 43-45, 1995.

(3) 発表講演

1. Shimamoto N.: Movements of proteins on DNA. Developments in Photosensors and Neurobiology, Hamamatsu, 2月.
2. Shimamoto N.: Immobilization of proteins and DNA. Indo-Japan Workshop

“Gene Transcription in Prokaryotes” Hyderabad, India, 3月.

3. Shimamoto N.: Dynamic feature of interaction between *P. putida* CamR repressor and DNA: sliding and specificity. FASEB Conference “Transcription initiation in prokaryotes” Saxton River, USA, 7月.
4. 嶋本伸雄, 加畑博幸, 荒牧弘範, 黒沢 修, 鷺津正夫: DNA と蛋白質の結合の動態. 日本生物物理学会, 札幌, 9月.
5. 加畑博幸, 荒牧弘範, 黒沢 修, 鷺津正夫, 嶋本伸雄: リプレッサーの DNA 結合モードを制御するインデューサーの分子機構. 日本生物物理学会, 札幌, 9月.
6. 嶋本伸雄, 加畑博幸: DNA とそれに結合する蛋白質の運動可視化解析: DNA 上における蛋白質 1 分子の運動の蛍光顕微鏡観察. 日本電子顕微鏡学会シンポジウム, 札幌, 10月.
7. 嶋本伸雄: 核酸と蛋白質のナノバイオロジー. 公開シンポジウム「RNA 情報のフロンティア」東京, 11月.
8. 加畑博幸, 荒牧弘範, 黒沢 修, 鷺津正夫, 嶋本伸雄: インデューサーによる DNA-リプレッサー間の動的結合と静的結合との転換機構. 日本分子生物学会, 名古屋, 12月.
9. 鎌田勝彦, 堀内 高, 大住克史, Dimitry G. Vassilyev, 嶋本伸雄, 森川耿右. 大腸菌複製終結点結合蛋白質 (Tus) と DNA 複合体の結晶構造解析. 日本分子生物学会, 名古屋, 12月.
10. 永井宏樹, 高岸 雅, 嶋本伸雄: 蛋白質フットプリンティングによる転写複体の解析. 日本分子生物学会, 名古屋, 12月.
11. 久堀智子, 嶋本伸雄: 転写調節における Moribund 仮説: Abortive trapping の積極的役割. 日本分子生物学会, 名古屋, 12月.

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, COE 非常勤研究員・川上 穰 (5月より, 3月まで東京大学大学院理学系研究科大学院生), 大学院生・菱田竜一 (京都大学大学院理学系研究科), 鈴木教郎 (総合研究大学院大学生命科学研究科), 藤原 学 (同), 研究補佐員・杉浦麻理子に, 平成7年4月より大学院生・武内昌哉 (総合研究大学院大学生命科学研究科) が加わった. また, 技術課所属の技官・浦崎美佐子の助けを受けた (11月まで). 本年度は文部省科学研究費より, 重点領域研究 (細胞周期) (I) 「分化増殖スイッチの分子機構」 (代表者: 桂), 総合研究 (A) 「生命の複雑さと歴史性をとらえる多対多の論理の構築」 (代表者: 金子邦彦 (東大・教養), 班員: 桂), 重点領域研究 (神経可塑性) (I) 「可塑性を制御する遺伝子の探索」 (代表者: 野田 亮 (京大・医), 班員: 石原), 奨励研究 (A) 「線虫 *C. elegans* の神経分化や回路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) フッ素イオン耐性変異の解析: 川上 穰, 武内昌哉, 浦崎美佐子, 石原 健, 桂 勲

フッ素イオンは, *in vitro* ではカルシウムイオン, ホスファターゼ, 三量体Gタンパク質など, シグナル伝達の成分と相互作用することが知られている. 我々は, 新しいシグナル伝達系を発見する目的で *C. elegans* のフッ素イオン耐性変異株を分離・解析している. 我々の分離した13個のフッ素イオン耐性変異は劣性の変異で, 5つの新しい遺伝子 *flr-1*–*flr-5* に位置する. この内, 強耐性変異体はクラス1遺伝子 (*flr-1*, *flr-3*, *flr-4*) に変異を持ち, 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, 弱耐性変異体はクラス2遺伝子 (*flr-2*, *flr-5*) に変異を持ち, 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). 強耐性変異は脱糞周期が短く (Washington 大 J. H. Thomas らによる), *flr-2* 以外の変異が合成 dauer 構成性 (下記 (3) 参照) 表現型を示す. また下記のように, 一部の變異は走化性異常を示す. したがって, これらの変異はみな神経系を異常にするらしい.

flr 遺伝子群による制御系の分子機構解明のために, *flr-1* と *flr-3* の遺伝子と cDNA をクローニングした. *flr-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ので, イオン・チャンネルをコードするらしい. 一方, *flr-3* は, 全長 cDNA をクローニングしたところ, ATP 結合部位の共通配列を欠きキナーゼドメインと, その C 末端側に疎水性の強いドメインを持つ, キナーゼ様分子をコードしていた.

本年に行った研究は以下の通りである. 遺伝子地図と物理地図を見比べた結果, *flr-4* 遺伝子の位置がコスミドクローン約 10 個分に限定されていることがわかった. これらのクローンを取り寄せて変異体に導入したところ, *flr-4* の変異表現型を抑圧するコスミドクローンが見つかった. 現在, これをサブクローニングして変異表現型を抑圧する最小の領域を決めようとしている.

flr-3 の遺伝子発現を *flr-3-lacZ* 融合遺伝子 (転写開始点の上流 3.65kb と下流 2.75kb を含む) を用いて調べたところ, 胚発生で体が伸長する少し前から L1 幼虫期にかけて腸の大部分の細胞で強い発現が見られた (以上の *flr-3* に関するデータをまとめて論文作成中).

神経系の異常を調べるため, 各 *flr* 遺伝子の標準変異体について走化性の測定を行った. *flr-2* 変異体は多くの揮発性および不揮発性誘引物質, *flr-5* はリシン, cAMP (誘引) と 1-octanol (忌避), *flr-4* はリシンへの走化性に異常が見られた. *flr-1* はわずかな異常が認められる場合があったが, *flr-3* 変異体には調べた限りでは走化性の異常は認められなかった.

今後, これらの研究を継続し, 成長速度と神経系の多様な機能に影響を及ぼす *flr* 遺伝

子群がどのような分子機構で動くか、それはイオンチャンネルのリン酸化による制御系なのかどうかを解明する計画である。

(2) *hch-1* 遺伝子の解析: 菱田竜一, 石原 健, 桂 勲

hch-1 遺伝子の変異体は、孵化と神経芽細胞移動という一見関係のなさそうな機能が同時に異常になる、興味ある表現型を示す。すなわち、一方では卵殻のキチン質は分解されるがタンパク成分が分解されず、孵化が遅れる。また他方では、孵化後の神経芽細胞である QL 細胞が、正常とは逆に前方に移動する (Hedgecock E. M. *et al.*, *Development*, **100**, 365-382, 1987)。我々は、この遺伝子のトランスポゾン挿入変異株を得た (近藤和典 (創価大・工) と桂, 未発表) ので、トランスポゾンタギング法とレスキュー法により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 3kb の mRNA に対応するほぼ全長の cDNA をクローニングした。cDNA の塩基配列によると、*hch-1* 遺伝子はシグナルペプチド、Zn プロテアーゼドメイン、EGF ドメイン、CUB ドメインをもち、*Drosophila* の *tolloid* や哺乳類の BMP-1 と似た分子をコードしていた。ドメイン構成で最も似ているのはウニの BP10/SpAN だが、これらは形態形成に働き、孵化には必要ないと言われている。*hch-1* の孵化前の発現を調べるために、胚の *in situ* hybridization を行った。その結果、*hch-1* の発現は、卵割がほぼ終了して体が伸び始める直前から始まり、コンマ期を経由して 1.5-fold 期ないし 2-fold 期まで続いたが、3-fold 期以降には認められなかった。発現場所は、始めは体の中-後部の背および体側部で、1.5-fold 期には体側部 (おそらく seam cells) に局限されていた (論文投稿中)。ウニで形態形成に働く BP10/SpAN、ウニの孵化酵素 HE6/SpHE、メダカの孵化酵素 HCE/LCE は、いずれも孵化よりかなり前の形態形成期に発現する。

塩基配列によると、HCH-1 は孵化酵素そのものである可能性と、孵化酵素を産生する細胞の分化に働く可能性がある。また、孵化酵素の分泌・プロセッシング等に働く可能性も排除されてはいない。QL 細胞の移動方向については、同じ制御を行うホメオティック遺伝子 *mab-5* の作用が *hch-1* の上流か下流かが問題となる。また、Zn プロテアーゼ、EGF、CUB の各ドメインの役割も今後の課題である。このような問題を解いて、*hch-1* 遺伝子の機能を解明する計画である。

(3) dauer 幼虫形成を指標とした頭部神経回路の解析: 鈴木教郎, 浦崎美佐子, 石原健, 桂 勲

C. elegans は、孵化直後に餌が不足し個体密度が高いと、3 令幼虫の代りに口の閉じた耐久型の dauer 幼虫になる。餌やフェロモンの信号は、amphid という頭部の感覚器官から入り、神経系を通して、dauer 幼虫/3 令幼虫の選択を制御する。dauer 幼虫形成は走化性等と比べてアッセイが簡単なので、これを指標として頭部神経系の機能解析を始めた。特に、我々は合成 dauer 構成性表現型、すなわち「単独の変異では dauer 幼虫形成は正常だが二重変異にすると環境によらず dauer 幼虫になる」という表現型をもつ変異が多数存在することを発見し、注目している。なぜなら、この表現型は、dauer 幼虫形成阻害信号が複数の並列 (または網目状) の経路を通るため、すなわち単独の変異では複数の経路の 1

つしか遮断できず2つの変異ではじめて全経路を遮断できるために生ずると推測されるからである。そこで、これを追求することにより上記の推測を証明し、dauer 幼虫を生ずる組み合わせ等から感覚情報処理経路の構造に関する情報を得ようと考えている。

既知の40遺伝子以上の変異が、特異的な組み合わせで合成dauer 構成性表現型を持つことを見つけた。dauer 幼虫を生ずる組み合わせパターンは特異的で、フッ素イオン耐性変異を例外として、dauer 阻害信号が3つの並列な経路を通るモデルで説明できる。現在、これらの合成dauer 構成性表現型が既存の種々のdauer 欠損性変異によって抑圧されるかどうかを調べ、さらに詳しい情報を得ようとしている。

合成dauer 構成性表現型を指標として新たな神経系変異を分離する目的で、「*unc-31* 変異と組み合わせるとdauer 形成が構成性になる変異体」を44株分離し、性質を調べている。現在までにすべての変異のマッピング（連鎖群と染色体上でのおよその位置）を終了し、既知の遺伝子内にあるかを相補性試験で調べている。また、amphid と phasmid（尾部の感覚器官）の形態異常を知るために、これらへの色素浸透を調べたところ、正常なものが33株、やや異常なものが5株、異常なものが6株あった。この結果と変異のおよその位置から、44の変異の過半数は新しい遺伝子内にあるらしい。したがって、この方法は効率的に神経系変異を分離する方法として有用と思われる。次のステップとして、得られた変異がどのような変異かを知るために、種々の行動を調べるとともに下記(4)のマーカーを用いて神経の形態・分化を調べる計画である。

(4) 種々の神経細胞マーカーの作成とそれを用いた変異株の分離：石原 健，藤原 学，桂 勲

GFP（クラゲ緑色蛍光タンパク質：Chalfie M. *et al.*, Science, 263, 802-805, 1994）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15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., Development, 113, 399-408, 1991）により3種、線虫のゲノムDNA塩基配列を見て12種を得た。発現部位は、一対の神経細胞から大多数の神経細胞までさまざまだが、各プロモーターについて、発現の見られる細胞の過半数を同定した。また、一般的に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することを確認した。

上記で発現を調べた遺伝子のうち、介在神経で発現するグリシン（またはGABA）受容体3種および代謝型グルタミン酸受容体1種をさらに詳しく研究することにした。まず、遺伝子破壊実験を行い、前者の1つのトランスポゾン挿入変異体の分離に成功した。しかし、はっきりとした変異表現型がないようなので、現在、トランスポゾンが抜けるときにできる欠失変異を探している。

上記15種のマーカーの利用法として、各プロモーターに細胞死を誘発する遺伝子(*mec-4(d)*, *ced-3*, *ced-4*)をつないで線虫に導入して特定の神経細胞を殺し、それらの細胞の機能を解析することを検討している。また、これらの形態マーカーを使って神経系の形態変異を探す計画である。大部分の神経で発現するプロモーターの1つについては、既に

これを実行し、神経細胞系譜/細胞移動の変異合計 3 個を分離した。

研究業績

(1) 原著論文

なし

(2) その他

1. 桂 勲: 線虫の発生と細胞死—変異体による解析。「生命体システムにおけるアポトーシス」(勝木元也・長田重一編), pp. 17-39, 講談社サイエンティフィック, 1995.

(3) 発表講演

1. 桂 勲: 線虫の神経系. 第 24 回日本医学会総会. 名古屋, 4 月.
2. Fujiwara M., Ishihara T. and Katsura I.: Screening of morphological mutants in nervous system using GFP markers. 10th International *C. elegans* Meeting, Madison, U.S.A., June.
3. Ishihara T. and Katsura I.: Construction of fluorescent markers specific to the nervous system of *C. elegans*. 10th International *C. elegans* Meeting, Madison, U.S.A., June.
4. Katsura I., Urasaki M., Ishihara T. and Suzuki N.: Synthetic dauer-constitutive mutations and neuronal information processing in *C. elegans*. 10th International *C. elegans* Meeting, Madison, U.S.A., June.
5. Kawakami M., Ishihara T. and Katsura I.: *flr*-genes: protein kinase and degeneration-like protein required for NaF sensitivity, normal growth rate and neural functions. 10th International *C. elegans* Meeting, Madison, U.S.A., June.
6. Suzuki N., Ishihara T. and Katsura I.: Isolation of dauer-constitutive mutants on the *unc-31* background. 10th International *C. elegans* Meeting, Madison, U.S.A., June.
7. 桂 勲, 石原 健, 浦崎美佐子, 川上 穰, 菱田竜一, 鈴木教郎, 藤原 学, 武内昌哉: 線虫 *C. elegans* における神経系の形成と機能の遺伝学的解析. 日本生物物理学会第 33 回年会, 札幌, 9 月.
8. 石原 健, 桂 勲: 神経特異的マーカーを用いた *C. elegans* の神経機能の解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
9. 菱田竜一, 石原 健, 近藤和典, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* の孵化および細胞移動に関与する *hch-1* 遺伝子は *tolloid*/BMP-1 ファミリーに属する. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
10. 鈴木教郎, 石原 健, 桂 勲: 線虫の耐性幼虫異常を指標とした神経系変異の分

離と解析. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.

11. 藤原 学, 石原 健, 桂 勲: 線虫の神経回路での信号伝達におけるグリシンレセプターの役割の解析. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
12. 武内昌哉, 川上 穰, 石原 健, 浦崎美佐子, 桂 勲: 成長速度, 生体リズム, 神経系の機能に異常を示す線虫 *C. elegans* のフッ素イオン耐性変異 *flr-4* の解析. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.

G-c. 合成研究室

当研究室では, 遺伝学における様々な機構を分子レベルで解明するために, 蛋白質, 核酸などの生体高分子やその集合体(超分子)の立体構造決定を行っている. X線結晶解析をそのために用いている.

今年の合成研究室の研究活動は8月15日助教授白木原康雄が着任して開始された.

遺伝研共同研究として大沢研二(名古屋大学大学院多元数理科学研究科)が参加し, また神原 稔(兵庫教育大学), 吉田賢右(東京工業大学, 資源化学研究所), Leslie A.G.W., Abrahams J.P., Walker J.E. (MRC分子生物学研究所, 荒巻弘範(第一薬科大学), 牧野耕三(大阪大学, 微生物病研究所), 嶋本伸雄(遺伝情報研究センター, 構造研)と協力して研究を行った.

(1) F1-ATPase の $\alpha_3\beta_3$ 複合体の X 線結晶解析: 白木原康雄, 神原 稔¹, Leslie, A.G.W.², Abrahams J.P.², Walker J.E.², 吉田賢右³ (¹兵庫教育大学, 大学院自然系, ²MRC 分子生物学研究所, ³東京工業大学資源化学研究所)

超分子構造解析として, F1-ATPase のコア部分である $\alpha_3\beta_3$ 複合体(分子量 33 万)の X 線結晶解析を 1989 年より行ってきたが, 今年度はその構造が解け, 解析は最終段階に入った.

F1ATPase (F1, サブユニット構成 $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$) は, 呼吸鎖が形成する膜を隔てた水素イオンの濃度差を ATP に変換する ATP 合成酵素の膜から突き出した部分である. $\alpha_3\beta_3$ 複合体は, F1 の 5 分の 1 程度の ATPase 活性を示す中核的複合体である. 蛋白質の精製の検討, 結晶化条件の詳細な検討の後に, ヌクレオチド非存在下で, 3.2Å 分解能の反射を与える良質な結晶を得た. 放射光を利用することにより, 上の分解能で Rmerge=7.7% の良好な X 線回折データを得た. ヌクレオチド結合型の牛 F1 の結晶構造が発表されたので, $\alpha_3\beta_3$ 複合体の構造は F1 の触媒機構に関連した情報を与えるものとして期待された. ヌクレオチド非存在下での $\alpha_3\beta_3$ 複合体結晶化中では 3 個の α サブユニット, β サブユニットはそれぞれ等価なコンフォメーションをとることがわかった. これは, 牛 F1 の結晶構造の中で, 主要サブユニット特に β サブユニットが非対称なコンフォメーションをとっていたことと対照的である.

先行したヌクレオチドの結合したミトコンドリア F1 の結晶構造情報をもとに MRC Lab. Mol. Biol. (U. K.) の A.G.W. Leslie, J. P. Abrahams, J. E. Walker と共同で分子置換法を用いた解析を行った. α サブユニット β サブユニットそれぞれ 1 個分のモデルを, 非

対称な牛の F1 のサブユニット構造のなかから rotation function 法で探した。こうして非対称単位あたりのモデルを確立したあと、rotation function, translation function の計算, rigid body refinement を行い、Rfactor 43% を得た。Xplor を用いて通常の refinement を行い、現在 Rfactor は 16.2% である

ヌクレオチド非存在下で、3 個の α サブユニット、3 個の β サブユニットは等価であるような対称的構造をとる。これはヌクレオチド存在下でのミトコンドリア F1 の非対称な構造と対照的である。 α サブユニット、 β サブユニットとも、ミトコンドリアの F1 のサブユニットのうち、開いたサブユニット (α TP, β E) と非常によく似たコンホメーションをとっており、それをうけて活性部位のインタフェースは開いている。こうして、主要サブユニット α 、 β のヌクレオチド結合に伴うコンホメーション変化の骨子が明らかになってきた。

(2) 大腸菌転写活性化因子 PhoB 蛋白の X 線結晶解析: 白木原康雄, 牧野耕三¹ (大阪大学, 微生物病研究所)

PhoB 蛋白はリン酸化による制御を受ける、リン酸レギュロン遺伝子群の正の転写制御因子である。私たちがリン酸溶液から成長させた得た DNA 結合性 C 末ドメイン (分子量 14k) の結晶は 3Å 分解能を超える回折像を示し、結晶格子 (単斜格子, $a=31\text{\AA}$, $b=31\text{\AA}$, $c=106\text{\AA}$, $\gamma=70^\circ$) も既に決定したが、結晶格子の小さな乱れがみられる。

これを回避するため、このドメインの N 末側を更に 8 残基除いた分子種の結晶化を行い、上のものとはやや異なる条件で、結晶格子の乱れのない結晶形を得た。また最近、大量発現、高度精製に成功した PhoB 蛋白全体についても結晶化条件を探索したところ、微結晶が得られる条件を見出すことができた。

(3) シュードモナス CamR リプレッサの X 線結晶解析: 白木原康雄, 荒巻弘範¹, 嶋本伸雄² (¹第一薬科大学, ²構造研究室)

CamR 蛋白はシトクロム P-450cam オペロンに対するリプレッサで、分子量 2 万のサブユニット 2 個からなるホモダイマーである。数年にわたる結晶化条件の検討の結果、PEG 4k から 0.5 mm×0.4 mm×0.3 mm 程度の大きさを持った正八面体様結晶を再現性よく生成させることができた。結晶は 3Å 分解能の回折像を与える。しかし昨年度になってからどのように条件を変えても、半分程度の大きさの結晶しか得られなくなった。このため今年度新しい結晶化条件を探しなおしたところリン酸で結晶が得られることがわかり現在条件を精密化している。

(4) バクテリアべん毛スイッチタンパク質の立体構造解析: 大沢研二¹, 白木原康雄 (¹名古屋大学大学院多元数理科学研究科)

バクテリアのべん毛の構築、機能発現においてスイッチタンパク質は重要な役割を担っている。3 種類のスイッチタンパク質 (FliG, FliM, FliN) はそれらの変異体の表現型からべん毛の構築、べん毛の回転及び回転方向の制御にかかわっていると考えられており、多機能な複合体を形成している。スイッチタンパク質はべん毛モーターの回転に関与しているのでその立体構造解析はエネルギー変換機構の解明にも寄与する。昨年度これら三つの

うち FliN タンパク質の立体構造解析を開始した。今年度の研究においては主として精製法の検討を行い、十分な純度を持つものが得られたので、予備的な結晶化実験を行ったところ、擬結晶が得られる条件を見つけることができた。

研究業績

(1) 原著論文

なし

(2) その他

なし

(3) 発表講演

1. Shirakihara Y., Leslie A. G. W., Abrahams J. P., Walker J. E., Ueda T., Sekimoto Y., Kambara M., Kagawa Y., Saiga K. and Yoshida M.: Crystal Structure of $\alpha_3\beta_3$ complex of thermophilic F1-ATPase. Gordon Research Conference for Bioenergetics, Andover, August.
2. 白木原康雄, Andrew G. W. Leslie, Jan Pieter Abrahams, John E. Walker, 上田高士, 関本吉則, 神原 稔, 香川靖雄, 雑賀耕司, 吉田賢右: 好熱菌 F1-ATPase の $\alpha_3\beta_3$ 複合体の結晶構造. 日本生物物理学会第 33 回大会, 札幌, 9 月.
3. 白木原康雄, Andrew Leslie, Jan Pieter Abrahams, John Walker, 上田高士, 関本吉則, 神原 稔, 吉田賢右, 雑賀耕司, 尾高雅文, 香川靖雄: 好熱菌 F1-ATPase $\alpha_3\beta_3$ 複合体の結晶構造. 生体エネルギー討論会第 21 回大会, 名古屋, 12 月.

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、安達佳樹助手、田原浩昭（総研大大学院生）、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、佐野正子、宮田暁子が実験補佐、杉本章子が実験及び事務補佐、高橋初江、三田真澄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事業：本橋智子，杉本章子，小原雄治

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 51 件，のべ 624 クローンを 9 ヶ国（日本，ドイツ，韓国，アメリカ，フランス，イギリス，インドネシア，クロアチア，台湾（発送数順））の研究者に送付した。これまでの累計は，32 ヶ国 735 件，のべ 92,148 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) 線虫遺伝子ライブラリー事業：本橋智子，杉本章子，小原雄治

次項で述べる 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，公開している。タグ配列のうち約 20,000 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，本年は 124 件のべ 409 クローンを 13 ヶ国（アメリカ，日本，イギリス，カナダ，フランス，スイス，オランダ，デンマーク，スウェーデン，ベルギー，ハンガリー，イスラエル，ホンコン（発送数順））の研究者に分与した。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）は本年は，24 セットを 4 か国（アメリカ，日本，カナダ，イギリス）の研究者に配布し，初版は配布しつくした。解析クローンも増えたので，新しいセットの作成を計画している。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 cDNA 解析

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 100 Mb 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, こ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 クローンのタグ配列決定, 分類, マッピング: 渡辺寿子, 杉本章子, 佐野正子, 宮田暁子, 小原雄治

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, 16,398クローンを処理した結果, 10,910クローンについてクリーンな3'-タグが得られ, 4,222種(遺伝子)に分類した。これは, 13,000と推定される全遺伝子の1/3にあたる。

ゲノムへのマッピングは整列 YAC フィルターを用いて 1507 種がすんでいる。最近では, サンガーセンターから提供されたコスミドシーケンス 1,001 個分, 計約 33 Mb 分 (ショットガンの途中のもの 172 個も含む) を用いても行った。その結果, cDNA 種 4,222 のうち 1,341 種 (30%) がこの 33 Mb (33%) の領域にヒットした。

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。約 44% について有意な類似遺伝子が見いだされた。

(2) 胚発生期における発現パターンの解析: 本橋智子, 田原浩昭, 小原雄治

マルチウェルスライドと 96 ウェルドットプロットブロックを応用して, whole mount embryo 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を昨年開発したが, 方法の安定化のため以下の改良をおこなった。卵殻除去のための酵素 chitinase のロット差によって再現性の低下が見つかったので, 種々検討の結果, chitinase も含む酵素複合体である yatalase を用いることで安定化が達成できた。プローブ鎖長がバックグラウンドに大きく影響することがわかったので, キャリアー DNA を加えての DNaseI 限定分解による方法を設定した。また, プローブ濃度も最適条件があるが, 微量で行っているため, 個々のプローブ濃度を正確に決めることはむづかしい。そこで, 各プローブで 2 点の濃度条件でハイブリダイゼーションをおこなう duplication strategy を取ることにした。2 倍の数のハイブリダイゼーションが必要になるが, マルチウェル方式であるので数をこなすことは解決できているし, 2 点を比べることで結果の信頼性が非常に向上した。最近では 6 台のドットプロットブロックを使用して, 1 度に 192 のハイブリダイゼーション

(96 プローブ) を処理できるようになった。

上述の分類同定した約 4200 種 (全遺伝子の約 32%) 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。これまでにゲノム配列が決定された領域を中心に 594 種の解析をおこなった。その結果、原腸陥入以前の初期胚でのみ発現が見られたものが 54 種 (9%) であった。また、原腸陥入以降に接合体型の発現を示すものが 198 種 (33%)、そのうち 127 種では細胞 (系譜) 特異的な発現が見られた。現在、発現パターンによる分類をするために、これらの正確な位置、発現開始時期の解析を進めている。当初は、ハウスキーピング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ったので、むしろ全 cDNA 種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、特異的な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) 遺伝子密度とゲノム編成の関係: Barnes I T.¹, Coulson A.², 小原雄治, Hekimi S.¹, (¹McGill University, ²Sanger Centre)

cDNA の分布がかなりの密度で明かになってきたので、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。 *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 kb 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。詳細は文献1に発表した。

III. 線虫 *C. elegans* 発生における遺伝子発現制御の解析

(1) *C. elegans* の卵割において mRNA が生殖系列に局在化する遺伝子 *pos-1* の解析: 田原浩昭, 本橋智子, Mello C.¹, Priess J.², 小原雄治 (¹University of Massachusetts, ²Fred Hutchinson Cancer Research Center)

線虫 *C. elegans* の卵は受精後不等分割をおこない、体細胞系創始細胞の前割球 AB と生殖系列の後割球 P1 を生じる。これら割球およびその子孫細胞の運命決定には卵割に伴って局在化する母性因子(いわゆるデターミナント)が重要な働きをしていることが示唆されている。前後割球間で存在量の異なる mRNA の同定を目指して、differential hybridization, subtractive hybridization, differential display などの方法を試みたが、有意な差のあるクローンは得られなかった。そこで上述のように、cDNA プロジェクトの一環として whole mount *in situ* ハイブリダイゼーションによる遺伝子発現パターンの系統的な解析を進めたところ、mRNA は卵母細胞では一様に分布するが、第一卵割で後割球に局在化し、その後生殖系列細胞にのみ残る、という cDNA クローンを見いだした。この遺伝子を *pos-1* と命名し、詳細な解析をおこなった。その全長 cDNA 塩基配列から、*pos-1* には真核生物の転写因子である Tis11 ファミリーとホモロジーのある zinc finger 領域が見いだされ、似た構造をもつ遺伝子 *pie-1* との関係が示唆された。一方、ゲノム上の位置から、*pos-1* は母性遺伝子 *skn-2* に対応する可能性が指摘された。*skn-2* はまだクローン化が成功していなかったもので、その母性変異の表現型は生殖細胞の欠損である。また、遺伝解析から *pie-1* との相互作用が示唆されている。*skn-2* 変異株のゲノム DNA 配列を調べたところ、調べた3つのアレル全てで *pos-1* 遺伝子の Zinc finger 領域内に点突然変異か欠失変異が見いだされた。母性発現効率の問題のためか、*pos-1* を含むコスミド DNA のトランスフォーメーションによる *skn-2* 変異のレスキューは成功しなかったが、*pos-1* のアンチセンス RNA の卵巣への微量注入では *skn-2* と同じ表現型を示した。これらのことから *pos-1* は *skn-2* と同じ遺伝子であり、生殖系列の決定に関わるデターミナントである可能性が強い。*pos-1* 蛋白を発現させ、抗体を作成し、胚を染めたところ、mRNA が後方へ局在した後の P1 細胞で発現が見られ、その後の分裂では体細胞系の創始細胞では速やかに消失していき、この結果、生殖系列前駆細胞 P4 でのみ蛋白発現が残った。しかも、蛋白は核には見られず、細胞質に一様に分布していた。遺伝的相互作用が知られている *pie-1* は生殖系列での特定遺伝子群の転写を抑制していると考えられているが、*pos-1* はむしろ翻訳制御を通じて生殖系列の運命決定に関わっている機構を考えた。この考えに沿って、その遺伝子機能についての解析を進めている。

(2) *C. elegans* 初期胚においてポリ A 鎖長調節を受ける母性 mRNA の探索: 大浪修

一、小原雄治

線虫 *C. elegans* の初期胚においては、受精後およそ 16 細胞期ころまでは胚自身の遺伝子はほとんど転写されず、卵母細胞形成時に細胞質中に蓄積された母性 mRNA に主に依存して胚発生が進行する。したがって時間的、空間的に翻訳制御される母性 mRNA が、この間の胚発生のプログラムにおいて重要な意義を持つことが考えられる。*Xenopus* や *Drosophilla* の初期胚において、受精時など、胚発生の特定の時期においてポリ A の伸長に伴いその翻訳が増大する多くの母性 mRNA が報告されていることから、*C. elegans* 初期胚において時間的、空間的に翻訳制御される母性 mRNA を、ポリ A の長さを判断基準にして探索することを開始した。

最初にスクリーニングのために、ポリ A の長さを保存した cDNA を各発生段階の胚から作成し、ポリ A の長さを測定する方法を卵母細胞及び 2 細胞期の胚を用いて確立した。10 個の卵母細胞あるいは胚より抽出された total RNA の 3' 末端にオリゴ RNA を付加し、その相補的オリゴ DNA をプライマーとして cDNA を合成し、PCR を応用した方法でこの全 cDNA を増幅した。増幅した cDNA を用いて既知の母性 mRNA のポリ A の長さを検討したところ、卵母細胞から 2 細胞期の胚にかけて *fem-3* 遺伝子の mRNA のポリ A の長さが伸長することが明らかになった。*skn-1* mRNA のポリ A の長さはこの間で変動は見られなかった。現在、この方法を用いて、cDNA プロジェクトから得られた初期胚で発現が見られる遺伝子の中から、受精前後でポリ A が伸長し、翻訳が活性化されるものを探索中である。

(3) トランスポゾン挿入変異体バンクを用いた遺伝子破壊法の開発：安達佳樹，小原雄治

遺伝子の生物機能を知るために必須となる遺伝子破壊法の開発をめざし、トランスポゾン挿入変異体バンクを作製したことを昨年報告した。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により、目的遺伝子に Tc1 が挿入した個体を含むプールを選び出し、そのプールの保存個体から Tc1 挿入変異株を得る。これまでに、*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、11 遺伝子について 12 挿入変異株を分離した。

しかし、PCR スクリーニングにおいて、陽性と思われる増幅産物が得られるものの、Tc1 挿入変異株が分離できないケースが見られた。詳しく調べたところ、この産物は変異体バンク作製時の F1 世代の 1 個体に生じた Tc1 挿入に由来し、そのような挿入を持つ個体が DNA 調製の個体集団にはいってしまったためであると考えられた。このような PCR 増幅産物を見分けるためには、バンク作製時に DNA 調製用個体を 2 グループに分けてそれぞれから PCR 用 DNA を調製し、スクリーニングではその両方より同じ PCR 増幅産物が得られることを指標とするなどの改善が必要であることがわかった。

研究業績

(1) 原著論文

1. Barnes T., Kohara Y., Coulson A. and Hekimi S.: Meiotic recombination, non-coding DNA and genomic organization in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, **141**, 159-179, 1995.

(2) その他

1. 小原雄治: 線虫 *C. elegans* 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, 1995.
2. 小原雄治: 線虫 *C. elegans* ゲノムの発現マップ. *細胞工学*, **14**(6), 661-666, 1995.
3. 小原雄治, 中村春木, 森山英明, 中井謙太, 五條堀 孝: 座談会, 情報生物学の現状と将来. *蛋白質核酸酵素*, **40**(12), 1784-1802, 1995.
4. Kohara Y., Motohashi T., Sugimoto A., Watanabe H. and Tabara H.: The *C. elegans* cDNA project: A progress report. *The Worm Breeder's Gazette*, **13**(5), 91-96, 1995.
5. Tabara H., Motohashi T., Mello C., Priess J. and Kohara Y.: *Pos-1* (= *skn-2?*), a gene which shows localization of its mRNA to the P lineage during early cleavage of *C. elegans* embryo. *The Worm Breeder's Gazette*, **14**(1), 62, 1995.

(3) 発表講演

1. Kohara Y., Motohashi T., Tabara H., Sugimoto A. and Watanabe H.: A cDNA project of *C. elegans*: Towards an expression map of the genome. Cold Spring Harbor Meeting, "Genome Mapping and Sequencing", Cold Spring Harbor, USA, May.
2. Kohara Y., Motohashi T., Tabara H., Sugimoto A. and Watanabe H.: The *C. elegans* cDNA project: Towards an expression map of the genome. 10th International *C. elegans* Meeting, Madison, USA, June.
3. Andachi Y. and Kohara Y.: Efficient isolation of Tc1-insertion mutants from a mutant bank representing 20,000 worms. 10th International *C. elegans* Meeting, Madison, USA, June.
4. Barnes T., Kohara Y., Coulson A. and Hekimi S.: Genome organization, meiotic recombination and non-coding DNA. 10th International *C. elegans* Meeting. Madison, USA, June.
5. Tabara H., Motohashi T. and Kohara Y.: *In situ* hybridization of the multi-well format on whole mount embryos of *C. elegans*. 10th International *C. elegans* Meeting. Madison, USA, June.
6. 小原雄治: 線虫ゲノムの総合解読と DNA レポジトリ. 遺伝学研連シンポジウム

「生物遺伝資源としての DNA レポジトリ」, 東京, 9 月.

7. Kohara Y.: Towards an expression map of the *C. elegans* genome. Seventh International Genome Sequencing and Analysis Conference. Hilton Head, USA, September.
8. 小原雄治: 線虫 *C. elegans* ゲノムの発現マップ. 日本遺伝学会第 67 回大会シンポジウム「日本におけるゲノムプロジェクト」, 岡山, 10 月.
9. 小原雄治: 有用遺伝子の検索戦略. 第 1 回動物遺伝育種シンポジウム「動物ゲノム解析と新たな家畜育種戦略」, 東京, 11 月.
10. 小原雄治, 本橋智子, 田原浩昭, 杉本章子, 渡辺寿子: 線虫 *C. elegans* ゲノムの発現マップ. 第 18 回日本分子生物学会年会シンポジウム「ゲノムバイオロジー: 医学・生物学における新展開」, 名古屋, 12 月.
11. 田原浩昭, 本橋智子, Mello C., 小原雄治: *C. elegans* の卵割において mRNA が生殖系列に局在化する遺伝子 *pos-1* の解析. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.
12. 大浪修一, 小原雄治: *C. elegans* 初期胚においてポリ A 鎖長調節を受ける母性 mRNA の探索. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.

H. 生命情報研究センター

当センターは, 生命情報科学に関する研究を行うとともに, DDBJ (日本 DNA データバンク) 研究事業を担当することを目的に, 平成 7 年 4 月に新設された. このセンターは, 遺伝情報研究センターに所属していた遺伝情報分析研究室 (教授 1 名, 助教授 1 名, 助手 2 名) と遺伝子機能研究室 (教授 1 名, 助手 1 名) が独立するとともに, 大量遺伝情報研究室 (教授 1 名) と分子分類研究室 (教授 1 名, 助手 1 名) が新設されることによって, 創設された. 五條堀 孝教授が遺伝情報研究センター長から転任し, 生命情報研究センター長になった. 遺伝情報分析研究室は, 五條堀 孝教授, 池尾一穂助手, 今西 規助手で構成され, 遺伝子機能研究室は館野義男教授が担当している. 本年 10 月 1 日には大量遺伝情報研究室の教授として西川 建氏が蛋白質工学研究所より赴任した. さらに, 平成 8 年 2 月 1 日には, 理化学研究所の菅原秀明氏が分子分類研究室の教授として赴任することが予定されている.

DDBJ 研究事業としては, DDBJ 独自のデータベース管理システムの開発や WWW によるホームページの立ち上げ等を行った. この DDBJ 研究事業には, これらの教官以外に天野千香, 市川恵子, 岩瀬正子, 上田陽子, 内田玲子, 小河美和, 奥田啓子, 川淵晶子, 川本たつ子, 北原康世, 齊藤真理, 佐藤由美子, 仕田原 容, 下山メアリー, 白壁則子, 杉崎匡樹, 杉村絵里, 鈴木あかね, 鈴木 光, 鈴木利紀子, 大藤由紀子, 筒井波留, 寺内理恵, 柳楽幸子, 野村貴美子, 長谷川麻子, 長谷川有子, 服部叔恵, 平島美恵子, 堀江元乃, 山本ゆか, 渡辺昭乃という多くの人々が協力して参画した.

H-a. 遺伝情報分析研究室

当研究室は、生命情報研究センターの新設に伴って、遺伝情報研究センターより移設された。当研究所は、五條堀 孝教授、池尾一穂助手、今西 規助手により構成され、分子進化学を中心とした遺伝情報の分析を行うとともに、DDBJ 研究事業にも中心的に参画している。当研究室では、山口由美と遠藤俊徳が総合研究大学院大学の博士課程3年生として在籍している。また、本年4月より秋田大学医学部大学院博士課程1年生の鈴木善幸と東京大学工学部大学院博士課程3年生の高橋一成が特別研究生として研究に参加した。また、東京理科大学の大学院博士課程を終了した渡邊日出海が6月より技術補佐員となり、10月には学位を取得したりして、活発に研究に参加した。さらに、筑波大学大学院修士課程2年の角山和久が当研究室に出入りするることによって、研究指導を受けた。新井 理は、継続して帝人システムテクノロジー株式会社からの受託研究員として、研究に協力した。

DDBJ だけではなく、当研究室の活動補助を天野千香、上田陽子、小河美和、奥田啓子、白壁則子、寺内理恵、渡辺昭乃が積極的に行った。なお、五條堀教授は、第3回木原記念財団学術賞を受賞した。

(1) MDL 原理に基づく新しい系統樹構築法の開発: 五條堀 孝, 任 鳳蓉¹, 田中 博¹ (東京医科歯科大学)

分子時計の発見以来、多くの分子系統樹構築法が提案され、そして、そのアルゴリズムが開発されてきた。今度、この問題を演繹的視点から捉え直し、Rissanen による MDL (minimum description length) 原理を応用することによって、“複雑さ”が最小となるような系統樹構築法を新たに開発した。この新しい方法のアルゴリズムでは、系統樹のトポロジー、枝長の全和、対数尤度によって測定されるモデルとデータの差という量に関係した3つの項によって、分子系統樹の“複雑さ”を記述した。この分子系統樹の正確さを確認するため、5種の霊長類(ヒト、チンパンジー、ビッグミーチンパンジー、ゴリラ、オランウータン)のミトコンドリアDNAからこの方法を用いて系統樹を作成した。その結果、この方法は以前よく用いられる系統樹の構築法よりもいくつかの点において優れていることが指摘された。

詳細は、Proceedings of the 28th Annual Hawaii Int'l Conf. on System Science (L. Hunter and B. D. Shriver eds.), 5, 165-173 IEEE Computer Society Press と Computer Methods and Programs in Biomedicine, 46, 121-130 に発表した。

(2) セリンプロテアーゼとそのインヒビターのドメイン進化: 池尾一穂, 遠藤俊徳, 五條堀 孝

血液凝固線溶系のセリンプロテアーゼには、大きく分けて、クリングルドメインとプロテアーゼドメインの2つの異なるドメインが存在する。これらのドメインがどのような進化過程を通して現在に至ったかを解明するため、ウロキナーゼ、tPA、プラスミノゲンなどのアミノ酸配列を用いて各々のドメインごとに分子系統樹を作成した。その結果、興

味深いことに、分子系統樹のトポロジーが2つのドメイン間で大きく異なっていた。もちろん、これらの2つのドメインはセリンプロテアーゼの1つのポリペプチドにコードされているので、この結果は、クリングドメインとプロテアーゼドメインが異なった進化過程を有していることを示唆する。つまり、それぞれのドメインは独立に進化し、ある時点で融合して現在のセリンプロテアーゼになったと考える。このように、セリンプロテアーゼはドメイン進化の典型と考えられる。また、同様な議論がセリンプロテアーゼインヒターについても行えることを明らかにした。

詳細は、J. Mol. Evol., 40, 331-336 と Tracing Biological Evolution in Protein and Gene Structures (M. Go and D. Schimmel, eds.), pp. 249-260, Elsevier Science に発表した。

(3) 新しいDNAデータベース管理システムの開発: 北上 始¹, 新井 理, 池尾一穂, 鶴川義弘², 斎藤成也³, 五條堀 孝, 館野義男 (¹広島市立大学, ²農業生物資源研究所, ³進化遺伝研究部門)

日本DNAデータベース(DDBJ)において、関係データベース管理システム(SYBASE)に基づいて、DDBJデータベースを効率よく構築し、統合化し、かつ検索できる関係スキーマを新しく開発した。このスキーマを、「DDBJスキーマ」と名付けた。DDBJスキーマは、2つのウィンドウインタフェース、YAMATOとASUKAをもつDDBJデータベース管理システムに取り入れられ、DDBJデータベースが容易に構築できるようになっている。YAMATOは、著者から送られてくる各エントリーをレビューアが加工しやすいようにするインターフェイスであり、ASUKAは大量なDDBJデータの登録者が自らデータベースを取り扱えるようにするインターフェイスである。これらの新しいDNAデータベース管理システムは、DDBJの研究事業にきわめて有用である。詳細は、Proceedings of the 28th Annual Hawaii International Conference on System Science, pp. 72-80 に発表した。

(4) 正の淘汰の働く遺伝子の探索と正の淘汰の働く要因の解析: 遠藤俊徳, 池尾一穂, 五條堀 孝

DNAデータベースとメインフレーム、ワークステーション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い、正の淘汰の働く領域を推定した。DNAデータベースに登録された塩基配列を、アミノ酸配列の類似性に基づいて3,595グループに分類し、翻訳領域塩基配列のマルチプルアラインメントを作成した。これらすべてのグループについて、ウィンドウ解析を行い、非同義置換数が同義置換数の2倍を上回る遺伝子内領域をもつ塩基配列グループを正の淘汰の働く遺伝子の候補としたところ、186の遺伝子グループが選ばれた。これは、解析した全グループの5%を占めており、正の淘汰の働く遺伝子の割合が約5%であることを示唆している。このうちマラリア表面抗原遺伝子の遺伝子内領域は、抗原決定基を含んでおり、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示唆された。これらの結果を The Third International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, 遺伝学会大会, 分子生物学会年会で発表した。

また, Molecular Biology and Evolution にて in press である.

(5) Monophyletic Origin and Unique Dispersal Patterns of Domestic Fowls: Fumihito A.¹, Miyake T.², Takada M.³, Shingu R.⁴, Endo T., Gojobori T., Kondo N.³ and Ohno S.⁵ (¹山階鳥類研究所, ²湧永製薬中央研究所, ³進化生物学研究所, ⁴大阪大学医学部, ⁵Beckman Research Institute of the City of Hope, USA.)

ニワトリやイヌ, ウシなどの動物の家畜化は, 人類の発展において重要な役割を果たしたと考えられるが, その起源については詳しくわかっていない. ニワトリにおいては, 考古学的知見から, 東南アジアや, 中東などで独立に家禽化された可能性が指摘されてきた. 本研究では, ニワトリの起源を調べるため, ニワトリ, ヤケイ, および他のキジ目の鳥のミトコンドリア D-loop 領域 400 bp の塩基配列を決定し, 比較することによって分ける系統樹を作成した. また, その系統樹の信頼性を評価するためブートストラップ検定を実施した. ブートストラップ確率の結果を考慮すると, ニワトリは単一起源であり, インドネシアのスマトラ付近に棲息する赤色ヤケイに最も近縁であることが強く示唆された. このことは, 今までの考古学的知見とは異なり, ニワトリの単一起源説が正しい強い証拠を与えたことになる. 詳細は, Proceedings of National Academy of Science USA に印刷中である.

(6) 遺伝子の相同関係を基にしたゲノム構造解析: 渡邊日出海, 森 浩慎¹, 五條堀 孝 (奈良先端科学技術大学院大学)

ゲノムの進化に関する研究は, その構造がまだほとんど明らかにされていないために, 僅かなデータを基にしたモデル作りが行われている程度である. そこで, 我々は, *Haemophilus influenzae* Rd と *Mycoplasma genitalium* の全ゲノム配列データと, 大腸菌, 枯草菌の部分ゲノム配列データを用い, 遺伝子の一次構造と位置情報を基にして, これら 4 種のゲノム構造を詳細に調べた. 我々が行った解析の最もユニークな点は, 遺伝子間の類似度から各ゲノム間で Orthologous である遺伝子対を同定した点にある. これにより, 比較している生物種の直接の共通祖先からのゲノム構造変化を知ることが出来る. この解析を通して, リボソームタンパク質遺伝子のクラスターや細胞壁の合成に関わる遺伝子のクラスター等の数例を除いて, ほとんどのゲノム上の領域に保存性は見られず, これら 4 種のゲノムが, 進化過程において多くの再編成を受けてきてきたことが明かとなった. 次に, Orthologous な遺伝子対と同一ゲノム上に存在する Paralogous な遺伝子対の類似度の比較を行った. これにより, *H. influenzae* と大腸菌の直接の共通祖先が大腸菌のような大きなゲノムを持っていたこと, また, 系統的に比較的近い関係にあるこれら 2 種のゲノムサイズの大きな差 (前者は後者の約 40%) は, 主に種分化後に *H. influenzae* のゲノムが縮小してきたことによることが初めて示された. 次に, Paralogous な遺伝子の存在位置の規則性を調べることで, 大腸菌ゲノムが祖先型ゲノムの倍化によって生じたとする説の検証を行った. その解析結果は, 明かな規則性は存在しない一方, 局所的な遺伝子重複が非常に多いことを示しており, ゲノムの倍化説を裏付ける証拠は何も得られなかった.

7) HIV の抗原部位の宿主内での進化機構: 山口由美, 五條堀 孝

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 領域の分子進化機構を解明するために、塩基配列データを用いて解析を行った。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こっ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時期がある可能性を示唆する。

(8) HIV-1 の世界各地への伝播機構: 山口由美, 五條堀 孝

ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) は、現在では世界中に分布しているエイズウイルスである。以前の系統樹解析から、HIV-1 は、アフリカから来たと考えられており、殆どの先進諸国やハイチの HIV-1 株は、サブタイプ B と呼ばれるクラスターを形成していることが知られていた。これらの研究は、アフリカに存在する HIV-1 の中の一つのタイプのものが先進諸国やハイチにもたらされた可能性を示唆するものであった。最近、世界各地から単離された HIV の塩基配列の情報が急増している。我々は、HIV-1 の世界各地への伝播過程を明らかにすることを試みた。我々は、国際 DNA データベース (DDBJ, EMBL, GenBank) から、HIV-1 の塩基配列を集めた。多くの HIV-1 株の塩基配列が利用できる遺伝子領域は、外被糖蛋白質 (envelope glycoprotein) の V3 領域を含む約 300 塩基の長さの領域であった。この領域の塩基配列が報告されているエントリーから、ウイルスが単離された地域が分かっているものを選んで、系統樹解析に用いた。外被糖蛋白質 (envelope glycoprotein) の一部 (V3 領域を含む約 100 アミノ酸の長さ) のアミノ酸配列を用いて、近隣結合法で、分子系統樹を作成した。得られた樹形の信頼性をブートストラップ法で評価した。今回作成した系統樹から、調べられたロシアやルーマニアの HIV-1 は地理的に近い、西ヨーロッパからもたらされたのではなく、別経路でアフリカからもたらされた可能性を指摘できた。

(9) マールブルグウイルスの進化速度と塩基置換パターンおよびエボラウイルスとの分岐年代の推定: 鈴木善幸, 五條堀 孝

マールブルグウイルスとエボラウイルスは、フィロウイルス属を構成し、致死率が極めて高く、世界的に非常に重要なウイルスである。しかしながら、未だそれらの自然宿主や伝播過程などの基本的な性質は明らかにされていない。本研究は、これらのウイルスの進化速度、起源、塩基置換パターンを解明することを目的として行われた。その結果、マール

ルブルグウイルスが他の RNA ウイルスとほぼ同じ速さで進化していること、 マールブルグウイルスとエボラウイルスがおおよそ数千年前に分岐したこと、そして、 マールブルグウイルスの進化の過程において、 純化淘汰の働いていることといった可能性が示唆された。

(10) MHC 遺伝子における共有多型の分布と遺伝子変換: 今西 規

主要組織適合性複合体 (MHC) 遺伝子は、高度な遺伝的多型を示すが、それは強い自然淘汰が働いているためと考えられている。一方、MHC 遺伝子の多型の変異源としては、点突然変異、相同的組替え、遺伝子変換の 3 つのメカニズムが考えられる。このうち遺伝子変換はその分子の機構が不明であるため、しばしば疑問視される。そこで、MHC の異なる遺伝子座の間の遺伝子変換を検出する目的で、ヒトの MHC である HLA-A, B, C, DPB1, DQB1, DRB1, DRB5 の各座位の DNA 塩基配列を集め、統計的な解析を行った。各遺伝子座のコンセンサス配列を比較したところ、多重遺伝子族に属する遺伝子座の間で、共通の DNA 多型が観察された。特に、クラス I 遺伝子の第 2 と第 3 エクソン、およびクラス II 遺伝子の第 2 エクソンで、多くの共有多型 (shared polymorphism) が観察された。共有多型とは、異なる遺伝子座の間で相同な塩基サイトに同じ種類の多型塩基があることである。共有多型の成因としては、異なる座位間での頻繁な遺伝子変換が有力である。このとき、正の自然淘汰の働きによって、遺伝子変換で生じた共有多型が維持されやすくなっていると考えられる。また、座位特異性を示す塩基置換の分布から、想定される遺伝子変換は数十から百数十塩基対という短い遺伝子断片を単位として起こることが示唆された。さらに、座位間の共有多型の起源が古い可能性も示唆された。DRB1 と DRB5 の間で共有多型が観察されたことは、共有多型が遺伝子重複と同時にその直後に生じた可能性を示唆した。以上の結果を、The Third International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution と日本分子生物学会で発表した。

(11) MHC 遺伝子の多様性と分子進化の研究: 今西 規, 五條堀 孝

高度な遺伝的多型を示す MHC 遺伝子に着目し、その多様性の分布様式と分子進化に関する研究を行った。新たに発見されたヒトの MHC クラス I 遺伝子である HLA-A の対立遺伝子 A*2404 の塩基配列を決定し、さらに分子系統樹の作成等の解析により、この遺伝子が遺伝子変換で生じた可能性を示唆した。また、日本産ウズラ (*Coturnix japonica*) における MHC クラス I 遺伝子の多型を DNA レベルで解析し、この種における MHC 遺伝子の構造を明らかにした。このほか、中国東北部の満州族における MHC クラス II 遺伝子の対立遺伝子頻度とハプロタイプ頻度を推定し、こ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。これらの解析を通して、ヒトをはじめとするさまざまな種における MHC 遺伝子の多様性が、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。これらの詳細は、Human Immunology, 42, 221-226, Immunogenetics, 42, 213-216, Tissue Antigens, 46, 111-116 に発表した。

(12) インターロイキン・レセプターにおけるサブユニット構造の進化と機能分化: 池尾一穂, 角山和久¹, 中村正孝², 五條堀 孝 (¹筑波大学, ²東京医科歯科大学)

インターロイキンは、作用する細胞の種類によって異なる反応を誘起することが知られている。また、インターロイキンのレセプターは免疫グロブリン様のドメインをもつ一回膜貫通型のサブユニットが2個から3個組み合わせられたものであることが知られている。このサブユニットの数や構造は、各レセプターが結合するインターロイキンの種類によって異なる。従来のインターロイキン・レセプターの分類は、レセプターに結合するインターロイキンのタイプやサブユニットの組合せによって分類されてきている。これらの各サブユニットの分子進化系統を明らかにし、レセプターの機能の分化との関連を知ることは、免疫系の分子進化に関する理解を深める上でも重要であると考えられる。以上のような目的から、インターロイキン・レセプターの塩基配列とアミノ酸配列を用いて分子系統樹を作成し、その分子進化的過程についての検討をおこなった。材料として、全てのサブユニットに共通して存在するサイトカインドメインに注目して分子系統樹の作成をおこなった。長鎖型と短鎖型のILと結合するサブユニットは祖先型のサブユニットから約2億年前に分化したと推定される。長鎖型と短鎖型に分化したサブユニットは、さらに約1億5千万前にそれぞれさらに分化したと考えられる。長鎖型のサブユニットはIL-6aサブユニット型とIL-12サブユニット型に分化した。IL-12サブユニット型に分化するときにFn3ドメインが挿入された。これらのレセプターの機能に注目すると、IL-12サブユニット型をもつレセプターには単一抗原特異的な機能が知られ、IL-6aサブユニット型から構成されるレセプターは神経、筋肉、そしてマクロファージにいたるまで、多面的な細胞における発現が確認されている。このことから、Fn3の獲得によりその特異性を得た可能性が示唆された。一方、長鎖型における分化と同時期に短鎖型のサブユニットは、IL-2bサブユニット型とIL-2gサブユニット型とに分化したと推定された。IL-2bサブユニット型に分化した後、サブドメインではサイトカインドメインの重複が起きたと推定される。短鎖型のサブユニットから構成されるレセプターは免疫・造血系の細胞の増殖・分化に関与する。現存するレセプターは、最終的には、約1億年前に発生したと推定された。これは、サイトカインレセプターが哺乳類にしか見つかっていないこととよく一致する。すなわち、サイトカインレセプターの多様化は、哺乳類において血球細胞の多様化と密接に関係していることが示された。また、成長ホルモンやプロラクチンといったレセプターがサイトカインドメインにみられるモチーフを有することからも、サイトカインレセプターは最初、細胞の増殖に関するレセプターとして存在し、その細胞に対する特異性も、LIF等の例から考えて、それほど高くはなかったと考えられる。この祖先型レセプターがサブユニットの重複を起こし、レセプターの多様性を増すとともにサブユニットの数が増え、さらに、いくつかの特異的なドメインを得ることよりレセプターとしての多様性が生まれ、その特異性も高まってきたことが推測された。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ren F., Tanaka H., Fukuda N. and Gojobori T.: Molecular Evolutionary Phylo-

- genetic Trees Based on Minimum Description Length Principle. In "Proceedings of the 28th Annual Hawaii Int'l Conf. on System Sciences" (L. Hunter and B. D. Shriver eds.), **5**, 165-173, IEEE Computer Society Press, Los Alamitos, California, 1995.
2. Ren F., Tanaka H. and Gojobori T.: Construction of Molecular Evolutionary Phylogenetic Trees from DNA Sequences Based on Minimum Complexity Principle. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, **46**, 121-130, 1995.
 3. Gojobori T.: Genetic Diversity and Molecular Evolution of Pathogenic Viruses. *Biology International, Special Issue (Uniqueness & Universality)* **33**, 30, 1995.
 4. Kashiwase K., Tokunaga K., Ishikawa Y., Lin L., Imanishi T., Akaza T., Tado-koro K. and Juji T.: A new HLA-A9 subtype lacking the Bw4 epitope: Ancestral or revertant allele? *Human Immunology*, **42**, 221-226, 1995.
 5. Geng L., Imanishi T., Tokunaga K., Zhu D., Mizuki N., Xu S., Geng Z., Gojobori T., Tsuji K. and Inoko H.: Determination of HLA class II alleles by genotyping in a Manchu population in the northern part of China and its relationship with Han and Japanese populations. *Tissue Antigens*, **46**, 111-116, 1995.
 6. Shiina T., Ando A., Imanishi T., Kawata H., Hanzawa K., Gojobori T., Inoko H. and Watanabe S.: Isolation and characterization of cDNA clones for Japanese quail (*Coturnix japonica*) major histocompatibility complex (*MhcCoja*) class I molecules. *Immunogenetics*, **42**, 213-216, 1995.
 7. Gojobori T., Endo T. and Ikeo K.: Domain evolution of serine protease and its inhibitor genes. In "Tracing Biological Evolution in Protein and Gene Structures" (M. Go and P. Schimmel eds.), pp. 249-260, Elsevier Science B. V., Amsterdam, 1995.
 8. Ikeo K., Takahashi K. and Gojobori T.: Different evolutionary histories of kringle and protease domains in serine proteases—A typical example of domain evolution. *J. Mol. Evol.*, **40**, 331-336, 1995.
 9. Kitakami H., Shin-I T., Ikeo K., Ugawa Y., Saitou N., Gojobori T. and Tateno Y.: YAMATO AND ASUKA: DNA database management system. In "Proceedings of the 28th Annual Hawaii Int'l Conf. on System Sciences." pp. 72-80, 1995.
 10. Gojobori T. and Ikeo K.: Sequence Divergence Estimation. In: *Molecular Biology and Biotechnology. A Comprehensive Desk Reference.* (R. A. Meyers ed.), VCH Publishers, Inc., pp. 863-866, 1995.
 11. Gojobori T., Endo T. and Ikeo K.: Evolution of genes and the DNA database—Implications for bioremediation—. *Bioremediation : Tokyo '94 Workshop.* OECD Documents, pp. 369-373, 1995.

12. Ohba K., Mizokami M., Ohno T., Suzuki K., Orito E., Ina Y., Lau JYN. and Gojobori T.: Classification of hepatitis C virus into major types and subtypes based on molecular evolutionary analysis. *Virus Research*, **36**, 201-214, 1995.
13. Endo T., Ikeo K. and Gojobori T.: Large-Scale Search for Genes on Which Positive Selection May Operate. *Molecular Biology and Evolution*, in press.
14. Perrière G., Moszer I. and Gojobori T.: NRSUB: a non-redundant database for *Bacillus subtilis*. *Nucleic Acids Research*, in press.
15. Ohba K., Mizokami M., Lau JYN., Orito E., Ikeo K. and Gojobori T.: Evolutionary relationship of hepatitis C, pesti-, flavi-, plantviruses, and newly discovered GB hepatitis agents. *FEBS Letters*, in press.
16. Fumihito A., Miyake T., Takada M., Shingu R., Endo T., Gojobori T., Kondo N. and Ohno S.: Monophyletic Origin and Unique Dispersal Patterns of Domestic Fowls. *Proceedings of National Academy of Science, U.S.A.*, in press.

(2) その他

1. 五條堀 孝: 分子進化. 人類遺伝学—基礎と応用, 金原出版, 327-335, 1995.
2. 五條堀 孝: 情報生物学の現状と将来. 蛋白質・核酸・酵素, 9月号, Vol. 40, No. 12, 1, 1995.
3. 小原雄治, 中村春木, 森山英明, 中井謙太, 五條堀 孝(司会): 座談会: 情報生物学の現状と将来. 蛋白質・核酸・酵素, 9月号, Vol. 40, No. 12, 2-20, 1995.
4. 五條堀 孝, 新井 理: 生命情報学. 電子情報通信学会誌, Vol. 78, No. 7, 721-722, 1995.
5. 五條堀 孝: 進化学のレクチャー—生命誕生の実証研究へ向けて—. 現代思想, Vol. 23, No. 8, 84-92, 1995.
6. 五條堀 孝: 人間は生命を創れるか—進化学のあゆみと未来—. 丸善ライブラリー, 1995.
7. 五條堀 孝: 数理情報科学事典. 部門編集, 朝倉書店, 1995.
8. 五條堀 孝: DNAの先端的研究から思うこと. しんりけんさ, 会報 No. 21, 22 合併号, 2-3, 日本心理検査振興協会, 1995.
9. 山口由美, 五條堀 孝: エイズウイルスの進化と分子疫学. 細胞工学, **14**(9), 1052-1056, 1995.
10. 今西 規: HLA 遺伝子の多様性とヒトの進化. MHC (日本組織適合性学会誌), **1**(2), 130-134, 1995.
11. 池尾一穂: クリングル・ドメインからみた血液凝固線溶系におけるセリン・プロテアーゼの分子進化. 日本血栓止血学会誌, **6**(2), 95-104, 1995.
12. 池尾一穂, 五條堀 孝: 分子進化はどのように研究されているか—遺伝からみた進化—. 基礎生物学講座 7 朝倉書店, 131-157, 1995.

13. 池尾一穂: DNA 配列データベース, 数理情報科学事典, 朝倉書店, 654-656, 1995.
- (3) 発表講演
 1. 五條堀 孝: MHC 遺伝子からみた世界の民族差. 癌学会シンポジウム, 名古屋, 1 月
 2. 五條堀 孝: 秋田大学医学部特別講義, 秋田, 3 月.
 3. 五條堀 孝, 山口由美: エイズウイルスの変異と進化. 第 24 回日本医学会総会, 名古屋, 4 月.
 4. Okada N. and Gojobori T. (organizers): III: Evolution of Viruses & Transposons. The Third International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE3), 葉山, 8 月.
 5. Gojobori T.: Genetic Variability of Human Populations in contrast to Viral Populations. NATO Advanced Study Institute on 'Genome organization, Function and Evolution', Spetsai, 9 月.
 6. 五條堀 孝: DNA データベースに基づく生命の根源遺伝子の探索. 日本生物物理学会第 33 年会シンポジウム, 北海道, 9 月.
 7. 五條堀 孝: 遺伝子の進化. 日本生物物理学会第 33 年会シンポジウム, 北海道, 9 月.
 8. 五條堀 孝: 分子進化の最近の傾向. バイオメディカルスーパーコンピューティング研究委員会第 5 回定例会, 東京, 9 月.
 9. 池尾一穂, 遠藤俊徳, 五條堀 孝: ドメイン構造からみたホメオドメイン遺伝子の分子進化. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 10 月.
 10. 五條堀 孝: DNA を中心とした生命科学の発展とヒトの寿命. ライフサイエンス研究会, 第 2 回公開講演会, 浜松, 10 月.
 11. Gojobori T.: Bio-informatics and the Genome Project. Third South-North Human Genome Conference, New Delhi, 12 月.
 12. Gojobori T.: Intrabody evolution of HIV and HCV. /Evaluation *in vivo* du VIH et VCH. The International Symposium of Genetic Diseases/Genes & Population, Essaouira, Morocco, 12 月.
 13. Gojobori T.: Intra-body evolution of HIV and HCV. Institut Pasteur Seminar, Paris, 12 月.
 14. Gojobori T.: Genome comparisons between Haemophilus influenzae, Mycoplasma genitalium, Escherichia coli and Bacillus subtilis. Institut Jacques-Monod Seminar, Paris, 12 月.
 17. 田中 博, 任 鳳蓉, 福田典夫, 五條堀 孝: 最小複雑性原理に基づいた Bayesian-MDL 分子進化系統樹推定法の構築. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12 月.

18. Imanishi T.: DNA polymorphisms shared among different loci of the major histocompatibility complex genes. The Third International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Hayama, 8月.
19. Imanishi T.: DendroMaker: A software for drawing phylogenetic trees. Software demonstration, The Third International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Hayama, 8月.
20. Imanishi T.: DNA polymorphisms shared among different loci of the major histocompatibility complex genes. US-Japan Binational Workshop of Molecular Evolution, Hayama, 8月.
21. Imanishi T., Omoto K. and Gojobori T.: Evolutionary relationships, genetic diversity, and a new classification of human populations based on HLA polymorphisms. The American Society of Human Genetics 45th Annual Meeting, Minneapolis, 10月.
22. 今西 規: MHC 遺伝子における共有多型の分布と遺伝子変換. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
23. Yamaguchi Y. and Gojobori T.: Positive selection in the third variable envelope region of HIV within a single host. The third international meeting of the society for molecular biology and evolution, Hayama, 8月.
24. 山口由美, 五條堀 孝: HIV の抗原部位の宿主内の体内でのアミノ酸置換のパターン. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 10月.
25. 山口由美, 五條堀 孝: 宿主の体内における HIV 集団のダイナミクスと抗原部位の進化. 第 43 回日本ウイルス学会総会 岡山, 11月.
26. 山口由美, 五條堀 孝: HIV1 型の世界各地への伝播過程. 第 18 回 日本分子生物学会 名古屋, 12月.
27. Endo T., Ikeo K. and Gojobori T.: A large-scale search for within-gene regions where positive selection may operate. Society of Molecular Biology and Evolution meeting. Hayama, 8月.
28. 遠藤俊徳, 池尾一穂, 五條堀 孝: 正の淘汰が働く可能性のある遺伝子内領域とその生物学的意義. 日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
29. 遠藤俊徳, 池尾一穂, 五條堀 孝: 正の淘汰を受ける遺伝子領域の特定とその機能や構造の比較. 日本遺伝学会大会, 岡山, 10月.
30. 渡邊日出海, 五條堀 孝: 相同遺伝子のゲノム上の分布からみた大腸菌におけるゲノム構造の進化. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 10月.
31. 渡邊日出海, 伊藤 剛, 矢野 実, 森 浩禎, 五條堀 孝: 大腸菌とインフルエンザ菌におけるゲノム構造の進化. 第 18 回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
32. 鈴木善幸, 五條堀 孝: エボラウイルスとマールブルグウイルスの進化的関係. 日本ウイルス学会第 43 回大会, 岡山, 10月.

33. 池尾一穂: DNA データベースができるまで, 第 59 回日本生化学会中部支部例会シンポジウム「生化学・分子生物学とインターネット」, 岐阜, 5 月.
34. Ikey K., Endo T. and Gojobori T.: The molecular evolution of POU-homeo protein as a mosaic protein. The Third International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Hayama, 8 月.
35. 池尾一穂: インターネットと DNA データベースの利用. 生物物理学会シンポジウム「データベースとインターネットは生物学をどう変えるか」, 札幌, 9 月.
36. 池尾一穂, 遠藤俊徳, 五條堀 孝: ドメイン構造からみたホメオドメイン遺伝子の分子進化. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 9 月.
37. 佐藤 滋, 橋屋 弘, 五條堀 孝, 池尾一穂, 竹内拓司, 山本博章:メラニン色素産生に関わる遺伝子の構造と発言の系統解析. 日本遺伝学会第 67 回大会, 岡山, 9 月.
38. 池尾一穂, 角山和久, 中村正隆, 五條堀 孝: インターロイキン・レセプターにおけるサブユニット構造の進化と機能分化. 第 18 回日本分子生物学会, 名古屋, 12 月.
39. Ikey T., Shin-i T. and Gojobori T.: Molecular evolution of functional domains. 第 2 回「タンパク質立体構造の構築原理」ワークショップ, 東京, 12 月.
40. 池尾一穂: POU-ホメオドメインの分子進化. 癌研究会癌研究所細胞生物部セミナー, 東京, 12 月.

H-b. 遺伝子機能研究室

当研究室は平成 6 年度に遺伝情報研究センターに新設されたが, 平成 7 年度新たに設置された生命情報研究センターに移設された. 当初の定員は, 教授 1 名, 助手 1 名で, 教授(館野義男)は就任しているが, 助手は選考中である. 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もとにして遺伝子やタンパク質の機能を分子進化的に推定する研究を進めていると同時に, DNA Data Bank of Japan (DDBJ) の研究業務を生命情報研究センター内の他の 3 研究室と共同しながら遂行している. 研究分野の具体例として, 以下に現在進行中の *Penicillium decumbens* の抗生物質産生に関与する(と考えられる)遺伝子の機能推定の研究を紹介する.

(1) *Penicillium decumbens* の抗生物質産生に関与すると考えられる遺伝子の機能推定: 館野義男, 池尾一穂¹, 村上 健² (¹遺伝情報分析研究室, ²明治製菓)

Fosphomycin (FOM) は, グラム陽性や陰性細菌のペプチドグリカン合成を阻害する抗生物質である. この物質は放線菌や *Pseudomonas* 菌などの原核生物で産生することは知られている. また, 真核生物においても, *P. decumbens* 体内で propenylphosphonic acid (cPA) がエポキシ化され FOM が産生されることは 25 年も前に報告されている. にもかかわらず, FOM の生合成に直接関与する遺伝子については原核, 真核両生物で不明だった. その理由の 1 つとして, FOM を化学的に合成する系が確立されてきており, それ

が大量生産のラインに組み込まれていることが挙げられる。FOM の産生は医薬開発の面では余り魅力がない問題になっているのかも知れない。

しかし、この問題を生物学やバイオテクノロジーの面からみると、その興味はまだ失なわれてはいない。例えば、この生体内エポキシ化反応そのものの学問的な興味以外に、化学合成では不可能なシラセミ体の選択的合成、遺伝子技術の導入による生産性の増大化・効率化や、この反応の応用などが挙げられる。そこで、この反応を解明するには、まず原核生物を材料とすることが考えられるが、原核生物は多量の FOM に耐性ではないという本来の制限がある。つまり、遅かれ早かれ、生産性の増大化に対する障害に対面しなければならなくなる。そこで、私達は FOM に耐性のある *P. decumbens* に注目した。

生体内変換反応を触媒するタンパク質は、よくその基質によって誘導されることが知られている。このエポキシ化反応も生体内変換反応であることに注意し、この反応を触媒する酵素遺伝子を探索することとした。まず *P. decumbens* の細胞抽出系において cPA で誘導されるタンパク質を 2 次元電気泳動法によって入手し、両端のアミノ酸を決定した。次に、このアミノ酸配列から DNA 配列を推定し、これをプライマーとして PCR にかけて、候補遺伝子のクローニングを行なった。結局、2,329 塩基対の DNA 断片がえられ、それは 2 カ所にイントロンをもち、277 のアミノ酸をコードする ORF を含むことがわかった。このタンパク質を *epoA*、それをコードする遺伝子を *epoA* 遺伝子と名付けた。そして、この遺伝子が *P. decumbens* 体内で cPA を変換し FOM を産生する反応を促進させることを確認した。*epoA* が cPA をエポキシ化することが強く示唆されたが、もう一步踏み込んだ、あるいは別の角度からの証拠が要求された。

別の角度からこの問題をみるために、エポキシ化反応が基質のエチル結合をほどいて酸素を付ける反応であることに着目し、これとよく似た反応を触媒する酵素を探索することにした。そして、原核生物 *Metylococcus capsulatus* の *mmoYc*、*Metylosinus trichosporium* の *mmoYm*、*Pseudomonas mendocina* の *tmoE*、*Nocardia corallina* の *amoA*、*Pseudomonas* sp. の *DmpL* などがこれを満足する酵素としてえられた。これらのアミノ酸配列は既に分かっていたので、*epoA* との比較を、分子系統学的に進めていくことにした。まず、これら 6 本のアミノ酸配列をマルチプルアラインメントし、互いの間のアミノ酸類似度を調べた。この場合、類似性が高いほど機能的に似ているということが前提条件になっている。結果として、*epoA* と *amoA* の間の類似度が *mmoYc* と *tmoE* の間の類似度よりも高いということが分かった。このことは、*epoA* 以外はすべて原核生物の酵素であることを考慮すると、これがエポキシ化酵素である可能性を一步高めることになる。さらに、アラインメントの結果にもとづいて、*epoA* のアミノ酸座位ごとに他の 5 つの配列と比較すると、多くの座位で同じアミノ酸を共有することもわかった。

これら 6 つのタンパク質の機能部位が未だ分からないので、機能部位に着目した比較研究はできなかつたが、共有するアミノ酸に芳香族アミノ酸が異常に多く、このことがこのタンパク質の機能や構造に関与していることが示唆された。まだ問題は残っているが、分子進化学的な解析結果も上記生化学の結果と一致しており、*epoA* が cPA を FOM に変換

することがほぼ確実になった。また、この結果は、真核生物で初めてのメタン酸化酵素の発見という意義をもっている。(この研究成果の一部は現在投稿中である。)

研究業績

(1) 原著論文

1. Kitakami H., Shin-i T., Ikee K., Ugawa Y., Saitou N., Gojobori T. and Tateno Y.: YAMATO and ASUKA: DNA Database Management Systems. In Proceedings of the Twenty-Eighth Hawaii International Conference on System Sciences, pp. 72-80, L. Hunter and B. D. Shriver, eds., IEEE Computer Society Press, Los Alamitos, California, 1995.

(2) その他

1. 館野義男: 数理情報科学事典, 朝倉書店, 1995.
2. 館野義男: 生命情報学の展開, 蛋白質・核酸・酵素, **40**, 1803-1808, 1995.

(3) 発表講演

1. Tateno Y.: Progress in database construction at DNA Data Bank of Japan. ケンブリッジ, イギリス, 4月.
2. Tateno Y.: DNA data bank's role in the study of molecular evolution. コールドスプリングハーバー, ニューヨーク, 5月.
3. Tateno Y.: Molecular evolution of glutamine synthetase genes. 葉山, 8月.
4. Tateno Y.: Genome as a unit of evolution. エンビ島, マルセイユ, 11月.

H-c. 大量遺伝情報研究室

当室は新設の研究室であり, 10月1日付けで西川建教授が着任した。研究対象は遺伝情報の第1次産物である蛋白質について, コンピュータ解析によるアミノ酸配列データからの立体構造予測, 並びにデータベース解析による立体構造の分類などの問題を扱う。これらの問題は前任地の蛋白工学研究所から持ち越した研究課題でもあり, 以下に今年度行なった研究について簡単に紹介し報告に代える。

(1) 3D-1D法による蛋白質立体構造の予測: 松尾 洋¹, 西川 建¹(¹蛋白工学研究所, 現富士通(株)国際情報科学研究所)

3D-1D法では与えられたアミノ酸配列を既知の蛋白質の立体構造に次々に当てはめてみて, どの構造と一番よく適合するかを調べる。3次元(3D)の構造と1次元(1D)の配列を比べるので3D-1D法という。内容的には配列を構造に乗せる操作(最適のアラインメントを求める問題)と, 構造と配列の適合性を定量的に評価する評価関数の設定の仕方において方法論に種々のバリエーションが生じる。われわれも独自の方法論を開発し, COMPASSプログラムと命名した[1]。1994年に世界的な規模の構造予測コンテストが

開かれ、われわれも参加した。コンテストは完全なブラインド（目隠し）テストによって行われ、実験家から提供された未発表の立体構造（全部で9問）を正しく予測できるかどうかを競われた。参加10数グループの中でCOMPASSは上位の成績を修めることができた。先ごろわれわれの報告 [2] を含め、このコンテストの総括報告が *Proteins* 誌に掲載された。

その他にもCOMPASSは種々の未知蛋白に適用されたきたが、これまでに5種類の蛋白質について確信のもてる予測結果が得られている（そのうちの2つの蛋白に関しては、その後発表されたX線結晶構造によって予測の正しさが実証された）。中でも予想外であったのは、リン脂質分解酵素の sphingomyelinase (Bacillus cereus 由来) がDNAを切断するDNase I (ウシ) の立体構造と類似する構造をもつだろうと予測されたことである [3]。両者のアミノ酸配列にはまったくホモロジーが認められない（一致度は10%以下）。しかし、3D-1D法による対応関係から触媒活性に関与する重要な残基だけは、ほぼ完全に保存されていることが判明した（名古屋市立大・池沢宏郎教授との共同研究）。両酵素はともにリン酸エステル結合を切断する phosphodiesterase として共通性がある。予測された立体構造の類似性と機能上の共通性より両者は共通起源に由来するが、機能分化（一方はリン脂質、他方はDNAを基質とする）し、配列ホモロジーが認められないことから分子進化的には非常に遠い関係にある蛋白質であると推論できる。

(2) 3Dプロフィールを用いた変異体蛋白質の熱安定性の計算：太田元規¹，西川 建（¹蛋白工學研究所，現早稲田大學理工学部）

3Dプロフィール(3D-profile)は3D-1D法の中で使われる20xnのテーブル(nは蛋白質の残基数)であり、各残基位置で20種類のアミノ酸を導入したと仮定したときのエネルギー(評価関数)値を表わしている。このテーブルを少しだけ変更すると、1残基置換した変異体と天然型との安定性エネルギーの差を表現した「修正3Dプロフィール」が得られる。このとき、エネルギー変化の見積りには野性型および変異体それぞれの変性状態のエネルギー準位を考慮する必要があるが、変性状態のエネルギー計算にはある種の近似を用いた(詳細は略)。こうして得られる修正3Dプロフィールは、すべての可能な1残基置換体の安定性を一挙に表現したテーブルとなっている。このような3Dプロフィールによる計算が現実の変異体の安定性と本当に対応しているかどうかを見るために、大腸菌RNase Hの1残基置換体(約100種類)を用い、実測と計算の比較を行なった[5]。安定性の変化を変性温度の野性型からのずれ(ΔT_m)で表わし実測値と計算値を比較すると、すべての変異体についての相関係数は0.51であった。さらに、蛋白分子内部に導入された変異だけに絞る(データ数32個)と相関係数は0.68まで上昇した(理由として、計算では蛋白質の主鎖構造はまったく変化しないと仮定しているが、現実の蛋白分子では分子表面よりも内部でこの仮定がより良く当てはまるからだと思われる)。計算に用いた評価関数はデータベースから純経験的に導出されたものである。それにもかかわらず、このように実験値との直接の相関が得られたことは、われわれの開発した評価関数の現実性・信頼性を示しており大きな意義がある。また、アミノ酸変異を導入して蛋白質の安定化を図る研

究等において今後簡便かつ有用なツールになると期待できる。

研究業績

(1) 原著論文

1. Matsuo Y, Nakamura H. and Nishikawa K.: Protein structural similarities predicted by a sequence-structure compatibility method. *J. Biochem.*, **118**, 137-148, 1995.
2. Matsuo Y. and Nishikawa K.: Assessment of a protein fold recognition method that takes into account four physicochemical properties: side-chain packing, solvation, hydrogen-bonding, and local conformation. *Proteins; Str. Func. Genet.*, **23**, 370-375, 1995.
3. Tamura H, Tameishi K., Yamada A., Tomita M., Matsuo Y., Nishikawa K. and Ikezawa H.: Mutation in aspartic residues modifies catalytic and haemolytic activities of *Bacillus cereus* sphingomyelinase. *Biochem. J.*, **309**, 757-764, 1995.
4. Shiraki K., Nishikawa K. and Goto Y.: Trifluoroethanol-induced stabilization of the α -helical structure of β lactoglobulin: Implication for non-hierarchical protein folding. *J. Mol. Biol.*, **245**, 180-194, 1995.
5. Ota M., Kanaya S. and Nishikawa K.: Desk-top analysis of the structural stability of various point mutations introduced into ribonuclease H. *J. Mol. Biol.*, **248**, 733-738, 1995.

(2) その他

なし

(3) 発表講演

1. Nishikawa K.: Application of a 3D-1D compatibility approach to the protein structure prediction. 2nd Workshop "Principles of Protein Architecture", 東京, 12月.

I. 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ことから、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。以下の研究は、東京農工大学・小林泰夫教授、東京大学・高橋秀夫教授、筑波大学・山根國男教授、立教大学・河村富士夫教授、奈良先端大学院大学・小笠原直毅教授、福山大学・藤田泰太郎教授との共同研究である。

分子遺伝学の好材料としての枯草菌については前号(45号)に詳述した。このバクテリアでは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完成に近づきつつあり、さ

らに遺伝子機能解析も組織的に始まろうとしていて、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。

(1) 枯草菌孢子形成遺伝子の発現制御に関する研究: 藤田昌也, 定家義人

(1-a) 孢子形成遺伝子の転写制御に関する研究: 藤田昌也, 定家義人

枯草菌の孢子形成は約50個の遺伝子の逐次的発現によって遂行される。この約50個の孢子形成遺伝子のなかにはRNAポリメラーゼのシグマ因子や転写因子をコードしているものがあり、それらの因子は孢子形成遺伝子の発現を制御していることが明らかになった。これらの事実を踏まえて、我々は孢子形成に関する転写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昨年より開始した。昨年度は、枯草菌 σA 、 σH 、 σE -RNAポリメラーゼによる *in vitro* 転写系を構築し、Spo0A, SpoIID などの転写因子による種々孢子形成遺伝子の発現制御を解析した。今年度は転写因子およびRNAポリメラーゼの安定な供給を目指して大腸菌による大量発現系の構築を行った。その結果、RNAポリメラーゼ関連因子としては σA , σH , σE , σF , σG , σK , およびコア酵素サブユニット β , β' , α , さらに転写因子としては Spo0A, AbrB の大量発現系が構築された。現在、これらの組換え蛋白質を精製し、*in vitro* 再構成を試みている。さらにこの系を用いてホロ酵素における σ 因子置換反応機構についても解析予定である。

(1-b) RNAポリメラーゼと相互作用する因子の検索: 藤田昌也, 定家義人

σ 因子の多型性によるRNAポリメラーゼの機能変換は孢子形成に必須である。さらに、時期特異的な転写因子 Spo0A, SpoIID による遺伝子発現制御も孢子形成に必須である。最近、Spo0Aが σH と相互作用しているということがC. P. Moran, Jr. のグループによって報告され、この分野の研究は転写因子-RNAポリメラーゼの分子解剖へと展開されようとしている。そこで、RNAポリメラーゼと相互作用している因子を系統的に検索する系の構築を行った。まず、 α サブユニットのC末端にヒスチジン6残基を導入し、栄養増殖および孢子形成の各時期の細胞粗抽出液と混合、変性、再構成する事によってRNAポリメラーゼを *in vitro* 再構成し、ニッケルイオンアフィニティークロマトグラフィーによって精製した。精製過程において種々のイオン強度の緩衝液でカラムを洗浄することによってRNAポリメラーゼと相互作用している蛋白質を分離することができた。RNAポリメラーゼの溶出画分にはホロ酵素サブユニット以外に、生育時期によって異なる蛋白質が存在しており、これらは転写制御に何らかの役割を担っている可能性がある。現在これらの蛋白質のアミノ酸配列決定を試みている。

(2) 枯草菌 secA の孢子形成における役割の研究: 藤田昌也, 定家義人

37°Cで枯草菌温度感受性変異株 *secA341* は孢子形成を示さない。それは前号で報告したように孢子形成開始期特有な σH 蛋白質の機能発現を阻害するためである。さらに今年度わかったことは SecA 依存で分泌される蛋白分解酵素 (*aprE*) の転写も起きないことであった。*aprE* 遺伝子は多くの転写制御因子によってその発現が制御されている。そのうち

の1つ *degR* は陽因子であり σD で転写される。37°Cで *secA341* 変異株では σD 遺伝子の発現は起きるが *degR* 遺伝子の発現が起きない。このように *secA* の欠損が遺伝子転写にまで及んでいることがわかった。これが SecA 依存蛋白局在化を介した膜蛋白によるシグナル伝達の不備によるものかあるいはもっと直接的なものか解明中である。

(3) 枯草菌ゲノム解析: 定家義人, 谷田勝教, 藤田昌也

日欧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 *rrnE* 領域を担当している。Long and Accurate PCR 法によそれまで困難であった DNA の分取が可能となり pNEXT26-*rrnE*-pSOFT8 間の方向が分かり, M13 フェージを用いたランダムシーケンス法によるシーケンスが進展した。この領域には多糖類を分解する酵素遺伝子のオペロンが存在するようである。また 200 bp ほどの領域は M13 フェージにはクローン化されないシーケンスをもっていることもわかった。このように枯草菌ゲノム断片を大腸菌に持ち込むと増幅しないものがある。完全に連続したシーケンス解析を要求される本研究は技術的に難しい。

研究業績

(1) 原著論文

1. Fujita M., Hanaura Y. and Amemura A.: Analysis of the *rpoD* gene encoding the principal sigma factor of *Pseudomonas putida*. *Gene*, **167**, 93-98, 1995.
2. Nakane A., Takamatsu H., Oguro A., Sadaie Y., Nakamura K. and Yamane K.: Acquisition of azide-resistance by the elevated *secA* ATPase activity confers azide-resistance upon cell growth and protein translocation in *Bacillus subtilis*. *Microbiology*, **141**, 113-121, 1995.

(2) その他

なし

(3) 発表講演

1. 藤田昌也, 定家義人: 枯草菌 RNA ポリメラーゼの機能解析. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
2. 黄 慈芳, 佐藤 勉, 藤田昌也, 小林泰夫: 枯草菌孢子形成期に転写調節因子 Spo-IIIID により調節される遺伝子の解析. 第18回日本分子生物学会年会. 名古屋, 12月.
3. Fujita M. and Sadaie Y.: *In vitro* transcriptional analysis of *Bacillus subtilis* sporulation gene. 8th International Conference on Bacilli, California, July.
4. 定家義人, 藤田昌也: 枯草菌 *secA* 遺伝子の発現制御. 第18回日本分子生物学会年会, 名古屋, 12月.
5. Asai K., Takamatsu H., Fujita M., Kawamura F., Yamane K. and Sadaie Y.: The

role of the SecA of *Bacillus subtilis* in sporulation. 8th International Conference on Bacilli, California, July.

6. 定家義人, 藤田昌也, 河村富士夫, 朝井 計, 高橋秀夫, 高松宏治, 山根国男, 小林泰夫: 枯草菌孢子形成期における SecA の役割. 第 67 回日本遺伝学会大会. 岡山, 10 月.

J. 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をしている. 本年, 実験圃場長は育種遺伝研究部門の森島(沖野)啓子教授が兼任し, 芦川祐毅, 永口 貢, 宮林登志江の各技官が運営にあたった.

IV. 海外における活動

氏名	内容	渡航先	期間
舘野義男	ハワイ国際システム会議に出席・発表	アメリカ合衆国	7. 1. 2～ 7. 1. 8
五條堀 孝	王立がん研究所にて研究調査	連 合 王 国	7. 1. 8～ 7. 1.16
池尾一穂	王立がん研究所にて研究調査	連 合 王 国	7. 1. 8～ 7. 1.16
今西 規	王立がん研究所にて研究調査	連 合 王 国	7. 1. 8～ 7. 1.16
佐野芳雄	作物の遺伝学に関する米国での最近の研究動向の把握及びバージニア州立大学等において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 1.24～ 7. 2. 2
佐野芳雄	中国の植物遺伝変異に関する研究	中華人民共和国	7. 2.10～ 7. 2.12
寶来 聰	AAAS年次大会及び科学革新エキスポに出席・発表	アメリカ合衆国	7. 2.16～ 7. 2.23
斎藤成也	米国のデータバンク二か所(NCBI・NCGR)との実務者協議	アメリカ合衆国	7. 2.26～ 7. 3. 6
舘野義男	米国のデータバンク二か所(NCBI・NCGR)との実務者協議	アメリカ合衆国	7. 2.28～ 7. 3. 7
池尾一穂	米国のデータバンク二か所(NCBI・NCGR)との実務者協議	アメリカ合衆国	7. 2.28～ 7. 3.11
石浜 明	日・印科学協力事業分子生物学ワークショップ「原核生物における遺伝子転写」に出席	イ ン ド	7. 3.28～ 7. 4. 3
嶋本伸雄	日・印科学協力事業分子生物学ワークショップ「原核生物における遺伝子転写」に出席	イ ン ド	7. 3.28～ 7. 4. 3
藤田信之	日・印科学協力事業分子生物学ワークショップ「原核生物における遺伝子転写」に出席	イ ン ド	7. 3.28～ 7. 4. 3
東谷篤志	日・印科学協力事業分子生物学ワークショップ「原核生物における遺伝子転写」に出席	イ ン ド	7. 3.28～ 7. 4. 3
五條堀 孝	DNA データバンク国際諮問委員会・実務者会議に出席及びパスツール研究所において研究連絡	連 合 王 国 フ ラ ンス	7. 3.30～ 7. 4. 6
舘野義男	DNA データバンク国際諮問委員会・実務者会議に出席及びパスツール研究所において研究連絡	連 合 王 国 フ ラ ンス	7. 4. 1～ 7. 4.10

氏 名	内 容	渡 航 先	期 間
斎藤成也	人類進化に関する国際シンポジウムに出席・発表及びDNA データバンク国際諮問委員会・実務者会議に出席並びに英国自然誌博物館等において研究連絡	連 合 王 国	7. 4. 2～ 7. 4. 11
池尾一穂	DNA データバンク国際諮問委員会・実務者会議に出席	連 合 王 国	7. 4. 2～ 7. 4. 9
今西規	人類進化に関する国際シンポジウム・DNA データバンク実務者会議に出席及び英国自然誌博物館において研究連絡	連 合 王 国	7. 4. 2～ 7. 4. 10
上田均	ショウジョウバエ研究会議に出席・発表及び国立衛生研究所等において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 4. 4～ 7. 4. 17
林茂生	ショウジョウバエ研究会議に出席・発表	アメリカ合衆国	7. 4. 5～ 7. 4. 11
斎藤成也	生物分類データベースワークショップに出席	アメリカ合衆国	7. 4. 19～ 7. 4. 22
石浜明	韓国微生物学会における特別講演	大 韓 民 国	7. 4. 27～ 7. 4. 29
今村孝	第3回国際18番染色体ワークショップに出席・発表	アメリカ合衆国	7. 5. 7～ 7. 5. 12
館野義男	NCBI等において生命情報学データベースの調査研究	アメリカ合衆国	7. 5. 7～ 7. 5. 12
小原雄治	研究集会「ゲノムマッピングとシーケンシング」に出席・発表	アメリカ合衆国	7. 5. 10～ 7. 5. 16
西村昭子	ワークショップ「細胞分裂：構造と機能と制御」に出席・発表及びジュワンマーチ研究所等に研究連絡	ス ペ イ ン	7. 5. 20～ 7. 5. 29
松本健一	フリードリヒトミィシャー研究所においてTN-X欠損マウスの組織・解析用抗体の精製と欠損マウスの交配に関する打合せ	ス イ ス	7. 5. 28～ 7. 6. 11
桂 勲	第10回国際C. elegans 研究会議に出席・発表	アメリカ合衆国	7. 6. 2～ 7. 6. 9
石原健	第10回国際C. elegans 研究会議に出席・発表及びマサチューセッツ工科大学において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 6. 2～ 7. 6. 11
安達佳樹	第10回国際C. elegans 研究会議に出席・発表	アメリカ合衆国	7. 6. 2～ 7. 6. 9
小原雄治	第10回国際C. elegans 研究会議に出席・発表及びワシントン大学において研究・技術交流	アメリカ合衆国	7. 6. 3～ 7. 6. 11
瀬野悍二	FASEB 夏期研究会議に出席・発表及びスタンフォード大学等において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 6. 16～ 7. 7. 6
山尾文明	FASEB 夏期研究会議に出席・発表及びエール大学等において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 6. 24～ 7. 7. 5
堀内賢介	ロックフェラー大学において一本鎖DNA フェージに関する共同研究	アメリカ合衆国	7. 6. 29～ 7. 7. 14

氏名	内容	渡航先	期間
定家義人	バシラス国際会議に出席・発表及びカリフォルニア大学において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 7. 7～ 7. 7. 24
定家義人	バシラス国際会議に出席・発表及びカリフォルニア大学において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 7. 7～ 7. 7. 24
藤田昌也	バシラス国際会議に出席・発表及びDNAX研究所において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 7. 7～ 7. 7. 16
中辻憲夫	ヨーロッパ発生物学会議に出席・発表及びパリ大学において研究連絡	フランス	7. 7. 8～ 7. 7. 18
石浜明	FASEB 夏期研究会議に出席・発表及びカリフォルニア大学等において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 7. 11～ 7. 7. 24
嶋本伸雄	FASEB 夏期研究会議に出席・発表	アメリカ合衆国	7. 7. 13～ 7. 7. 25
後藤英夫	国立衛生研究所においてマウスの精子形成を制御する遺伝子に関する共同研究	アメリカ合衆国	7. 7. 19～ 8. 7. 31
出原賢治	国際免疫学会に出席・発表	アメリカ合衆国	7. 7. 22～ 7. 7. 31
寶来聰	南米の先住民の人類遺伝学的研究のためのミイラの調査及び先住民のフィールド調査	ボリビア	7. 8. 1～ 7. 8. 19
小川智子	FASEB 夏期研究会議に出席・発表及びカリフォルニア大学等において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 8. 2～ 7. 8. 12
石浜明	「細菌とファージの分子遺伝学」に関するコールドスプリングハーバー会議に出席・講演及びカリフォルニア大学等において研究連絡	アメリカ合衆国	7. 8. 13～ 7. 8. 27
杉山勉	コペンハーゲン大学動物学研究所において共同研究並びに第2回ヒドラペプチド計画会議及び第6回ヒドロゾア発生活議に出席・発表	デンマーク ドイツ	7. 8. 23～ 7. 9. 30
西村昭子	カロ教授退官記念講演会「複製とトランスポジション」に出席・講演及びジュネーブ大学において研究連絡	フランス スイス	7. 8. 31～ 7. 9. 9
石浜明	バーミンガム大学等において転写装置の分子解剖に関する共同研究	連合王国	7. 9. 9～ 7. 9. 19
原弘志	国際シンポジウム「細菌生理と抗生物質作用における細胞表層」に出席・発表	イタリア	7. 9. 9～ 7. 9. 17
池村淑道	エジンバラ大学等において共同研究及びFEBS研究集会「ゲノム構成と遺伝子機能・進化」に出席・発表	連合王国 ギリシャ	7. 9. 14～ 7. 9. 23
五條堀孝	EBI等において生命情報データベースの調査研究	連合王国 フランス	7. 9. 14～ 7. 9. 21
小原雄治	第7回国際ゲノムシーケンシング解析会議に出席・講演及びマサチューセッツ大学における研究連絡	アメリカ合衆国	7. 9. 16～ 7. 9. 24
斎藤成也	ジャックモナー研究所等において生命情報データベースの調査研究	フランス ドイツ 連合王国	7. 9. 17～ 7. 9. 28

氏名	内容	渡航先	期間
清水 裕	第2回ヒドラペプチド計画会議及び第6回ヒドラゾア発牛会議に出席・発表並びにミュンヘン大学等において研究連絡	ドイツ アメリカ合衆国	7. 9. 17～ 7. 10. 8
藤澤敏孝	ミュンヘン大学動物学研究所において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と機能解析に関する共同研究	ドイツ	7. 9. 18～ 7. 10. 22
服田昌之	第2回ヒドラペプチド計画会議及び第6回ヒドラゾア発牛会議に出席・発表並びにミュンヘン大学において研究連絡	ドイツ	7. 9. 20～ 7. 10. 5
小出 剛	ケンブリッジ大学においてマウスにおけるゲノムインプリンティング機構に関する共同研究	連合王国	7. 10. 12～ 7. 10. 19
小川智子	国際会議「組換え：その機構と生物学的重要性」に出席・講演及びスイス連邦工科大学において共同研究	フランス スイス	7. 10. 14～ 7. 10. 24
森島啓子	第3回国際イネ遺伝学シンポジウムに出席・発表並びに中国におけるイネ遺伝資源の調査及び共同研究打合せ	フィリピン 中華人民共和国	7. 10. 15～ 7. 10. 29
今西 規	NCBIにおいてDNAデータベースに関する調査研究	アメリカ合衆国	7. 10. 24～ 7. 11. 1
館野義男	第3回ヒトゲノムワークショップに出席及びバーゼル大学において研究打合せ	フランス スイス	7. 11. 1～ 7. 11. 9
城石俊彦	ミシガン大学自然史博物館におけるマウス標本調査及びマウスゲノムに関する情報交換	アメリカ合衆国	7. 11. 11～ 7. 11. 17
五條堀 孝	インドにおけるDNAデータベース利用の調査	インド	7. 12. 3～ 7. 12. 7
五條堀 孝	エッサウイラ国際シンポジウムにおいて講演及びパスツール研究所でセミナー講演	モロッコ フランス	7. 12. 9～ 7. 12. 20
池尾一穂	エッサウイラ国際シンポジウムに出席及びパスツール研究所で研究打合せ	モロッコ フランス	7. 12. 9～ 7. 12. 20
今井弘民	キバハリアリ類の染色体進化と種分化についての学術調査	オーストラリア	7. 12. 10～ 8. 1. 10
堀内賢介	ロックフェラー大学において繊維状ファージの複製機構に関する共同研究	アメリカ合衆国	7. 12. 27～ 8. 1. 5

V. ほかの機関における講義

氏名	機関名	期間	担当科目
村上昭雄	信州大学理学部	7. 4. 1～8. 3.31	発生学特論
五條堀 孝	岡山大学理学部	7. 4. 1～8. 3.31	分子進化学
中辻憲夫	鳥取大学医学部	7. 4. 10～8. 3.31	細胞工学
石浜 明	京都大学理学部	7. 4. 1～8. 3.31	RNA ポリメラーゼ の分子生物学
今村 孝	浜松医科大学	7. 4. 1～8. 3.31	人類遺伝学
定家義人	浜松医科大学	7. 4. 1～8. 3.31	放射線医学
今村 孝	東京医科歯科大学	7. 4. 1～8. 3.31	人類遺伝学
斎藤成也	秋田大学大学院医学研究 科	7. 4. 1～8. 3.31	微生物学特論
池村淑道	東京工業大学	7. 4. 1～7. 9.30	バイオサイエンス特 論第一
小川智子	東京大学医学部	7. 4. 1～8. 3.31	医科学特論 I
小川智子	名古屋大学理学部	7. 5. 1～8. 3.31	生物科学特論第 23 分子生物学特論第 30
中辻憲夫	岡山大学医学部	7. 6. 1～8. 3.31	分子医化学
城石俊彦	東京大学農学部	7.10. 23～8. 3.31	比較動物細胞形態学
斎藤成也	東京大学理学部	7.12. 1～8. 3.31	分子系統進化学
森島啓子	静岡大学農学部	7.12. 1～8. 3.31	植物育種及び遺伝学 特論
白木原康雄	兵庫教育大学	7.12. 1～8. 2.29	物理学特論 I 生物 物理学
桂 勲	神戸大学医学部	8. 2. 1～8. 3.31	生理学
小原雄治	神戸大学医学部	8. 2. 1～8. 3.31	生理学

VI. 共同研究事業

A. 共同研究

- (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
丸山徳見 (徳島文理大学)
- (2) 細胞増殖制御遺伝子の発現調節機構
松影昭夫 (愛知県がんセンター研究所)
- (3) Q β フェージ 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 (帝京大学理工学部)
- (4) 増殖定常期大腸菌 RNA ポリメラーゼの主要シグマ因子 δ^{38} (rpoS 遺伝子産物) の研究
田中 寛 (東京大学分子細胞生物学研究所)
- (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 (京大大学院理学部)
- (6) 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 (徳島大学医学部)
- (7) 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)
- (8) 哺乳類細胞の細胞周期変異株を用いた染色体脱凝縮機構の解明
安田秀世 (東京薬科大学生命科学部)
- (9) 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 (関西学院大学理学部)
- (10) Two hybrid system を用いた転写因子 ELP に結合する因子のクローニング
丹羽大貫 (広島大学原爆放射能医学研究所)
- (11) DNA 複製開始における DNA ルーピングおよび DNA ベンディングの機能
犬塚 學 (福井医科大学)
- (12) 大腸菌の 2 種類の翻訳開始 tRNA の役割について
藤崎真吾 (東邦大学理学部)
- (13) 大腸菌の蛋白質分解酵素 Prc の作用
標的
西村行進 (東邦大学理学部)
- (14) 淡水産および海産ヒドロ虫類 (刺胞動物門) の系統分類—幼生の変態誘引と生殖隔離の観点から—
久保田信 (京大大学院理学部)

- (15) ヒドラ解離細胞再集合塊における外胚葉, 内胚葉上皮細胞選別機構
沢田康次 (東北大学電気通信研究所)
- (16) ヒドラのペプチド性シグナル分子の単離と機能解析
渡辺一雄 (広島大学総合科学部)
- (17) DNA から見たサンゴの系統分類
大森 信 (東京水産大学)
- (18) エピトープセレクション法による, ヒドラの細胞分化マーカー遺伝子と特異的抗体の単離
小早川義尚 (九州大学理学部)
- (19) DNA 超らせんによるウニ初期胚の転写調節に関する研究
赤坂甲治 (広島大学理学部)
- (20) 動物遺伝子の転写制御
半田 宏 (東京工業大学生命理工学部)
- (21) 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
吉田高志 (国立予防衛生研究所)
- (22) 昆虫の個体と細胞の寿命に関する遺伝学的・細胞学的解析
岩淵喜久男 (東京農工大学農学部)
- (23) カイコガ科(Bombycidae)における家蚕(Bombyx mori)と野蚕(Bombyx mandarina)の類縁関係の遺伝学的研究
藤井 博 (九州大学農学部)
- (24) 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 (山形大学工学部)
- (25) 高等動物クロマチン構造と染色体 GC 含量分布との関係の解析
三田和英 (放射線医学総合研究所)
- (26) 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 (東海大学医学部)
- (27) 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)
- (28) 染色体バンド構造と遺伝子塩基配列・反復配列との関係の解析
岡田典弘 (東京工業大学生命理工学部)
- (29) 種の分化と遺伝子の分化に関する数理的解析
植田信太郎 (東京大学大学院理学系研究科)
- (30) 塩基配列・アミノ酸配列の多重整列プログラムの開発
國藤 進 (北陸先端科学技術大学院大学)
- (31) 癌細胞の増殖・浸潤過程での細胞外マトリックス糖蛋白テネイン C・テネイン X クロストーク機構の解明

酒井尚雄（自治医科大学）

- (32) 自己免疫疾患におけるサイトカインレセプターの構造異常の解析
中島 衡（九州大学医学部附属病院）
- (33) 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（九州大学医学部）
- (34) ヒト抗体遺伝子群の多型と発現に関する人類遺伝学的研究
松田文彦（京都大学遺伝子実験施設）
- (35) 免疫グロブリン遺伝子を用いて自己抗体を遺伝子工学的に再構成する
赤水尚史（京都大学医学部）
- (36) ヒト染色体特異的 Not I 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）
- (37) DNA の 2 次元電気泳動法による解析
原 謙一（大阪大学細胞生体工学センター）
- (38) Restriction Landmark Genomic Scanning (RLGS) 法を用いた、肝細胞癌特異的
遺伝子変異の検索
小方則夫（新潟大学医学部）
- (39) インターロイキン 4 の細胞内情報伝達経路における p47^{phox} の役割の解析
住本英樹（九州大学医学部）
- (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（北海道大学農学部）
- (41) 植物集団に発達する遺伝構造の理論的および実験的解析
米沢勝衛（京都産業大学工学部）
- (42) ハッカネズミ β -グ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）
- (43) 日中共同研究に基づき捕獲された野生マウス集団の補体系蛋白質群の新しい変異体の
変異様式の分子生物学的解析
坂井俊之助（金沢大学がん研究所）
- (44) 野生マウス系統の calreticulin 及び PDI 遺伝子多型の解析
山口泰典（福山大学工学部）
- (45) アジア産ハッカネズミ類における遺伝的分化および形態分類に関する研究
土屋公幸（宮崎医科大学）
- (46) 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）
- (47) MHC 内の組換えに依存する毛色変異 (Rim 5) の分子機構の解析
前田正人（社会保険三島病院）
- (48) YAC を用いたマウス第 11 染色体 Ts-js 遺伝子座領域の物理的地図の作成
米川博通（東京都臨床医学総合研究所）

- (49) 大腸菌の細胞分裂における Glycyl-tR-NA 合成酵素の役割
山田優子 (自治医科大学)
- (50) 大腸菌の細胞周期における AP₄A とその結合タンパク質の役割
小林恭子 (東京医科大学)
- (51) 大腸菌の細胞分裂に関与する遺伝子群の解析
松澤 洋 (東京大学農学部)
- (52) 深海環境 (低温, 高压) 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)
- (53) 不死化遺伝子導入マウスや胚幹細胞を使った造血系初期幹細胞の増殖および分化調節機構に関する研究
中辻孝子 (東海大学海洋学部)
- (54) 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)
- (55) レーザー切断 DNA を用いたシーケンシングに関する研究
鷺津正夫 (成蹊大学工学部)
- (56) シトクロム P-450 cam 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?
荒牧弘範 (第一薬科大学)
- (57) 線虫細胞死遺伝子 *ced-3*, *ced-4* の作用機構
三浦正幸 (筑波大学基礎医学系)
- (58) 帰納推論法を用いた分子進化系統樹の構築
田中 博 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)
- (59) チロシナーゼ遺伝子ファミリーの分子進化的解析
山本博章 (東北大学理学部)
- (60) クリングル遺伝子群の分子進化的再評価と合成プライマータグによる新しい遺伝子の探索
高橋 敬 (島根医科大学)
- (61) 酵母の系を用いてクローン化された線虫の情報伝達関連遺伝子の生体内機能の解析
飯野雄一 (東京大学大学院理学系研究科)
- (62) 線虫 *C. elegans* の *cet-1* 突然変異株の単離
森田清和 (北海道大学薬学部)
- (63) *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 (東京大学医科学研究所)
- (64) 枯草菌の *in vitro* 転写系を用いた遺伝子発現制御系の解明
藤田泰太郎 (福山大学工学部)
- (65) 真核生物の組換え反応に関与する蛋白質と蛋白質複合体の生化学的, 構造学的解析
篠原 彰 (大阪大学理学部)

- (66) 植物及び、微生物における Fosmidomycin の作用機構
武田 穰 (名古屋大学生物分子応答センター)
- (67) DNA レベルの遺伝的変異の保有機構に関する理論的研究
田嶋文生 (東京大学大学院理学研究科)
- (68) ヒスト H1 サブタイプならびに非ヒストン核内蛋白質の DNA 構造特異的結合の解析
巽 紘一 (放射線医学総合研究所)
- (69) WX 遺伝子座を中心としたイネの分子遺伝学的研究
佐野芳雄 (北海道大学農学部)
- (70) 母性ゲノムインプリンティングによるマウス単為発生胚の発生支配
河野友宏 (東京農業大学総合研究所)
- (71) ショウジョウバエ発生における細胞の運命決定機構
蒲生寿美子 (大阪府立大学総合科学部)
- (72) ヒスタミン合成酵素・l-histidinedecarboxylase 欠損マウスの作成
十川紀夫 (岡山大学歯学部)
- (73) バクテリアべん毛スイッチタンパク質の立体構造解析
大澤研二 (名古屋大学多元数理科学研究科)
- (74) サイトカイン・レセプター・スーパーファミリーの進化
中村正孝 (東京医科歯科大学医学部)

B. 研究会

- (1) ウイルスのセントラルシグマ
永田恭介 (東京工業大学生命理工学部) 7. 12. 18~7. 12. 19
- (2) 植物ウイルスの複製と伝播の分子機構
渡辺雄一郎 (帝京大学理工学部) 8. 2. 8~7. 8. 29
- (3) 転写における蛋白 DNA 蛋白-蛋白相互作用
饗場弘二 (名古屋大学理学部) 7. 10. 20~7. 10. 21
- (4) 細胞増殖制御の分子機構
花岡文雄 (大阪大学細胞生体工学センター) 7. 12. 15~7. 12. 16
- (5) 日本産アリ類データベース研究会
鶴川義弘 (農業生物資源研究所) 7. 5. 6~7. 5. 7
- (6) ヒドラの発生生物学
小泉 修 (福岡女子大学家政学部) 7. 12. 15~7. 12. 16
- (7) 造血幹細胞増殖分化の機構の学際的研究
仁保喜之 (九州大学医学部) 8. 2. 17~8. 2. 18
- (8) 東南アジアにおける野生イネ遺伝資源の現状とその保存
佐藤雅志 (東北大学遺伝生態研究センター) 8. 1. 16~8. 1. 17

- (9) 自然生態系を生かした遺伝資源の保存
秋濱友也 (明治大学農学部) 7. 9.21~7. 9.22
- (10) 検証: イネの起原と進化 (日中合同研究会)
森島啓子 (国立遺伝学研究所) 7. 6.19~7. 6.20
- (11) イネの分子遺伝学
島本 功 (奈良先端科学技術大学院大学) 7. 6.15~7. 6.16
- (12) 高次機能・形態遺伝子のポジショナルクローニング
米川博通 (東京都臨床医学総合研究所) 8. 1.11~8. 1.12
- (13) DNA 標識を用いたリコンビナント近交系マウスの QTL 解析
西村正彦 (浜松医科大学) 7. 7. 20~7. 7.21

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 (株 創薬技術研究所)

大量 DNA データの分子進化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), 館野義男 (同), 河合正人 (富士通株), 川西祐一 (同)

VII. 研究材料・研究情報の収集と保存

I. 研究材料の収集保存

A. イネ属系統 (*Oryza*) (植物保存研究室)

(1) 野生種および栽培種

昭和32年ロックフェラー財団の援助の下に開始された「栽培種の起原の研究」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
栽培種		
<i>O. sativa</i> L.	全世界	4,664
<i>O. glaberrima</i> STEUD.	西アフリカ	301
栽培型近縁野生種		
<i>O. perennis</i> MOENCH (<i>O. rufipogon</i> Griff., <i>O. longistaminata</i> Chev. et Roehr., <i>O. meridionalis</i> Ng, <i>O. glumaepatula</i> Steud. を含む)	全世界	905
<i>O. breviligulata</i> CHEV. et ROEHR. (= <i>O. barthii</i> A. Chev.)	西アフリカ	402
遠縁野生種		
<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。これらは7回以上の戻し交雑のち選抜されたもので、含まれる遺伝子は次の通りである。標識遺伝子: *ux*, *Rc*, *lg*, *g*, *nl*,

bc, gl, la, Ph, d₁ および d₂, 早生遺伝子: E^a, E^b および m, および F₁ 不稔性に関する 4 遺伝子。

B. 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^v (柳葉), co^h (ヘデラセア葉), p (孔雀葉), bv (はだぬぎ), ar (錨), re (洲浜葉),
 花模様遺伝子型: Sa (刷毛目絞), sp (吹掛絞), Mr (覆輪), Bz (吹雪), Ry (車絞), su-Mr (覆輪抑圧), su-tu (花筒色抑圧), fd (暈), dt (斑点花), Ln (立縞), st (条斑).
 その他の遺伝子型: du (木立), dh (矮状), f (帯化), v (斑入), ca·cb (白種子), br (褐色種子), caⁱ (象牙色種子), y^m (松島), cu (夫婦咲き), ue (枝垂れ), Cy (黄色地), su-Cy (黄色地抑圧), cm (打込み), pg (小大), re+dg+bv (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).

C. 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、気多の白桜枝、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。「遺伝研の桜 (改訂版)」が遺伝学普及会から発行されている。

D. 淡水ヒドラ (*Hydra*)

A) 野生型	53
(1) <i>Hydra magnipapillata</i> (日本産チクビヒドラ)	14
(2) <i>H. carnea</i> (ヨーロッパ産)	2
(3) <i>H. circumcincta</i> (")	2
(4) <i>H. hymanae</i> (アメリカ産)	1
(6) <i>H. oligactis</i> (ヨーロッパ産)	8
(") (アメリカ産)	2
(7) <i>H. viridissima</i> (")	8
(8) <i>H. vulgaris</i> (formerly <i>attenuata</i>) (ヨーロッパ産)	5
(") (アメリカ産)	3
(9) <i>Pelmatohydra robusta</i> (日本産)	7
(10) 種不明 (オーストラリア産)	1

B) 突然変異型 (*H. magnipapillata*)

36

- (1) Mini (mini-1, -3, -4). Small body size with high budding rate.
- (2) Maxi (maxi-1, -2, -4). Large body size.
- (3) L4. Large body size with low budding rate.
- (4) Multi-head (mh-1, -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, -11, -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-4, -16, -19, def 2-3, s9-k, s9-l, s10-a, s10-b).
- (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) Body tentacles (nf-11). Tentacles move down from hypostome to body column during growth. Cannot capture brine shrimp.
- (14) Pinched budding zone (E4). Budding zone becomes very narrow in width when buds are formed.
- (15) Supernumerary tentacles (E6). 10-13 tentacles per hypostome.
- (16) Budding deficient (ts). Very low budding at 23°C.
- (17) 105 Epithelial (105 Ep). Deficient in all the cell types in the interstitial cell lineage. Derived from a wild type strain 105.
- (18) Pseudo-epithelials (nem-1Ps ((♂) 3 lines, nem-1Ps (♀) 3 lines). Epithelial hydra derived from nem-1 containing only germ line cells.
- (19) Others. 13 strains.

C) 細胞系譜キメラ系統

38

E. 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 (0559-81-6825)、e-mail (shayashi@lab.nig.ac.jp) での問い合わせに必ず。また、ストックリストは WWW で検索可能である (アドレス <http://grsmac.lab.nig.ac.jp/Default.html>)。

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 simulans*) 287 系統

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

3. 他の近縁種 (25 種, 83 系統)

F. 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	+ ^p
大草	日本	2	4	+ ^p
諸桂	中国	1	4	p
江浙	中国	2	4	p
欧16号(旧)	欧州	1	4	+ ^p (yellow coc.)
韓3眠	韓国	1	3	+ ^p
カンボージュ	東南ア	多	4	p (yellow coc.)

2) 実験用の標準(野生)型系統

C-108	中国	2	4	p
C-108(旧)	中国	2	4	p
ZeC-108	中国	2	4	p 同上 Y 染色体を Ze で標準
青熟	日本	2	4	+ ^p
Ze 青熟	日本	2	4	+ ^p 同上 Y 染色体を Ze で標準
金色	日本	2	4	p (yellow coc.)
J-106	日本	2	4	+ ^p
J-115	日本	2	4	+ ^p
日本錦	日本	2	4	+ ^p
小石丸	日本	2	4	+ ^p
C-145	中国	2	4	p

大造	中国	2	4	+ ^p
アスコリ	欧州	1	4	<i>p</i> : <i>Ze</i> (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>
3眠白	中国	1	3	+ ^p
欧7号3眠	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	+ ^p
濟陽	中国	1	3	+ ^p
長城	中国	1	3	+ ^p (green coc.)
山東3眠	中国	1	3	<i>p</i>
qrt-3眠	突然変異体		3	
X-875 (灰色卵)	"	(合成)		

3) カイコとクワコの雑種系統

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

2. 突然変異系統

2.1 遺伝子突然変異 (1部染色体異常を含む)

1) 神経・内分泌に関するもの

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

2) 成長速度または老化に関するもの

<i>Slg</i> (slow growing)
<i>sdi</i> (short duration of imaginal lifespan)
<i>pil</i> (sex-linked prolonged imaginal lifespan)
<i>pre</i> (Sex-linked precocious)

3) 形態形成に関するもの

msA (+^P) (Akuzawa's multistars)
E^{KP} (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*² (Brown egg-2)
*bw*³ (Brown egg-3)
*w*¹ (White egg-1)
*w*¹ [大正白] (White egg-1)
*w*² 原田 (White egg-2)
*w*² (ch) (White egg-2)
*w*³/T (Y; 2) +*p* (white egg-3)
och (other) [Egg color of diapause eggs derived from non-diapause lines]

6) 幼虫体色・斑紋に関するもの

L (*lem*) (Multilunars with *lem*)
rb (*Ng*) (Red haemolymph)
p^{S_o-1} (Y) (Sable marking pattern)
so (Sooty)

7) 幼虫体形に関するもの

nb (Narrow breast)
st (Stony)

8) 致死突然変異

伴性劣性型 [性(X)染色体の生物学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 ^R	[アスコリン由来]
UV ^R . X (γ) ^R	[漢川由来]
UV ^R . X (γ) ^S	[金色由来]
UV ^S	[浙江由来]
UV ^R	[緋紅由来]

11) 異常生殖 (発生)

<i>par</i> ⁻	[Reduction of parthenogenicity]
<i>mo</i> (<i>pe</i> ; <i>oc</i>)	[Mosaics (double fertilization)]
<i>mo</i> (<i>pe</i> ; <i>ok</i>)	[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) 行動異常

chr-e シリーズ (羽化時の遅速変異体); *e*^{*}, *e*⁻

chr-h シリーズ (ふ化時の遅速変異体); h^+ , h^-

14) その他

bp (Black pupa)

Ng (rb) (No glue egg)

DNV-1

[ウイルス抵抗性]

2.2 染色体突然変異

1) 転座

T (Y; 2)

染色体講成	遺 伝 的 特 性
T (Y; 2) 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) $+p \cdot p^{Sa(Y)}$	
T (Y; 2) y	
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) $+pe + ob + oc$	
T (Y; 5) $+pe$ (~)	[不安定転座]
T (Y; 10)	
T (Y; 10) $+w2$	[<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) $\pm pe$ (1)	[<i>sch</i> と 転座 $+pe$ との距離は 4.2]
T (X; Y) $\pm pe$ (2)	['' 2.3]
T (X; Y) $\pm pe$ (3)	['' 8.3]

T (X; Y)± <i>pe</i> (4)	["	13.3]
T (X; Y)± <i>pe</i> (5)	["	0.6]
T (X; Y)± <i>pe</i> (6)	["	7.8]
T (X; Y)± <i>pe</i> (7)	["	9.6]
T (X; Y)± <i>pe</i> (8)	["	3.5]
T (X; Y)± <i>pe</i> (9)	["	0.5]
T (X; Y)± <i>pe</i> (10)	["	0.0]
T (X; Y)± <i>pe</i> (11)	["	5.3]
T (X; Y)± <i>pe</i> (12)	["	3.4]
T (X; Y)± <i>pe</i> (13)	["	2.2]
T (X; Y)± <i>pe</i> (14)	["	3.1]
T (X; Y)± <i>pe</i> (15)	["	8.3]
T (X; Y)± <i>pe</i> (16)	["	6.3]
T (X; Y)± <i>pe</i> (17)	["	6.6]
T (X; Y)± <i>pe</i> (18)	["	26.7]
T (X; Y)± <i>pe</i> (19)	["	0.0]
T (X; Y)± <i>pe</i> (20)	["	2.3]

T (5; Y)

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

相互転座

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

二重転座

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

常染色体間転座

T (6; 14) *E*^{kp} と U を所有

2) 重複

Dp (2)+*p*·*pSa*+*od*

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	遺伝的特徴
<i>od</i> (<i>p</i>)	[2 重劣性]
<i>sch</i> (<i>pe</i>)	[2 重劣性]
<i>sch</i> ; <i>od</i>	[2 重劣性]
<i>os</i> ; <i>e</i> (<i>pe</i>)	[3 重劣性]
<i>os</i> ; <i>e</i> (<i>pe</i>)/T (Y; 3) <i>Ze</i>	[3 重劣性]
<i>os</i> ; <i>e</i> (<i>re</i>)/T (Y; 3) <i>Ze</i>	[3 重劣性]
<i>sch</i> ; <i>od</i> (<i>pe</i>)	[3 重劣性]
<i>sch</i> ; <i>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> ⁺)	[単一劣性]
<i>pe</i> ; <i>ok</i>	[2 重劣性]
<i>pe</i> ; <i>ok</i> /T (Y; 3) <i>Ze</i>	[2 重劣性]
<i>pe</i> ; <i>ok</i> (Y)	[2 重劣性]
<i>pe</i> ; <i>re</i>	[2 重劣性]
<i>re</i> ; <i>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</i> ; <i>ok</i> ; <i>re</i>	[3 重劣性]
<i>pe</i> ; <i>re</i> (<i>ch</i>)/T (Y; 3) <i>Ze</i>	[3 重劣性]
<i>pe</i> ; <i>re</i> ; <i>oc</i> /T (Y; 3) <i>Ze</i>	[3 重劣性]
<i>pe</i> ; <i>oc</i> (<i>lem</i>)	[3 重劣性]
<i>pe</i> ; <i>oc</i> (<i>sch</i>)/T (Y; 5) + ^{pe}	[3 重劣性]
<i>ok</i> ; <i>re</i> (<i>ch</i>)	[3 重劣性]
<i>pe</i> ; <i>re</i> (<i>w2</i> ; <i>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</i> ; <i>re</i> /T (Y; 2) <i>p</i> ^{sa} · + ^p	[2 重劣性]
<i>w2</i> ; <i>ch</i> /T (Y; 2) <i>p</i> ^{sa} · + ^p	[2 重劣性]
<i>p</i> ; <i>w2</i> ; <i>ch</i> ; <i>mln</i> ; <i>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 ^{INSTA-1}	[高モザイク・高組かえ型]
MV ^{INSTA-2}	[低モザイク型]
MV ^{INSTA-3}	[1型と2型の中間]

G. 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始まった。その後外国より輸入した系統や、海外学術調査で採集した野生ネズミが加わって、規模が大きくなった。昭和50年より遺伝実験生物保存研究施設が発足し、近交系マウス・ラット系統およびテラトーマ高発系マウス系統の維持が始まった。昭和59年に遺伝研が国立大学共同利用機関へ移行されたのに伴い、遺伝実験生物保存研究センターとして改組され、同時に設置された哺乳動物保存研究室において、これらの系統維持業務が行われている。基準系、突然変異系およびH-2コンジュニックマウスの系統維持は、「がん重点・実験動物委員会」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の凍結保存を開始した。

飼育維持で保存している系統は、バリアを設けた飼育室内で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、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維持管理されている。記載系統名のうち、卵移植(e)又は乳母哺乳(f)によりSPF化された系統については、系統名の後にe又はfを付記するにとどめる。

1. 飼育維持している系統

1) 近交系マウス (*Mus musculus domesticus*) (23系統)

実験用近交系マウスの基準系統とし維持している。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?+12 (SPF), A ^w A ^w , BB, C ^{CR} CprCC (SPF)
A/WySnJ	Jax→Ms (1984, F186), F186+47, aa, bb, cc, H-2 ^a (SPF)
AKR/J	Jax→Ms (1992, F?), F?+15, aa, BB, cc, H-2 ^k (SPF)
AU/SsJ	Jax→Ms (1991, F93), F93+21, aa, BB, CC, Hbb ^o (SPF)
BALB/cAnN	NIH→Ms (1984, F178), F178+49, cc, ミエローマ高発系, H-2 ^d (SPF)
BALB/cUcsde	Os→Ms (1978, F?), F?+44+28*, cc, H-2 ^d (SPF)
C57BL/10SnJ	Jax→Ms (1985, F26+3), F29+35, aa, BB, CC, H-2 ^b (SPF)
C57BL/6J	Jax→Ms (1984, F152), F152+44, aa, BB, CC, H-2 ^b (SPF)
C57BR/cdJ	Jax→Ms (1987, F?), F?+27, aa, bb, CC, H-2 ^k (SPF)

C57L/J	Jax→Ms (1984, F161), F161+39, <i>aa, bb, lnln, CC, H-2^b</i> (SPF)
C58/J	Jax→Ms (1985, F200), F200+32, <i>aa, BB, CC, H-2^b</i> (SPF)
CBA/J	Jax→Ms (1984, F194), F194+40, <i>AA, BB, CC, H-2^b</i> (SPF)
CE/J	Jax→Ms (1987, F102), F102+29, <i>A^wA^w, C^cC^c</i> (SPF)
DBA/1J	Jax→Ms (1982, F112), F112+54, <i>aa, bb, CC, dd, H-2^a</i> (SPF)
JF1/Msf	Ms (1993, F19), F19+7* (SPF)
NZB/BINJ	Jax→Ms (1988, F134), F134+24, <i>aa, BB, CC</i> (SPF)
P/J	Jax→Ms (1987, F161), F161+27, <i>sese, pp</i> (SPF)
PL/J	Jax→Ms (1987, F137), F137+36, <i>cc</i> (SPF)
PT/7af	Os→Ms (1986, F26), F26+41, <i>aa, bb, pc^{ch}pc^{ch}, dsedse, ss</i> (SPF)
RHIS/J	Jax→Ms (1985, F63), F63+37, <i>cc</i> (SPF)
SJL/J	Jax→Ms (1982, F95), F95+57, <i>AA, BB, cc, pp, H-2^s</i> (SPF)
SM/J	Jax→Ms (1982, F106), F106+43, <i>A^wa or aa, BB, CC, H-2^v</i> (SPF)
SWR/J	Jax→Ms (1984, F150), F150+46, <i>AA, BB, cc, H-2^o</i> (SPF)

*, SPF 化以降の世代数。世代数は 1995 年 12 月 1 日現在のもの。

2) H-2 コンジェニック系マウス (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 コンジェ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 ^d	B10. M/Sn	Jax→Ms (1990, F84), F84+23 (SPF)
H-2 ^e	B10. HTG/2Cy	Jax→Ms (1982, N16F19), N16F19+47 (SPF)
H-2 ^{e2}	B10. Gdf	C. S. David→Ms (1984, F?), F?+29+9* (SPF)
H-2 ^{h2}	B10. A (2R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F?), F?+56 (SPF)
H-2 ^{h4}	B10. A(4R)/Ola	Ola→Ms (1982, F3), F3+57 (SPF)
H-2 ⁱ⁵	B10. A(5R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F20), F20+52 (SPF)
H-2 ^g	B10. G/Ola	Ola→Ms (1985, F?), F?+41 (SPF)
H-2 ^s	B10. S/Ola	Ola→Ms (1985, F?), F?+34 (SPF)
H-2 ^j	B10. AQR/Ola	Ola→Ms (1982, F?), F?+54 (SPF)
A 系	(1 系統)	
H-2 ^{h4}	A. B(4R)/Ms	Ms 由来 (1994), N20+F7(SPF)
C3H 系	(2 系統)	
H-2 ^b	C3H. SW/SnJ	Jax→Ms (1982, F22), F22+49 (SPF)
H-2 ^d	C3H.OL/Ne	NIH→Ms (1981, F?), F?+25+25* (SPF)
BALB/c 系	(2 系統)	
H-2 ^b	BALB.B/Ola	Ola→Ms (1981, F?)→Jic→Ms (1985, F?), F?+43 (SPF)
H-2 ^b	BALB.K/Ola	Ola→Ms (1982, F?), F?+50 (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 コンジュニック系 (6 系統*)

系統名	<i>H-2</i> ハプロタイプ	交配世代数	<i>H-2</i> 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-YNG	<i>wm9</i>	N13F31N1F26	Mol. Yng	1976
遺伝実験生物保存研究センターで SPF として維持している系統				
B10. MOL-TEN1	<i>wm1</i>	N12F16+55**	Mol. Ten1	1976
B10. MOL-TEN2e	<i>wm2</i>	N10F36+30**	Mol. Ten2	1976
B10. MOL-SGR	<i>wm7</i>	F1N10F15+58**	Mol. Sgr	1976
B10. CAS-QZNe	<i>wc1</i>	N12F30+24**	Cas. Qzn	1978
戻し交配によって育成中の系統 (第 1 ネズミ飼育舎)				
B10. Cas-Tch	<i>wc2</i>	N46	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* コンジュニック系由来の *H-2* 染色体組換え系 (3 系統*)

両親の <i>H-2</i> ハプロ タイプ	系統名/旧称	世代数	組換え体 ハプロ タイプ	<i>H-2</i> 領域の構成と組換え点				
				<i>K</i>	<i>A</i>	<i>E</i>	<i>S</i>	<i>D</i>
<i>a/wm7</i>	B10. A(R201)/Msf	N4F54+11**	<i>aw1</i>	k	w	w	w	w
<i>a/wm7</i>	B10. A(R209)/Msf	N4F42+9**	<i>aw9</i>	w	k	k	d	d
<i>b/wm7</i>	B10(R233)/Msf	N4F36+10**	<i>bw3</i>	b	w	w	w	w

*、研究途上の系統であり、一般への分譲はまだ行っていない。

**、まだホモ個体が得られていない。

5) その他のコンジュニック系マウス (3 系統)

系統名	由来
AXBG11/Msf**	Ms 由来 (1993), N2F25+8* (SPF)
BALB/cf- <i>Hbb</i> **	Ms 由来 (1993), N5F2N1F2+8*, wild-driver <i>Hbb</i> ^b haplotype (SPF)
HBBW1/Msf**	Ms 由来 (1993), N8F2N1F2+6* (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-Ydote**	MRC→Ms (1989, N10), N10F1+N22* (SPF)
C57BL/10Sn-Y ^{del} **	Ms (1990, B10. BR-Y ^{del} より C57BL/10Sn に戻し交配), N18 (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
B10.D2/nSn-Hx/+	Jax→Ms (1994, F58), F58+7, hemimelic extra tose (<i>Hx</i>) (SPF)
B10.MOL-SGR-CMs2*	F1N10F15+49+M6 (SPF)
C3HeB/FeJ-E ^{so} /E ^{so} Xt ^l /+	Jax→Ms (1993, N10F12), N10F12+10, Extra toes-J (<i>Xt^l</i>) (CV)
C57BL/6J-Ix W ^o	Jax→Ms (1994, N111), N111+N3, luxate (<i>Ix</i>) (SPF)
C57BL/6J-mi	Jax→Ms(1994), N4, microphthalmia (<i>mi</i>) (SPF) B6C3Fe-a/a-mi(N13) より系統作成中
C57BL/6J-Ist ^l	Jax→Ms(1994), N4, Strong's luxoid-J (<i>Ist^l</i>), B6C3Fe-a/a-Ist ^l (N25) より系統作成中 (SPF)
C57BL/6J-pe	Jax→Ms (1994, F?), F?+3, pearl (<i>pe</i>) (SPF)
C57BL/6J-Tr ^l Re	Jax→Ms (1991, N42), N40+N10, trembler (<i>Tr</i>), rex (<i>Re</i>) (SPF)
C57BL/6J-Xpl	Jax→Ms (1994), N7, X-linked polydactyly (<i>Xpl</i>), B6C3Fe-a/a-Xpl(N83) より系統作成中 (SPF)
C57BL/10Snf-rim2/rim2*	Ms 由来 (1994), F24+N1F4 (SPF)
C57BL/10Snf-Rim3/+*	Ms 由来 (1994), N16+N7 (SPF)
C57BL/10Snf-Rim4/+*	Ms 由来 (1994), N8+N5 (SPF)
C57BL/10-Rim5/+Rim5*	Ms 由来 (1989), F10(CV)
HRS/J	Jax→Ms (1984, F75), F75+35, hairless (<i>hr</i>) (SPF)
MWT/Le at/at	Jax→Ms (1993, F98), F98+11 (CV)
TSJ/Le b/b Ts/+	Jax→Ms (1993, F90), F90+6, 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 (15 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	F40	(CV)
<i>Mus musculus musculus</i>			
M. MUS-NJL	Northern Jutland (デンマーク) 1980年9月	F49	(CV)
<i>Mus musculus bactrianus</i>			
M. Bac-kjo	Kujour (イラン) 1990年11月	F8	(CV)
M. Bac-Avz3	Ahvaz (イラン) 1991年4月	F16	(CV)
<i>Mus musculus subsp. species</i>			
M. SUB-CHD	成都 (中国) 1981年5月	F33	(CV)
<i>Mus spicilegus</i>			
ZBN	ブルガリア 1984年4月	F17	(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/Msf	三島 (静岡県) 1978 年 4 月	F46+9*	1993 年
<i>Mus musculus brevisrostris</i>			
BFM/2Msf	Montpellier (フランス) 1976 年	F15F40+10*	1993 年
NJL/Msf	Northern Jutland (デンマーク) 1980 年 9 月	F41+4*	1994 年
<i>Mus musculus musculus</i>			
BLG2/Msf	Toshevo (ブルガリア) 1980 年	F3+41+12*	1993 年
<i>Mus musculus castaneus</i>			
HMI/Msf	和美 (台湾) 1986 年 6 月	F21+7*	1993 年
MAL/Msf	マレーシア 1987 年 2 月	F13+6*	1993 年
CAST/Ei	Jax→Ms (1989, F43) 1971 年	F43+17	
<i>Mus musculus subspecies</i>			
KJR/Msf	Kojuri 島 (韓国) 1984 年 9 月	F31+11*	1993 年
SWN/Msf	水原 (韓国) 1984 年 9 月	F22+6*	1993 年

* SPF 化以降の世代数

9) トランスジェニック系統 (1 系統)

系統名	由来
Tg(17MMUCyp21)1Msf** (旧称 1.6-L11)	Ms 由来 (1994), F? ⁺ 2+6*(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。

2. 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 (30 系統)			
129/J	Jax→Ms (1992, F126)	F126+2~4	117
129/SvJ	Jax→Ms (1990, F?)	F? ⁺ 5~13	296
A/WySnJ	Jax→Ms (1984, F186)	F186+38~47	220
A2G/Ola	Ola→Ms (1998, F?)	F? ⁺ 30~35	509
AKR/J	Jax→Ms (1992, F?)	F? ⁺ 6~11	203
AU/SsJ	Jax→Ms (1991, F93)	F93+11~21	263
BALB/cAnN	NIH→Ms (1984, F178)	F178+38~46	205
BALB/cUcsde	Os→Ms (1978, F?)	F? ⁺ 44+23~28	232
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+36~40	343
C57BR/cdJ	Jax→Ms (1987, F?)	F? ⁺ 27	77
C58/J	Jax→Ms (1985, F200)	F200+26~33	161
CBA/CaHN	NIH→Ms (1984, F65)	F65+39~41	92

CBA/J	Jax→Ms (1984, F194)	F194+33~41	183
CBA/StMse	Ms→Nga (1965, F34) →Ms (1978, F75)	F75+44+16~18	161
CE/J	Jax→Ms (1987, F102)	F102+21~30	252
DBA/1J	Jax→Ms (1982, F112)	F112+48~52	202
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
JF1/Msf	Ms (1993, F19)	F19+4~7	354
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+27~33	258
P/J	Jax→Ms (1987, F161)	F161+22~23	46
PT/7af	Os→Ms (1986, F26)	F26+34~41	394
SJL/J	Jax→Ms (1982, F95)	F95+47~55	196
SM/J	Jax→Ms (1982, F106)	F106+36~42	256
SWR/J	Jax→Ms (1984, F150)	F150+36~39	170

2) H-2 コンジェニック系

B10 系 (24 系統)

B10. 129 (6M)/Snf	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	N20F3~6	243
C3H 系 (5 系統)			
C3H. JK/Sn	Jax→Ms (1982, F22)	F22+51~52	79
C3H. NB/Sn	Jax→Ms (1982, F18)	F18+55~56, F?	157
C3H. OH/N	NIH→Ms (1985, F?)→ Jic→Ms (1985, F?)	F?+44~45	46
C3H. OL/Ne	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?, N8F6N1F2~4N8F6N1F 2~4N1(*1)	115
B10. CAS-QZNe	Ms	N12F30+9~11N1 (*1)	108
B10. CAS-TCH/+	Ms	F37~43N1 (*1)	66
B10. DOM-PGN	Ms	N12F2~3N1 (*1)	101
B10. MOL-ANJe	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-OKBe	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-TEN2e	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/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?N1 (*1)	202
京都 D20+	Ms	F?, N2F7N1(*1)	21
4) B10. MOL-H-2 コンジェニック由来の 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)	67
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)	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 ^{aw18} /H-2 ^b	Ms	N15+7(*1)	245
as55	Ms	F26~29	99
as61	Ms	F17~21	49
AS75	Ms	F12~16	153
as8	Ms	F25~32	81
as100	Ms	F26~31	185
as46	Ms	F27~30	142
as53	Ms	F25~26	75

5) その他のコンジェニック系 (19 系統)

AXBG11/Msf	Ms	N2F25+6~9	125
B6-Ly-2 ^c , -3 ^a	Ms	N12F13~14	95
BALB/c-Aph-1 ^b	Nga→Ms (1985, F?)	F?+7~8, F?+7N1 (*2)	27
BALB/c-Aph-1 ^b , Aph-2 ⁵	Nga→Ms (1985, F?)	F?+8~9, F?+8~9N1 (*2)	135
BALB/c-Aph-1 ^c	Ms	F?+9~10, F?+8~9N1 (*2)	94
BALB/c-Aph-2 ^b	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/01a	01a→Ms (1981, F?)→ Jic→Ms (1985, F?)	F?+39~44	361
BALB. K/01a	01a→Ms (1982, F?)	F?+45~50	263
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
HBBW1/Msf	Ms	N8F2N1F2+6	31

6) 染色体変異を持つ系統 (6 系統)

B10. SMY-Ydote	Ms	N10F1+N11~20 (*1)	111
B10. SMY-conte	MRC→Ms (1989, N10)	N10F1+N13~14, F? (*1)	124

C57BL/10Sn-Y ^{del}	Ms	N8~16 (*1)	107
Rb (9, 15)/Ms	Ms	N8F21, F?	30
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-ape	Ms	F? NE6F8+1NE3~4F1N1 (*1)	42
B10-Poe	Ms	F55NE3F12+11~12N1 (*1)	158
C. OGS-Ap	Ms	N13F3N1F5N10 (*2)	38
C57BL/10-rim2/rim2	Ms	F20~26N1 (*1)	146
C57BL/10-Rim3/+	Ms	N15 (*1)	114
C57BL/10-Rim4/+	Ms	N7 (*1)	91
C57BL/10-Rim5/+	Ms	N8 (*1)	101
C. URM	Ms	N4+7~8N1 (*2)	85
HRS/J	Jax→Ms (1984, F75)	F75+29~36	406
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 b/b Ts/+	Jax→Ms (1987, F?)	F90+3~6	222
B10. BR(R228)spot	Ms	F?	209

8) 野生ハツカネズミ類 (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) トランスジェニック系統 (9 系統)

Tg (17MMUCyp21) 1Ms	Ms		146
Tg(17MMUCyp21)1Msf	Ms	F?+2+5~6	104
Tg (0MMUCyp21) 2Ms	Ms		109
Tg (0MMUCyp21) 3Ms	Ms	G1F2, N2F3~4(*1)	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/6JJcl との heterozygote

H. 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. Clarke & Carbon. 1976. Cell, 9, 91-99): 2,000 株

* Nishimura, A.: Correlation of a subset of the pLC-plasmids to the physical map of

Escherichia coli K-12. *Microbiol. Rev.*, **56**, 137-151, 1992.

- (4) 広田の大腸菌温度感受性変異株のコレクション: 約 5,000 株
- | | |
|--------------|-----------|
| DNA 複製欠損変異株 | 115 株 |
| RNA 合成欠損変異株 | 100 株 |
| ムレイン生合成欠損変異株 | 55 株 |
| 細胞分裂欠損変異株** | 353 株 |
| 染色体分配欠損変異株** | 45 株 |
| 膜蛋白欠損変異株 | 22 株 |
| ソボソーム蛋白変異株 | 79 株 |
| 未同定欠損変異株 | 約 3,800 株 |

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

- (5) *Escherichia coli* のファージ: T₂, T₃, T₄, T₄GT7, T₅, T₆, T₇, P1·kc, P1·vir, Mu, λpapa, λvir, λgt·λC, λcb2, λcl₈₅₇·S7, λTn5, λTn10, φX174wild, φX174am3, f1, MS2, Qβ. その他

Bacillus subtilis (枯草菌): 200 株

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

I. 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 270 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 76 種、発現ベクター 74 種、遺伝子融合ベクター 26 種、プロモータクローニングベクター 16 種、直接選択用ベクター 13 種、その他、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。また、すべてのベクターのマップを含むデータをまとめたカタログを製本して希望者への配布を開始した。

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

FAX: 0559-75-6240

電子メール: cvector@lab.nig.ac.jp

II. 遺伝情報の収集保存及び提共

1995 年における DDBJ の活動は以下のとおりである。

リリース:

リリース 20	(1995 年 1 月)	239,689 件	231,299,557 塩 基
リリース 21	(1995 年 4 月)	274,596 件	250,875,023 塩 基
リリース 22	(1995 年 7 月)	437,588 件	322,982,425 塩 基
リリース 23	(1995 年 10 月)	569,757 件	390,694,350 塩 基

サブミッション件数:

	通常	大量	合計
1月	369	487	856
2月	232	3824	4059
3月	510	122	632
4月	337	14	351
5月	277	12128	12405
6月	411	0	411
7月	393	0	393
8月	290	11848	12138
9月	270	11942	12212
10月	386	0	386
11月	360	3981	4341
12月	334	0	334
合計	4169	44349	48518

磁気媒体を用いた DNA データベース配布:

DDBJ データベース

DDBJ リリース	磁気	カートリッジ	8 mm	DAT	合計
リリース 20 (1995年 1月)	1	15	27	—	43
リリース 21 (1995年 4月)	1	14	26	5	46
リリース 22 (1995年 7月)	1	13	23	5	42
リリース 23 (1995年 10月)	—	23	23	7	53
合計	3	65	99	17	184

EMBL データベース

EMBL リリース	磁気	カートリッジ	8 mm	DAT	合計
リリース 42 (1995年 3月)	—	5	17	3	25
リリース 43 (1995年 6月)	—	5	16	2	23
リリース 44 (1995年 9月)	—	4	16	3	23
合計	—	14	49	8	71

SWISSPROT データベース

SWISSPROT	磁気	カートリッジ	8 mm	DAT	合計
リリース 31 (1995年 2月)	—	16	18	3	37
リリース 32 (1995年 11月)	—	13	15	4	32
合計	—	29	33	7	69

発行物:

DDBJ News Letter No. 15	1995年 2月発行
DDBJ オフラインニュース 第5号	1995年 6月発行
DDBJ 分子生物学会ニュース	1995年 12月発行
DDBJ 所内ニュース No. 39	1995年 1月発行
DDBJ 所内ニュース No. 40	1995年 3月発行
DDBJ 所内ニュース No. 41	1995年 5月発行
DDBJ 所内ニュース No. 42	1995年 7月発行
DDBJ 所内ニュース No. 43	1995年 9月発行
DDBJ 所内ニュース No. 44	1995年 12月発行

ゲノム解析ニュースレター Vol. 4, No. 3 News from DDBJ 11	1995年 3月発行
ゲノム解析ニュースレター Vol. 5, No. 1 News from DDBJ 12	1995年 8月発行
ゲノム解析ニュースレター Vol. 5, No. 2 News from DDBJ 16	1995年 11月発行

WWW

fasta/blast www 検索サービス運用開始	1995年 11月 1日
DDBJ DNA Data Submission System SAKURA 運用開始	1995年 12月 5日

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15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2,000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7年10月21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

ショウジョウバエの発生遺伝学—かたちづくりの基本原則を遺伝子に探る—

遺伝実験生物保存研究センター助教授

理学博士 林 茂 生

【要 旨】

我々を含む地上のすべての生物は染色体の上にかざされた遺伝情報にその存在の根源をたどることができる。遺伝情報をもとにして一個の受精卵は分裂を繰り返してヒトのような高度な精神活動を行う個体をつくり上げるのである。しかし遺伝情報を単に並べただけでは発生の複雑な過程を再現することはできない。多様なはたらきをもつ遺伝子を適当な時期に、適切な場所で発現させる事で発生はコントロールされている。遺伝子のふるまいをもとにして発生の過程を記述し、更に全体を支配している基本原則を探ろうという研究分野が発生遺伝学である。

体長1mm余りの小さな昆虫キロショウジョウバエを使った研究は発生の基本的な問題について多くの重要な原理を明らかにして来た。体軸の決定、器官形成の開始、細胞間の情報伝達、細胞内での情報処理などを支配するメカニズムについてすでに多くの知見が得られている。これらに関わる遺伝子の多くは進化的に広く動物界で保存されている。例えばマウスの眼をつくるために必要な遺伝子をショウジョウバエに入れるとやはり眼をつくる事が確認されている。これらの結果はすべて動物の体の基本的なデザイン—頭、尾の方向性を決めて、手足をどう配置するか—が共通の法則に従って行われている可能性を示している。ショウジョウバエを用いてその法則の一端を明らかにする事が我々研究者の願いである。幸いな事に発生に関わる基本的な遺伝子の数はゲノム上のぼう大な遺伝情報の量に比べれば少数で、その多くを我々はすでに手にしていることがわかって来た。現在の研究の焦点はこれらの遺伝子を組み合わせるショウジョウバエの体をかたちづくりのための原則を見出すことにある。動物発生が成り立つ共通の原則を確認した上で、ハエをハエ、ヒトをヒトたらしめる種に特有な形質が進化的にどのように生じて来たかを探る事が初めて可能になるのである。

ゲノムバイオロジー—ゲノム計画がもたらす生命科学の新展開—

遺伝情報研究センター助教授

理学博士 小 原 雄 治

【要 旨】

「カエルの子はカエル」、「トンビがタカをうむ」。遺伝の本質をとらえたことわざである。カエルの子はなぜカエルなのか？ふつうトンビがタカをうまないのはなぜか？その根源がカエルのゲノムであり、トンビのゲノムである。ゲノムとはその生物の体を作り上げ、変化する環境に対処して生き抜き、子孫を作り、そして死に至る、生命活動を支配する遺伝情報の全セットのことである。実体としては細胞核の中にある染色体 DNA によっており、DNA を構成する 4 種の塩基 A, T, G, C の並び方を暗号として書き込まれている。このため染色体 DNA はゲノム DNA とも呼ばれている。地球上の全ての生物は固有のゲノム DNA をもっており、その中身の違いが、生物の多様性を生み出しているのである。ゲノム DNA の大きさも様々であり、連なっている塩基の数（暗号の文字数）で言うと、最小の自律生物であるバクテリアでも約 400 万塩基あり、この中に約 4000 の遺伝子が書き込まれている。ヒトになるとその 1000 倍で、約 30 億塩基からなり、約 10 万の遺伝子があると考えられている。ゲノムの中身が何であるのか？すなわちゲノム DNA の塩基の配列を決定し、全遺伝情報を明らかにすることがゲノム計画の第一の目標である。すでに、細菌や酵母などの単細胞生物、下等動物の線虫ではゲノム DNA の配列決定が進み、全貌が見え始めている。ヒトゲノムなど高等生物でも大規模なプロジェクトが開始されており、今後、生命とは何であるか、生物種間の違いが何であるかという生物学の基本的な問いへの答えが得られるのではないだろうか。

ゲノム計画の第 2 の目標はゲノムの機能についてである。ゲノム DNA には全てが書き込まれているが、それだけでは生物はできてこない。細胞（正確にいうと卵細胞）という場が必要である。特定の細胞で、特定の時期に、特定の遺伝子が働くから、細胞の分化がおり、組織や器官ができていくのである。ゲノム計画では全遺伝子について、いどこで働いているのか、何をしているのかを、システムティックに調べることを目指している。この結果から逆にゲノムの働きを制御する仕組みやひいてはゲノムの構築の原理を明らかにしたいからである。このようなゲノム計画がいろいろな生物で進むことにより、生命の仕組みについての新しい見方がうまれることが期待される。

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 平方メートルを買取するとともに、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設置された。

昭和 60 年度には、2 つの研究系の客員研究部門と、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設置された。

昭和 63 年度には、放射線・アイソトープセンターと遺伝情報研究センターに遺伝子ライブラリー研究室が設置された。また、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、生命科学研究所の遺伝学専攻を担当することになった。

平成 3 年度には、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 年度には、遺伝実験生物保存研究センターに発生工学研究室が、平成 6 年度には、遺伝情報研究センターに遺伝子機能研究室が設置された。

平成 7 年度には、生命情報研究センターが設置され、遺伝情報研究センターから遺伝情報分析研究室と遺伝子機能研究室が振替られるとともに、新に大量遺伝情報研究室と分子分類研究室が設置された。

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 7 年 3 月 23 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 7 年 3 月 29 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	宇宙理学及び宇宙工学の学理及びその応用の研究
国立遺伝学研究所	遺伝学に関する総合研究
統計数理研究所	統計に関する数理及びその応用の研究
国際日本文化研究センター	日本文化に関する国際的及び学際的な総合研究並びに世界の日本研究者に対する研究協力
国立天文台	天文学及びこれに関連する分野の研究・天象観測並びに暦書編製、中央標準時の決定及び現示並びに時計の検定に関する事務
核融合科学研究所	核融合プラズマに関する学理及びその応用の研究

○国立学校設置法施行規則（抄）

（昭和39年4月1日文部省令第11号）最終改正 平成7年3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	国立歴史民俗博物館	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7年3月30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俗博物館 | 館長 |
| 四 国立天文台 | 台長 |

- 2 機構長は、岡崎国立共同研究機構の業務を掌理する。
3 所長、館長又は台長は、それぞれ所務、館務又は台務を掌理する。

(職員の種類)

第2条 前条に掲げるもののほか、機関に次の職員を置く。

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

- 2 機関に、前項に掲げるもののほか、講師(非常勤の者に限る。以下同じ。)を置くことができる。
3 教授は、研究に従事し、及び国立大学その他の大学の大学院における教育に協力するための学生の研究指導(以下「研究指導」という。)を行う。
4 助教授は、教授の職務を助ける。
5 講師は、教授又は助教授に準ずる職務に従事する。
6 助手は、教授及び助教授の職務を助ける。
7 事務職員は、庶務、会計等の事務に従事する。
8 技術職員は、技術に関する職務に従事する。

(外国人研究員)

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

- 2 前項の規定の実施に関し必要な事項については、別に文部大臣が定める。

(評議員会)

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

- 2 評議員会は、それぞれ当該機関の事業計画その他の管理運営に関する重要事項について、当該機関の長に助言する。
- 3 評議員は、評議員20人以内（機構にあっては、15人以内とする。）で組織し、評議員は、左各号に掲げる者（機構にあっては、機構に置かれる各研究所の評議員とする。）のうちから、文部大臣が任命する。
 - 一 国立大学の学長
 - 二 公立又は私立の大学の学長
 - 三 その他学識経験のある者
- 4 評議員の任期は、2年とし、その欠員が生じた場合の補欠の評議員の任期は、前任者の残任期間とする。
- 5 評議員は、非常勤とする。
- 6 評議員会の運営に関し必要な事項は、別に文部大臣が定める。
（運営協議員会）

第5条 機関（機構にあっては、機構に置かれる研究所とする。以下この条において同じ。）に、それぞれ運営協議員会を置く。

- 2 運営協議員会は、それぞれ当該機関の共同研究計画に関する事項（国立極地研究所にあっては、極地観測の実施とする。）その他の機関の運営に関する重要事項で当該機関の長が必要と認めるものについて、当該機関の長の諮問に応じる。
- 3 運営協議員会は、運営協議員21人以内で組織し、運営協議員は、当該機関の職員及び当該機関の目的たる研究と同一の研究に従事する左の各号に掲げる者の中から、文部大臣が任命する。
 - 一 国立大学の教員
 - 二 公立又は私立の大学の教員
 - 三 前二号に掲げる者以外の者
- 4 運営協議員の任期は、2年とし、その欠員が生じた場合の補欠の運営協議員の任期は、前任者の残任期間とする。
- 5 運営協議員は、非常勤とする。
- 6 運営協議員会の運営に関し必要な事項は、別に文部大臣が定める。
（客員教授等）

第6条 機関の長は、常時勤務の者以外の職員で当該機関の研究に従事する者又は第3条第1項の規定により研究に従事する外国人のうち、適当と認められる者に対しては、客員教授又は客員助教授を称せしめることができる。

- 2 前項の規定に関し必要な事項については、別に文部大臣が定める。
（名誉教授）

第6条の2 機関は、当該機関に機関の長（機構に置かれる研究所の長を含む。）、教授又は助教授として勤務した者であって、当該機関の目的達成上特に功績のあった者に対し、当該機関の定めるところにより、名誉教授の称号を授与することができる。

第5章 の2 国立遺伝学研究所 （企画調整主幹）

第25条の4 国立遺伝学研究所に企画調整主幹1人を置き、教授を以て充てる。

- 2 企画調整主幹は、所長の命を受け、国立遺伝学研究所の行う研究に係る事業の企画及び実施について総合調整する。

(内部組織)

第25条の4の2 国立遺伝学研究所に、管理部及び次の5研究系並びに技術課を置く。

- 一 分子遺伝研究系
- 二 細胞遺伝研究系
- 三 個体遺伝研究系
- 四 集団遺伝研究系
- 五 総合遺伝研究系

- 2 前項に掲げるもののほか、国立遺伝学研究所に研究施設を置く。

(管理部)

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

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

(研究系及び研究部門)

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

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

(技術課)

第25条の7 技術課においては、技術に関する専門的業務を処理する。

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

(研究施設)

第25条の8 研究施設の名称は、別表第5の3に掲げるとおりとする。

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

別表第5の2(第25条の6関係)

国立遺伝学研究所の研究部門

研究系の名称	左欄の研究系に置く研究部門
分子遺伝	分子遺伝 変異遺伝 *核酸化学
細胞遺伝	細胞遺伝 微生物遺伝 *細胞質遺伝

研究系の名称	左欄の研究系に置く研究部門
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	
生命情報研究センター	
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7年3月28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員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条 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員会(以下「評議員会等」という.)の運営については、この規程の定め

るところによる。

(会長及び副会長)

第2 評議員会等に会長及び副会長各1人を置く。

2 評議員会の会長及び副会長は、それぞれ評議員が互選する。

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

4 会長は、それぞれ評議員会等の会務を総理する。

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

(招集)

第3 評議員会等は、当該機関の長の求めに応じ、会長がこれを招集する。

(議事)

第4 評議員会等は、それぞれ評議員及び運営協議員の過半数の出席がなければ、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6年6月14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

六 専攻分野について、特に優れた知識及び経験を有し、研究教育上の能力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験がある者
- 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験があり、研究教育上の能力があると認められる者
- 四 修士の学位(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
- 六 専攻分野について、優れた知識及び経験を有し、研究教育上の能力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 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、総務管理官、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、企画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

12 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。

13 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8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ず、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項の規定に基き命令又は同法第104条の規定による承認又は許可を要せず、地方公務員たる教育公務員にあっては地方公務員法第38条第2項の規程により人事委員会が定める許可の基準によることを要しない。

(教育公務員以外の者に対するこの法律の準用)

第22条 国立又は公立の学校において教員の職務に準ずる職務を行う者、文部省に置かれる研究施設、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6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並びに国立婦人教育会館とする。

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項に規定する機関及び国立学校設置法(昭和24年法律第150号)第3章の3から第3章の6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7年12月31日現在)

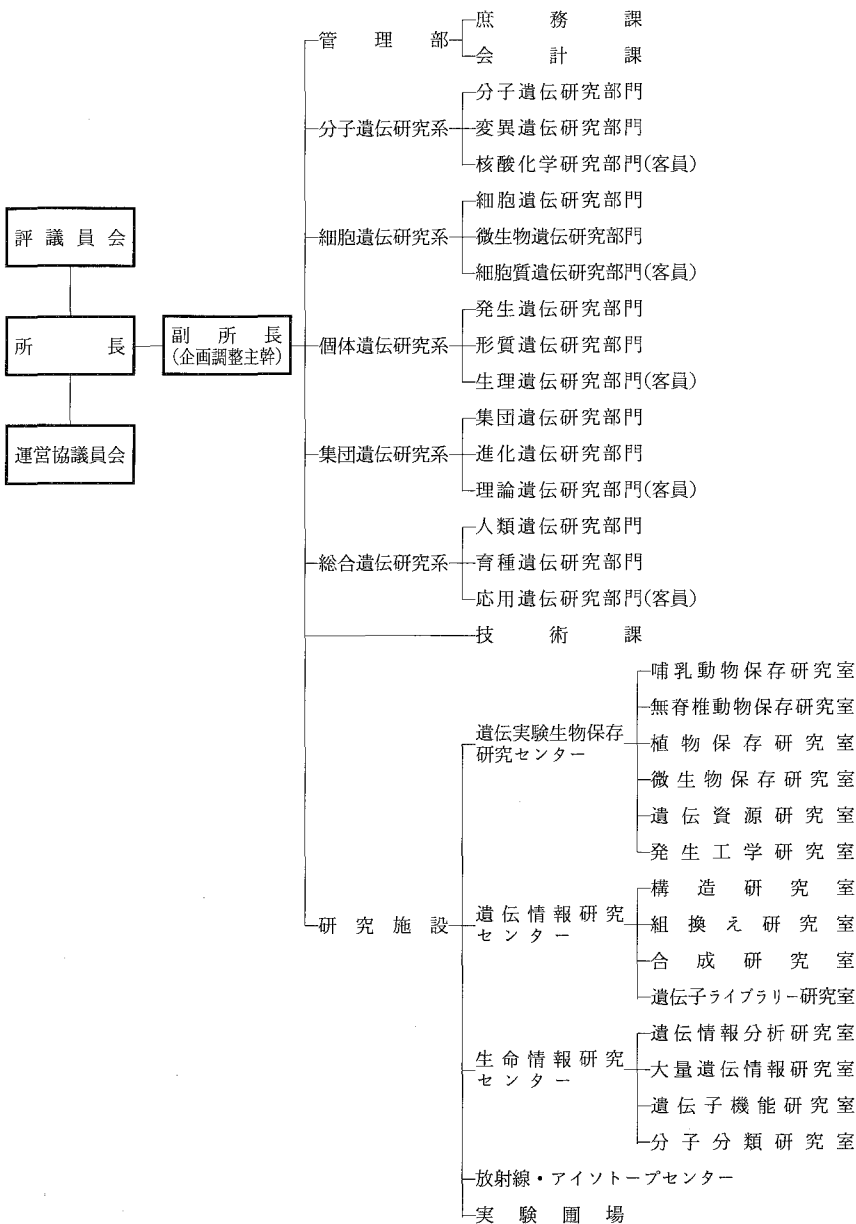
区 分	指定職	行政職 (一)	教育職 (一)	計
定 員	2	41	70	113
現 在 員	2	39 (1)	58 (1)	99 (2)

()は休職者外数

所 長

薬学博士 富澤純一

機構図 (平成 7 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 7 年 12 月 31 日現在)

現 職	氏 名	任命年月日	備 考
(財)神奈川科学技術アカデミー理事長	長 倉 三 郎	平成 6 年 6 月 28 日	会 長
日本学術振興会理事長	大 崎 仁	平成 6 年 8 月 1 日	
(株)生命誌研究館顧問	大 澤 省 三	平成 7 年 4 月 1 日	
名古屋大学 学 長	加 藤 延 夫	平成 6 年 6 月 28 日	
大阪大学蛋白質研究所教授	京 極 好 正	"	
(株)癌研究会癌研究所名誉研究所長	菅 野 晴 夫	"	副 会 長
東 邦 大 学 学 長	杉 村 隆	"	
広 島 市 立 大 学 学 長	田 中 隆 莊	"	
かずさ DNA 研究所 所 長	高 浪 満	"	
岡崎国立共同研究機構 長	竹 内 郁 夫	平成 7 年 4 月 1 日	
大阪府立成人病センター 総 長	豊 島 久 真 男	平成 6 年 6 月 28 日	
東 京 大 学 名 誉 教 授	野 島 庄 七	"	
(財)実験動物中央研究所 長	野 村 達 次	"	
東京大学大学院人文社会系研究科教授	濱 井 修	"	
大 阪 府 立 大 学 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 学 長	宮 本 美 沙 子	"	
岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研究所 長	毛 利 秀 雄	平成 7 年 4 月 1 日	
近畿大学生物理工学部教授	山 縣 弘 忠	平成 6 年 6 月 28 日	

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7年12月31日現在）

官 職 名	氏 名	任命年月日	備 考
筑波大学名誉教授	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	〃	
通産省工業技術院生命工学 工業技術研究所長	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 惇 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7年1月16日	
教授(総合遺伝研究系)	沖 野 啓 子 (森島)	平成7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(生命情報研究センター)	五 條 堀 孝	〃	

平成7年度 系統保存委員会委員

(所外委員のみ記載)

官 職 名	氏 名
立教大学教授(理学部)	岩 槻 邦 男
筑波大学名誉教授	岡 田 益 吉
光園学園女子短期大学教授	木 下 俊 郎
理化学研究所電子計算機室長兼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(医学部附属遺伝発生医学研究施設)	山 村 研 一
京都工芸繊維大学教授(繊維学部)	渡 辺 隆 夫

平成7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	鶴 川 義 弘
通商産業省特許庁総務部特許情報課長	小 野 新 次 郎
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
名古屋大学教授(理学部)	郷 通 子
理化学研究所電子計算機室長兼ライフサイエンス研究情報室長	菅 原 秀 明
東京大学教授(医科学研究所)	高 木 利 久
(財)かずさ DNA 研究所長	高 浪 満
国立がんセンター研究所がん遺伝情報研究センター研究部室長	水 島 洋
奈良先端科学技術大学院大学教授(バイオサイエンス研究科)	吉 川 寛

平成7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7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 悞 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
変異遺伝研究部門	文部教官 教 授	理学博士	瀬 野 悞 二	63. 1. 1
	文部教官 助教授	理学博士	山 尾 文 明	元. 9. 1
	文部教官 助 手	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	薬学博士	森 川 耿 右	6. 4. 1
	非常勤 講 師	理学博士	山 岸 正 裕	7. 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 教 授	理学博士	小 川 智 子	7. 4. 1
	文部教官 助教授	理学博士	今 井 弘 民	42. 3. 2
	文部教官 助 手	医学博士	田 中 茂 生	7.11. 1
	文部教官 助 手	農学博士	後藤英夫(休)	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
	文部教官 教 授	医学博士	山 村 研 一	7. 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 理学博士	村 上 昭 雄	40.11.16
	文部教官 助 手	理学修士	湊 清	42. 5. 1
	文部教官 助 手	農学博士	山 田 正 明	40. 6. 1
	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	理学博士	宗 岡 洋二郎	7. 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 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)	斎 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

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

部門別	官職名	学位	氏名	任用年月日
育種遺伝研究部門	文部教官 教授	農学博士	沖野啓子 (森島)	36. 4. 1
	文部教官 助手	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	農学博士	島本義也	6. 4. 1
	文部教官 助教授	医学博士	佐々木裕之	7. 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
	文部教官 助手	博士(医学)	小出剛	7. 4. 1
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
	文部教官 助手	博士(理学)	後藤聡	7. 4. 1
植物保存研究室	文部教官 助手	博士(農学)	伊藤幸博	7. 4. 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	博士(農学)	金丸研吾	5. 9. 1
遺伝資源研究室	文部教官 助教授	理学博士	山崎由紀子	7. 5. 1
	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) 桂 勲

構造研究室	文部教官 助教授	理学博士	嶋本伸雄	63. 7.16
	文部教官 助手	理学博士	永井宏樹	4. 4. 1
組換え研究室	文部教官 教授	理学博士	桂勲	3.12. 1
	文部教官 助手	博士(理学)	石原健	4. 4. 1
合成研究室	文部教官 助教授	理学博士	白木原康雄	7. 8.15
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

生命情報研究センター センター長(併) 五條堀 孝

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

部門別	官職名	学位	氏名	任用年月日
大量遺伝情報研究室	文部教官 教授	理学博士	西川 建	7.10.1
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

名誉教授

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	総合研究大学院大学副学長	7.4.1

名誉所員

氏名	職名	称号授与年月日
酒井 寛一	元国立遺伝学研究所応用遺伝部長	48.6.1
森脇 大五郎	元国立遺伝学研究所長	50.3.13
大島 長造	元国立遺伝学研究所生理遺伝部長	54.4.1
岡 彦一	元国立遺伝学研究所応用遺伝部長	55.4.2
田島 彌太郎	元国立遺伝学研究所長	58.10.4

事務職員(管理部)

職名	氏名	任用年月日
管理部 長	河野 憲司	6.4.1
庶務課 長	佐藤 繁	7.7.10
会計課 長	田村 光男	7.4.1
庶務課 課長 補佐	岩城 英一	37.9.1
会計課 課長 補佐	大野 修	7.4.1
庶務係 長	酒井 清人	61.4.1
人事係 長	大川 淑子	6.4.1

職 名	氏 名	任用年月日
研究協力係長	山本 勉	45. 4. 1
共同研究係長	秋山 啓剛	6. 4. 1
情報資料係長	大沢 正男	6. 4. 1
総務係長	八木 悟司	6. 4. 1
経理係長	引地 光夫	7. 4. 1
用度係長	板倉 幸男	6. 4. 1
管財係長	滝田 公一	7. 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(休)	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
経理主任	松永 幸夫	7. 4. 1
人事係員	太田 勝広	5. 4. 1
用度係員	土屋 雅義	7. 4. 1
施設係員	上田 敏史	4. 4. 1
共同研究係員(併)	漆 畑 恭子	7. 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. 1
機器班第二技術係長	井出 正美	32. 4. 1
動物班第一技術係員	杉本 典夫	37. 11. 1
動物班第二技術係員	山本 博	3. 4. 1

職 名	氏 名	任 用 年 月 日
植物・微生物班第一技術係員	永 口 貢	63. 4. 1
植物・微生物班第一技術係員	宮 林 登志江	2. 4. 1
植物・微生物班第二技術係員	芦 川 祐 毅	35. 4. 1
機 器 班 第 一 技 術 係 員	石 井 百 合 子	39. 7. 1
機 器 班 第 一 技 術 係 員	芦 川 東 三 夫	36. 4. 16
機 器 班 第 二 技 術 係 員	境 雅 子	47.12. 5

退職者 転出者等

職 名	氏 名	在 職 期 間	備 考
総合遺伝研究系助教授	佐野芳雄	昭50.11. 1～ 平 7. 2. 15	北海道大学農学部 教授へ
分子遺伝研究系助手	山岸正裕	平元. 9. 1～ 平 7. 3. 31	愛知県がんセンター 主任研究員へ
庶務課課長補佐	山本昭	平 4. 3. 1～ 平 7. 3. 31	静岡大学人事課へ
会計課管財係長	佐藤隆司	昭37. 4. 1～ 平 7. 3. 31	静岡大学主計課へ
会計課経理係長	山添均	平 4. 4. 1～ 平 7. 3. 31	静岡大学施設課へ
会計課用度係用度主任	梅澤三郎	昭48. 4. 1～ 平 7. 3. 31	国立中央青年の家 庶務課へ
会計課経理係員	渡邊晃	平 4. 4. 1～ 平 7. 3. 31	国立中央青年の家 事業課へ
集団遺伝研究系助教授	田嶋文生	平元. 8. 1～ 平 7. 3. 31	東京大学大学院 理学系研究科教授へ
分子遺伝研究系助手	豊田哲也	平 4. 1. 16～ 平 7. 6. 15	久留米大学医学部教授へ
技 術 課	浦崎美佐子	平 5. 4. 1～ 平 7. 11. 15	辞職

平成7年度外国人研究員の受入れ

氏 名	所 属	研究課題	受入れ研究部門	研究期間
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
Ozoline Olga N.	ロシア科学アカデ ミー細胞生物物理 学研究所 上級研究員	RNAポリメラーゼ の分子解剖	分子遺伝研究部門	平 7. 9. 5～ 平 8. 3. 31

氏名	所属	研究課題	受入れ研究部門	研究期間
Kundu Tapas Kumar	インド科学研究所 生化学部門助手	転写装置の機能構造 の解析	分子遺伝研究部門	平7. 9.26～ 平8. 8.31
Sen Ranjan	インドサハ 核物理学研究所 上II級研究員	RNAポリメラーゼ の分子機械としての 動的構造	遺伝情報研究 センター	平7.12. 4～ 平8.11.30

大学院学生（特別研究学生）

氏名	研究課題	所属	受入期間
宇井基泰	細胞周期制御機構の研究	東京大学大学院 農学研究科 (修士課程)	平.6.10. 1～ 平.7. 9.30
八木克将	ショウジョウバエの遺伝子発現制御	名古屋大学大学院 理学研究科 (博士課程)	平.6.10. 1～ 平.7. 9.30
宮尾武孝	分裂酵母 RNA ポリメラーゼの分子解剖	京都大学大学院 薬学研究科 (博士課程)	平.7. 4. 1～ 平.8. 3.31
渡辺貴斗	ウイルスの RNA 複製酵素に関する分子 遺伝学的研究	東京大学大学院 農学生命科学研究科 (博士課程)	平.7. 4. 1～ 平.8. 3.31
秋本正博	アマゾン河流域に分布する野生イネ (<i>Oryza glumaepatula</i>) の系統分化に関する 研究	北海道大学大学院 農学研究科 (修士課程)	平.7. 4. 1～ 平.7.11.30
佐藤 肇	片眼性小眼症突然変異 Rim7 の遺伝解析	東北大学大学院 医学系研究科 (博士課程)	平.7. 4. 1～ 平.8. 3.31
鈴木善幸	病原ウイルスの分子進化	秋田大学大学院 医学系研究科 (博士課程)	平.7. 5. 1～ 平.8. 3.31
高橋一成	細胞周期制御遺伝子の変異に関する研究	東京大学大学院 工学系研究科 (博士課程)	平.7. 4. 1～ 平.8. 3.31
渡部美穂	マウス始原生殖細胞の分化に関する研究	広島大学大学院 理学研究科 (博士課程)	平.7. 7. 1～ 平.8. 3.31
川崎陽久	ショウジョウバエ転写因子 FTZF1 の ターゲット遺伝子に関する研究	岩手大学大学院 連合農学研究科 (博士課程)	平.7.10. 1～ 平.8. 9.30
寺澤匡博	減数分裂組換えで機能する染色体構造 の解析	大阪大学大学院 理学研究科 (修士課程)	平.7.10. 1～ 平.8. 3.31
池谷智淳	マウス組織特異的組換え機構の解析	大阪大学大学院 理学研究科 (博士課程)	平.7.10. 1～ 平.8. 3.31

氏名	研究課題	所属	受入期間
伊藤 将弘	3D-1D法を用いた蛋白質の二次構造予測	北陸先端科学技術 大学大学院 情報科学研究科 (博士課程)	平. 7. 10. 1~ 平. 8. 9. 30

受託研究員

氏名	所属会社名又は機関名	研究課題	受入れ研究部門等	研究期間
鈴木 淳子	三菱化学株式会社 研究開発本部 横浜総合研究所	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. 7. 4. 1~ 平. 7. 3. 31
川久保 明	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定量	放射線アイソト プセンター	平. 7. 4. 1~ 平. 8. 3. 31
新井 理	株式会社 常人システムテクノ ロジー	ウイルス遺伝子の進化的 解析	生命情報研究セン ター	平. 7. 4. 1~ 平. 7. 9. 30

研究生

氏名	受入研究部門	受入期間
磯 部 拓	哺乳動物保存研究室	7. 4. 1~8. 3. 31
岸 本 康 之	発生遺伝研究部門	7. 10. 1~8. 3. 31
浜 太 郎	発生工学研究室	7. 10. 1~8. 3. 31
水 野 健 一	哺乳動物保存研究室	7. 10. 1~8. 3. 31
竹 内 実	構造研究室	7. 10. 1~7. 10. 31

C. 土地及び建物

(平成7年12月31日現在)

土地総面積	105,312 m ²
内訳 { 研究所敷地	96,069 m ²
{ 宿舎敷地	9,243 m ²
建物総面積 (建面積)	11,843 m ²
(延べ面積)	23,505 m ²

建物内訳

区 分	構 造	面 積	
		建面積 (m ²)	延べ面積 (m ²)
本 館	鉄筋コンクリート造り3階建	1,602	4,763
自 動 車 車 庫	木造かわらぶき平屋建	52	52
公 務 員 宿 舎 (21棟)	木造かわらぶき平屋建	1,250	1,250
放 射 線 実 験 室	鉄筋平屋建一部地下室	392	535
特 別 蚕 室	ブロック造り一部地下	194	218
ポ 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建	344	346
RIポンプ室	鉄筋コンクリート造り平屋建	30	30
テニスコートシャワー室	鉄筋コンクリート造り平屋建	11	11
屋外便所	ブロック造り一部コンクリート	5	5
研究員宿泊施設	鉄筋コンクリート造り3階建	346	807
廃棄物保管庫	ブロック造り平屋建	58	58
研究実験棟	鉄骨鉄筋コンクリート造り7階建	561	3,907
渡り廊下	鉄骨造り	41	41
計		11,843	23,505

D. 予 算 (平成7年度当初予算)

人件費	774,224 (単位: 千円)
物件費	1,554,468
合計	2,328,692

E. 奨学寄附金・受託研究費

平成7年奨学寄附金受入

奨学寄附金 20,452千円

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	インフルエンザウイルス 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	
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	上田 均助手への研究助成 (海外渡航費) のため	
静岡県三島市初音台 9-4 人類遺伝研究部門 出原 賢 治 (財団法人 日本リウマチ財団)	1,000,000 円	インターロイキン4の慢 性関節リウマチに対する効 果の分子的機序の解析とイ ンターロイキン4遺伝子 導入のモデルマウスの確立	
静岡県三島市初音台 9-4 人類遺伝研究部門 出原 賢 治 (財団法人 細胞科学研究財団)	3,000,000 円	インターロイキン4の慢 性関節リウマチに対する効 果の分子的機序の解析とイ ンターロイキン4遺伝子 導入のモデルマウスの確立	
静岡県三島市文教町 1-4-60 育種遺伝研究部門 平野 博 之 (飯島記念食品科学振興財団)	1,400,000 円	研究助成のため	
群馬県高崎市西横手町 351 番地 1 株式会社 日本抗体研究所 代表取締役 足 立 正 一	3,500,000 円	哺乳動物遺伝学に対する研 究助成	
静岡県三島市谷田 325 番地 組換え研究室 川 上 稜 (財団法人 井上科学振興財団)	200,000 円	国際研究集会 (第 10 回国 際線虫学会) 出席旅費の一 部援助	
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	国立遺伝学研究所放射線ア イソトープセンター 助手 藤田昌也氏への研究助成 (海外渡航費) のため	
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	国立遺伝学研究所総合遺伝 研究系 助手 出原賢治氏 への研究助成 (海外渡航 費) のため	

寄附者の名称、職業及び氏名 (法人の場合は、法人名、 主たる事務所の所在地及び代表者名)	寄附金歳入 納付額	寄附金の目的及び条件	備考
静岡県三島市谷田 1706-8 財団法人 遺伝学普及会 会長 近藤典生	250,000 円	国立遺伝学研究所細胞遺伝 研究系 助手 原弘志氏 への研究助成(海外渡航 費)のため	
東京都千代田区丸の内 1 丁目 4 番 2 号 財団法人 旭硝子財団 理事長 古本次郎	900,000 円	学術研究助成のため	
横浜市青葉区鴨志田町 1000 番地 三菱化学株式会社横浜総合研究所 取締役所長 相楽光男	500,000 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	
大阪市西淀川区柏里 2 丁目 1 番 8 号 医療法人 田中診療所 理事長 田中迪生	2,000,000 円	人類遺伝研究部門 助教授 寶来 聰に対する学術研究 助成	
大阪府吹田市古江台六丁目 2 番 3 号 株式会社生物分子工学研究所 常務取締役 五百旗頭禮一	500,000 円	西川 建教授に対する研究 助成	
京都府相楽郡木津町見台 6-5-1-3 バイエル薬品中央研究所 榎林陽一	1,600,000 円	研究助成金	
横浜市青葉区鴨志田町 1000 番地 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	
合 計	20,452,000		

平成 7 年受託研究受入

受託研究費 149,990.7 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)
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 7 年 9 月 1 日 至平成 8 年 2 月 29 日	理化学研究 所	2,987,000
筋ジストロフィー 及び類縁疾患の 病態と治療法に 関する研究	人類遺伝研究部門 助教授 寶来 聰	自平成 7 年 10 月 9 日 至平成 8 年 3 月 31 日	国立精神・ 神経センタ ー	1,000,000
直接観察・操作 技術に基づいた 生体ナノ集合体 研究のための実 験系の開発	構造研究室 助教授 嶋本伸雄	自平成 7 年 11 月 15 日 至平成 8 年 3 月 19 日	農業生物資 源研究所	12,830,000

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)
遺伝的組換え機構を基礎とした遺伝子操作技術の確立	細胞遺伝研究部門 教授 小川 智子	自平成 7 年 11 月 1 日 至平成 8 年 3 月 31 日	新エネルギー・産業技術総合開発機構	58,645,000
新原理に基づく遺伝情報発現制御技術の研究開発	分子遺伝研究部門 教授 石浜 明	自平成 7 年 12 月 27 日 至平成 8 年 3 月 31 日	新エネルギー・産業技術総合開発機構	39,747,700
DNA 塩基配列に基づくタンパク質の機能予測のための総合的方法の研究開発	遺伝情報分析研究室 教授 五條堀 孝	自平成 7 年 12 月 27 日 至平成 8 年 3 月 31 日	新エネルギー・産業技術総合開発機構	29,149,000
初期胚細胞系列に由来する幹細胞の制御機構の研究	発生工学研究室 教授 中辻 憲夫	自平成 8 年 1 月 10 日 至平成 8 年 3 月 31 日	理化学研究所	5,632,000
合 計				149,990,700

F. 日 誌

2 月 3 日	第 45 回運営協議員会
3 月 9 日	第 46 回運営協議員会
3 月 17 日	第 24 回評議員会
4 月 13 日	第 47 回運営協議員会
4 月 15 日	一般公開
5 月 16 日	第 48 回運営協議員会
6 月 30 日	第 25 回評議員会
7 月 14 日	第 49 回運営協議員会
10 月 3 日	第 50 回運営協議員会
10 月 21 日	公開講演会

教授 会 議

1 月 10 日	第 201 回	1 月 31 日	第 202 回
2 月 14 日	第 203 回	3 月 7 日	第 204 回
3 月 28 日	第 205 回	4 月 11 日	第 206 回
4 月 25 日	第 207 回	5 月 9 日	第 208 回
5 月 23 日	第 209 回	6 月 13 日	第 210 回
6 月 27 日	第 211 回	7 月 11 日	第 212 回

9月26日	第213回	10月31日	第214回
11月28日	第215回	12月19日	第216回

外国からの主な来訪者

平成3年12月1日～ 平成7年2月28日	Thangirala Sudha, Indian Association for Down's Syndrome, India
平成5年10月5日～ 平成7年3月31日	Dzhanybek M. Adyshev, Institute of Biochemistry and Physiology, Kyrgys Academy of Sciences, Kyrgyz
平成6年3月10日～ 平成7年3月30日	徐学洙, 嶺南大学, 韓国
平成6年4月1日～ 平成7年3月31日	Perriere Guy Bernard, URA Centre National de la Recherche Scientifique, France
平成6年6月9日～	才宏偉, 北京農業大学, 中国
平成6年9月1日～ 平成7年3月30日	John R. Wakeley, University of California at Berkeley, U.S.A.
平成7年1月26日 2月16日	Michael D. Baron, Institute for Animal Health, U. K. David Penny, Massey University, New Zealand
2月16日～3月12日	Jayaraman Gowrishankar, Centre for Cellular and Molecular Biology, India
3月18日～21日	Hans Bode, University of California at Irvine, U.S.A.
3月24日～25日	Peter Koopman, University of Queensland, Australia
3月26日～27日	Marcus W. Feldman, Stanford University, U.S.A.
4月3日～4日	Walter Doerfler, Institut für Genetik, Germany
5月12日～13日	Carol A. Gross, University of California at San Francisco, U.S.A.
5月14日～16日	Bi-Cheng Wang, University of Georgia, U.S.A.
5月14日～16日	Orna Amster-Choder, Hebrew University Hadassah Medical School, Israel
5月14日～16日	Mordechai Choder, Hebrew University Hadassah Medical School, Israel
5月29日	Jeffrey L. Thorne, North Carolina State University, U.S.A.
6月21日～7月14日	Dipankar Chatterji, Centre for Cellular and Molecular Biology, India
6月28日～30日	Casey Bergman, Cornell University, U.S.A.
6月29日～30日	Michael Brenner, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, NIH, U.S.A.
7月19日	長嶺義邦, Friedrich Miescher Institute, Switzerland

- 8月17日～18日 末岡 登, 末岡多美子, University of Colorado at Boulder, U.S.A.
- 8月17日～21日 James F. Crow, University of Wisconsin, U.S.A.
- 8月27日～29日 Grey Gibson, Duke University, U.S.A.
- 8月27日～30日 Elizabeth Waters, University of Arizona, U.S.A.
- 8月28日 Giorgio Bernardi, Institut Jacques Monod, France
- 8月28日 Simon Eastel, The Australian National University, Australia
- 8月28日 Michael Hammer, University of Arizona, U.S.A.
- 8月28日 大野 乾, Beckman Research Institute of The City of Hope, U.S.A.
- 8月28日 Mark Stoneking, Pennsylvania State University, U.S.A.
- 8月28日 Clay Stephens, National Cancer Institute, NIH, U.S.A.
- 8月28日～29日 Richard H. Ebright, Rutgers University, U.S.A.
- 8月29日～30日 Spencer V. Muse, Pennsylvania State University, U.S.A.
- 8月31日～9月 1日 Jerry L. Workman, Pennsylvania State University, U.S.A.
- 9月 1日 Joan W. Conaway, Program in Molecular and Cellular Biology, Oklahoma Medical Research Foundation, U.S.A.
- 9月17日～19日 E. Zouros, Dalhousie University, Canada
- 9月20日～21日 James Douglas Engel, North-Western University, U.S.A.
- 10月 5日 Hyon Choy, National Cancer Institute, NIH, U.S.A.
- 10月 8日～16日 William B. Provine, Cornell University, U.S.A.
- 10月 8日～16日 Tomoko Steen, Emory University, U.S.A.
- 10月26日 Stephen Beck, DNA Sequencing Laboratory, ICRF, U. K.
- 10月30日～31日 Joe Inselburg, Dartmouth Medical School, U.S.A.
- 11月 7日 Cliff Tabin, Harvard Medical School, U.S.A.
- 11月17日 Miroslav Radman, CNRS Institut Jacques Monod, France
- 11月21日 Stephen D. M. Brown, St. Mary's Hospital Medical School, U. K.
- 11月22日 Syozo Yokoyama, Syracuse University, U.S.A.
- 11月27日 Xavier Montagutelli, Institut Pasteur, France
- 12月 1日 高橋正行, Institut Curie, Orsay, France
- 12月 8日 David Lipman, National Center for Biotechnology Information, NIH, U.S.A.
- 12月 9日～12日 水内 清, Laboratory of Molecular Biology, NIDDK, NIH, U.S.A.
- 12月13日～14日 Stephen C. West, Clare Hall Laboratories, ICRF, U. K.

12月15日 Chris Sander, EMBL-EBI, Cambridge, U. K.

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。

- 第433回 1月20日 1. ヒドラ上皮細胞の分裂パターン (清水 裕)
2. 哺乳類の遺伝子における同義置換と非同義置換の比較 (太田 朋子)
- 第434回 1月27日 1. Role of Ubiquitin System In Nucleolar Disintegration (Sudaha Thangirala)
2. 遺伝的変異量の推定法と nonrandom-sampling の影響 (田嶋 文生)
- 第435回 3月17日 1. 分子生物学への質量分析の応用 (藤田信之)
2. 動物界における昆虫網繁栄の理由とそれら機構獲得の仕組み (湊 清)
- 第436回 3月24日 特異的ユビチキン経路による細胞周期制御 (山尾文明)
- 第437回 3月31日 1. 転写メディエーターの機能解析 (広瀬 進)
2. 細胞外マトリックス・テネシンXの機能解析 (松本健一)
- 第438回 4月21日 ヒト MHC 領域における複製タイミングの解析 (天前豊明)
- 第439回 4月28日 1. C. エレガンスゲノムの発現マップ作り (小原雄治)
2. 枯草菌孢子形成遺伝子の発現制御 (藤田昌也)
- 第440回 5月12日 マウス四肢形態形成の遺伝学的解析 (榎屋啓志)
- 第441回 5月19日 1. 正の淘汰の働く遺伝子の探索 (遠藤俊徳)
2. 分裂酵母における ubiquitin-conjugating enzymes (E2s) の探索, 及び機能解析 (逢坂文男)
- 第442回 5月26日 1. 大腸菌 RNA ポリメラーゼのサブユニットの機能比較 (草野秀一)
2. ヒドラのエピボリー運動における内胚葉上皮構造の消失と再構築 (村手源英)
- 第443回 6月2日 染色体バンド構造の分子レベルでの総合的理解 (深川竜郎)
- 第444回 6月9日 HIV の歴史と進化のメカニズム (山口由美)
- 第445回 6月16日 1. 大腸菌 RNA ポリメラーゼの α サブユニットの構造マッピング (根岸智史)
2. マウス胚発生における細胞分化 1 始原生殖細胞における自律的増殖制御について 2 神経上皮からの細胞株樹立とその分化能の検定 (大久保悌)

- 第446回 6月23日 1. 日大腸菌の複製終結点結合蛋白質 (Tus) の立体構造解析 (鎌田勝彦)
2. 線虫 *C. elegans* の初期胚において局在する母性 mRNA の探索 (田原浩昭)
- 第447回 6月30日 1. 耐性幼虫形成異常を指標とした線虫の新しい神経系変異の分離と解析 (鈴木教郎)
2. ショウジョウバエの転写因子 FTZ-F1 の転写制御機構の解析 (影山裕二)
- 第448回 7月7日 大量遺伝情報解析からみた遺伝子の進化 (五條堀孝)
- 第449回 7月21日 1. 染色体ソーティングを基盤としたヒトゲノム解析 (藤山秋佐夫)
2. ショウジョウバエ成虫原基の形成過程における *escargot* と *snail* の役割 (布施直之)
- 第450回 7月28日 1. 遺伝学により神経回路に関する情報を得る (桂 勲)
2. DNA 超らせん化因子の構造と活性 (小林正友)
- 第451回 9月8日 1. *Cdc2* と *esg* 遺伝子によるショウジョウバエの二倍体の維持 (林 茂生)
2. 大腸菌 *DnaA* 蛋白質について (安田成一)
- 第452回 9月29日 1. マウス突然変異を基にした形態形成機構の解析 (城石俊彦)
2. ショウジョウバエの卵巣で発現する遺伝子の探索 (山田正明)
- 第453回 10月6日 1. ヒト MHC 遺伝子における共有多型と遺伝子変換 (今西 規)
2. 父系および母系遺伝マーカーからみた日本人の起源 (宝来聰)
- 第454回 10月20日 1. バクテリアの細胞「間」情報伝達系 (金丸研吾)
2. SOS 応答の分子機構—シグナルから細胞分裂阻害まで (東谷篤志)
- 第455回 10月27日 1. 最小作用説の実験的裏付け—アリ 28SrDNA のゲノム内拡散現象 (今井弘民)
2. ドメイン構造を進化の単位としてみた分子進化 (池尾一穂)
- 第456回 11月10日 1. *SecA* 蛋白質のもう一つの顔—枯草菌 *secA341* 株の多面的形質発現の原因— (定家義人)
2. ヒドラのペプチド性シグナル分子大規模同定プロジェクト (藤沢敏孝)
- 第457回 11月17日 1. タンパク質フットプリントで何ができるか (永井宏樹)
2. イネ *Wx* 遺伝子の発現解析 (平野博之)

- 第458回 12月 1日 1. 大腸菌の細胞分裂に関与する因子 (西村昭子)
2. RNAウイルスのRNAポリメラーゼ: 構造・機能と形成機 (石浜明)
- 第459回 12月15日 摂食行動の制御機構と肥満に対する遺伝学からのアプローチ (今村孝)
- 第460回 12月22日 ゲノムインプリンティングの分子生物学 (佐々木裕之)

Biological Symposium

- 第432回 1月26日 The molecular biology of rinderpest virus (Michael D. Baron)
- 第433回 2月16日 A reanalysis of human mtDNA strongly supports the out-of-Africa hypothesis (David Penny)
- 第434回 3月 8日 Roles of σ^8 , σ^{70} , N-HS and HU proteins in osmotic regulation of proU transcription in *E. coli* (J. Gowrishankar)
- 第435回 3月24日 Sox-9 and the molecular genetics of skeletal development (Peter Koopman)
- 第436回 3月27日 An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci (Marcus W. Feldman)
- 第437回 5月12日 Function and regulation of sigma factors in *Escherichia coli* (Carol A. Gross)
- 第438回 5月15日 Crystal structure of T7 RNA polymerase (Bi-Cheng Wang)
- 第439回 5月29日 Combining protein secondary structure and evolution (Jeffrey L. Thorne)
- 第440回 7月19日 Urokinase-type plasminogen activator gene regulation in kidney cells: coupling of hormonal regulation and cell-specific gene expression (Yoshikuni Nagamine)
- 第441回 8月28日 Location, structure and function of the target of a transcription activator protein (Richard H. Ebright)
- 第442回 9月 1日 The Elongin complex: A multi-subunit regulator of elongation by RNA polymerase II (Joan W. Conaway)
- 第443回 9月 1日 Mechanisms mediating transcription factor remodeling of chromatin structure (Jerry L. Workman)
- 第444回 8月28日 Recent investigation on synonymous substitutions (Giorgio Bernardi)
- 第445回 8月28日 Tetraploid origin of mammals (Susumu Ohno)
- 第446回 8月28日 Molecular evidence for human evolution (Simon Easteal)
- 第447回 8月28日 Genetic variation of human Alu insert polymorphisms (Mark Stoneking)
- 第448回 8月28日 Tracking male migrations in Asia (Michael Hammer)

- 第449回 8月28日 New advances of genes mapping (Clay Stephens)
- 第450回 9月20日 GATA transcription factor control of hemotopoietic and neuronal cell fates (James Douglas Engel)
- 第451回 9月18日 The mussel mtDNA: A new mode of cytoplasmic DNA transmission and evolution (E. Zouros)
- 第452回 10月 5日 Negative control of transcription initiation in bacteria (Hyon Choy)
- 第453回 10月26日 Towards sequencing the human MHC (Stephan Beck)
- 第454回 11月 7日 Hedgehog genes and the patterning of the vertebrate embryo (Cliff Tabin)
- 第455回 11月17日 The role of neutral mutations in evolution: Molecular mechanisms (Miroslav Radman)
- 第456回 11月21日 Positional cloning and characterization of genes for deafness in the mouse and human (Stephen D. M. Brown)
- 第457回 11月27日 Genetic analysis of transmission ratio distortion in interspecific cross (Xavier Montagutelli)
- 第458回 11月22日 Molecular Evolution of Color Vision in Vertebrates (Syozo Yokoyama)
- 第459回 12月 1日 RecA 蛋白質による相同 DNA 探索のメカニズム (高橋正行)
- 第460回 12月11日 Structural aspects of phage Mu transpososome (Kiyoshi Mizuchi)
- 第461回 12月 8日 New developments of biological utilization of the DNA sequence database (David Lipman)
- 第462回 12月14日 Protein-directed molecular interactions during genetic recombination (Stephen C. West)
- 第463回 12月15日 From genome information to protein function and structure (Chris Sander)

三島遺伝談話会

- 第442回 1月11日 未分化胚細胞における遺伝子と遺伝子発現の特異性 (丹羽太貫)
- 第443回 1月11日 ショウジョウバエ発生における DNA 複製遺伝子の発現制御 (松影昭夫)
- 第444回 1月11日 遺伝的組換え—分子レベルから染色体レベルへ— (小川智子)
- 第445回 1月19日 ショウジョウバエを用いた細胞分化, 増殖シグナル伝達経路の解析 (津田玲生)
- 第446回 1月19日 ショウジョウバエを用いた形態形成機構の解析 (成虫原基と神経系) (後藤 聡)

- 第447回 1月30日 タバコ細胞膜結合型プロテインキナーゼ NPK15 の構造と機能 (伊藤幸博)
- 第448回 1月25日 イネの染色体地図の作成 (野々村賢一)
- 第449回 1月26日 植物ヒストン遺伝子の細胞周期 S 期特異的転写を規定するシス配列について (大坪憲弘)
- 第450回 1月26日 植物のアセチル CoA カルボキシラーゼの再発見 (小西智一)
- 第451回 2月13日 シンドビスウイルス非構造蛋白のプロセッシングと RNA 複製の制御 (白子幸男)
- 第452回 2月16日 CDK インヒビター p21 による DNA 複製の調節—*in vitro* SV40 DNA 複製の解析から— (和賀 祥)
- 第453回 2月28日 ヒト B 型肝炎ウイルス X 蛋白の構造とトランス活性化機構 (村上清史)
- 第454回 3月 1日 マウス Hox 遺伝子産物の転写制御下にある遺伝子群 (友常大八郎)
- 第455回 3月 2日 ゲノム・インプリンティング: 何がどこまで刷り込まれているか? (小出 剛)
- 第456回 3月15日 標的遺伝子置換法を用いたマウス p53 遺伝子の研究 (榎藤洋一)
- 第457回 4月 3日 神経系でみられる細胞移動と細胞接着分子 (小野勝彦)
- 第458回 3月27日 刺胞特異的ミニコラーゲン遺伝子の構造と造礁サンゴの系統関係研究への応用 (王 文樵)
- 第459回 4月 5日 実験科学の体験から指向する生体分子情報データベース構築 (山崎由紀子)
- 第460回 5月 1日 好熱菌 F1-ATPase の X 線結晶解析 (白木原康雄)
- 第461回 4月26日 データベースにもとづく蛋白質の立体構造予測 (西川 建)
- 第462回 5月19日 NMR による転写制御因子の構造と核酸との相互作用の研究 (京極好正)
- 第463回 5月24日 NMR による蛋白構造解析: SH2 ドメインと Trp リプレッサー (山崎俊夫)
- 第464回 6月 1日 *In vivo* foot print 法を用いた酵母クロマチンの詳細な構造解析とその機能 (田中茂生)
- 第465回 6月 8日 長鎖 DNA の折り畳みのダイナミクス (吉川研一)
- 第466回 6月12日 F- プラスミド SopB 蛋白質の分子的解剖: プロテインフットプリンティングとトランケーションを用いて (花井 亮)
- 第467回 6月22日 ショウジョウバエをモデルとした基底膜タンパク質ラミニンの発生, 分化における役割 (高木康光)
- 第468回 6月27日 インフルエンザウイルスの生態学—宿主域, 病原性, 起源と存続のメカニズムの解明ならびに予防法の確立を目指して— (喜田 宏)

- 第469回 6月28日 遺伝子トラップ法によって得られたマウス変異体 jumonji と胚発生 (竹内 隆)
- 第470回 6月30日 最尤法による系統樹作成とその並列処理による高速化 (松田秀雄)
- 第471回 7月12日 サイトカイン受容体コモン γ 鎖の機能と不全 (中村正孝)
- 第472回 8月 7日 データベースから生命情報へ (菅原秀明)
- 第473回 8月15日 ウイルス粒子の溶液状態の構造: 紫外共鳴ラマン法による研究 (紙中庄司)
- 第474回 9月 6日 酵母ファルネシル転移酵素の基質認識に関与すると思われるアミノ酸残基 (光澤 浩)
- 第475回 10月 4日 蛋白質の構造から見た進化とトランス (森山英明)
- 第476回 10月18日 プロトカドヘリンの構造と生理機能 (鈴木信太郎)
- 第477回 10月25日 RNA 結合ドメインを持つ蛋白質の進化 (小林 薫)
- 第478回 11月10日 HIV と HTLV の分子系統解析 (三浦智行)
- 第479回 11月20日 SWI タンパクと TFIID の相互作用 (太田 力)
- 第480回 12月18日 再構成クロマチンをもちいた Heat Shock Factor (HSF) の転写活性化機構の解析 (水口 学)
- 第481回 12月26日 イネの染色体とゲノム研究モデル生物としての分裂酵母からのアプローチ (野々村賢一)

H. 栄 誉

生命情報研究センター教授五條堀 孝は、「病原性ウィルスの起源と進化に関する研究」により、平成7年4月25日、木原記念財団学術賞を受賞した。

集団遺伝研究系助教授齋藤成也は、「系統樹作成法の開発を中心とする分子進化学の研究」により、平成7年10月13日、日本遺伝学会奨励賞を受賞した。

遺伝情報研究センター助教授嶋本伸雄は、「DNAの伸展固定のための静電的方法とその応用」により、平成7年10月10日、1995 SOCIETY PRIZE PAPER AWARDS First Prize を受賞した。

I. 図書及び出版

図書委員長 (1995年度)	池 村 淑 道
図書委員 (1995年度)	城 石 俊 彦・藤 田 信 之・東 谷 篤 志 服 田 昌 之・上 田 均・出 原 賢 治 平 野 博 之

1) 蔵書数

和書	3,236冊	製本雑誌を含む
洋書	16,277冊	〃
計	19,513冊	

2) 1995年図書増加冊数

和書	100冊	製本雑誌を含む
洋書	250冊	〃
計	350冊	

3) 雑誌

	購入	寄増	計	備考
和文	17種	1種	18種	
欧文	150種	2種	152種	国内欧文誌含む
計	167種	3種	170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45号	222	700部	国内研究機関, 大学, 試験場ほか
Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. No. 45	150	900部	内外研究機関, 大学, 試験場ほか

5) 1995年購入外国雑誌リスト

1. Agriculture, Ecosystems and Environmente
2. Agronomy Journal
3. American Journal of Botany
4. American Journal of Human Genetics
5. American Naturalist
6. Analytical Biochemistry
7. Animal Behaviour
8. Annales de Genetique
9. Annals of Human Genetics
10. Behavior Genetics
11. Bio Essay
12. Bio/Technology

13. Biochemical Genetics
14. Biochemical and Biophysical Res. Communication
15. Biochemistry
16. BBA: Gene Structure and Expression
17. Biometrika
18. Botanical Review
19. British J. of Radiology
20. Canadian J. of Botany
21. Cancer Genetics & Cytogenetics
22. Cancer Research
23. Caryologia
24. Cell
25. Chromosoma
26. Chromosome Research
27. Clinical Genetics
28. Crop Science
29. Current Advances in Cell & Development Biology
30. Current Biology
31. Current Contents: Life Sciences
32. Current Genetics
33. Current Opinion Immunology
34. Current Opinion in Cell Biology
35. Current Opinion in Genetics & Development
36. Current Opinion in Neurobiology
37. Current Opinion in Structural Biology
38. Cytogenetics & Cell Genetics
39. DNA sequences
40. Development
41. Developmental Biology
42. Developmental Genetics
43. Differentiation
44. EMBO Journal
45. Ecology
46. Environmental & Experimental Botany
47. Environmental & Molecular Mutagenesis
48. Euphytica
49. European J. of Biochemistry

50. European J. of Immunogenetics
51. Evolution
52. Evolutionary Ecology
53. Experientia
54. Experimental Cell Research
55. FEBS Letters
56. Gene
57. Genes & Development
58. Genetic Analysis: Techniques and Applications
59. Genetic Counseling
60. Genetic resources and crop evolution
61. Genetica
62. Genetical Research
63. Genetics
64. Genome
65. Genomics
66. Hereditas
67. Heredity
68. Human Heredity
69. Human Molecular Genetics
70. Human Genetics
71. Immunogenetics
72. Immunological Reviews
73. Indian journal of Genetics & Plant Breeding
74. International Journal of Radiation Biology
75. Journal of Applied Ecology
76. Journal of Bacteriology
77. Journal of Biological Chemistry
78. Journal of Cell Biology
79. Journal of Cell Science
80. Journal of Cellular Physiology
81. Journal of Ecology
82. Journal of Evolutionary Biology
83. Journal of Experimental Medicine
84. Journal of Experimental Zoology
85. Journal of General Microbiology
86. Journal of General Virology

87. Journal of Genetics
88. Journal of Immunology
89. Journal of Medical Genetics
90. Journal of Molecular Biology
91. Journal of Molecular Evolution
92. Journal of Virology
93. Journal of heredity
94. Korean Journal of Genetics
95. Lancet
96. Macromolecular Structures
97. Mammalian Genome
98. Mechanisms of Developmnt
99. Methods
100. Microbiological Reviews
101. Molecular & General Genetics
102. Molecular Biology and Evolution
103. Molecular Ecology
104. Molecular Microbiology
105. Molecular and Cellular Biology
106. Mutation Research
107. Nature
108. Nature Genetics
109. Neuron
110. New England Journal of Medicine
111. Nucleic Acids Research
112. Oncogene
113. Plant Breeding
114. Plant Breeding Abstracts
115. Plant Cell
116. Plant Journal
117. Plant Molecular Biology
118. Plant Physiology
119. Plant Science
120. Plasmid
121. Proc. Nat. Acad. Sci of U.S.A.
122. Quarterly Review of Biology
123. Quarterly Reviews of Biophysics

124. Radiation Research
125. Research in Microbiology + Res. in Virology
126. Revista Brasileira de Genetica
127. Rice Abstract
128. Roux's Archives of Development Biology
129. Science
130. Scientific American
131. Sexual Plant Reproduction
132. Somatic Cell & Molecular Genetics
133. Theoretical & Applied Genetics
134. Theoretical Population Biology
135. Trends in Biochemical Sciences
136. Trends in Cell Biology
137. Trends in Ecology & Evolution
138. Trends in Genetics
139. Trends in MicroBIOLOGY
140. Trends in Neurosciences
141. Virology
142. Virus Research

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, 重藤学二, 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

X. 総合研究大学院大学生命科学研究科 遺伝学専攻の概要

A. 目的

総合研究大学院大学は、大学共同利用機関との緊密な連係及び協力の下に、その優れた研究機能を活用して、高度の、かつ国際的にも開かれた大学院の教育研究を行い、新しい学問分野を開拓するとともに、それぞれの専門分野において学術研究の新しい流れに先導的に対応できる幅広い視野を持つ、創造性豊かな研究者を養成することを目的とします。

遺伝学専攻は、遺伝学を基礎とする生命科学の研究と教育を通じて大学の活動の一端を担うものです。

B. 教育研究の概要

遺伝学は、生命現象を遺伝子との関連のもとに解明する学問です。この学問は、従来から生物学の一分野にとどまらず、理学・農学・医学・薬学等の隣接分野とも深い関わりをもってきましたが、近年の分子レベルにおける遺伝学の目覚ましい発展に伴って、今日では広く生命科学の中核として重要な役割を担うようになりました。

本専攻は、母体となる国立遺伝学研究所で進められている分子・細胞・個体・集団の各研究分野およびこれらを基盤とする応用的研究分野において、遺伝学の最先端を学習させるとともに、高度でかつ独創性のある研究題目について、数多くの実験生物系統と、よく整備された DNA データベース並びに放射線・アイソトープ装置等をも活用して教育研究を行っています。

C. 教育研究の特色

遺伝学は独創的・先端的で高度かつ学際的学問であることの特異性から5大講座に設置する特色ある各授業科目をすべて選択性としています。また、各大講座には演習を設け、積極的な受講を促すとともに研究指導の指針としています。

さらに、母体となる国立遺伝学研究所において実施される定期的な研究活動（内部交流セミナー、Biological Symposia 等）の参加を義務づけるとともに、国立遺伝学研究所に既存する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及び実験圃場を持つ機能、施設・設備等を十分に活用できるようになっています。

D. 大講座・教員研究指導分野の内容

大 講 座	指 導 分 野	分 野 の 内 容
分子遺伝学	分子構造学	遺伝物質の分子構造原理を化学的物学的に教育研究する。
	分子機能学	遺伝物質の機能とその制御を分子水準で教育研究する。
	分子形成学	遺伝物質の形成原理と形成機構を分子の水準で教育研究する。

大 講 座	指 導 分 野	分 野 の 内 容
細胞遺伝学	細胞遺伝学	真核生物の遺伝的組換え機構、細胞増殖機構、遺伝子及び染色体を指標とした種分化の機構、細胞質遺伝因子の構造等を教育研究する。
	哺乳類遺伝学	哺乳動物に特有な遺伝機構を教育研究する。
	微生物遺伝学	原核生物の細胞分裂機構、染色体複製機構、細胞質遺伝因子の遺伝機構等を教育研究する。
個体遺伝学	発生遺伝学	動物の形態形成機構及びその基盤をなす細胞分裂・分化の機構を教育研究する。
	形質遺伝学	個体発生過程の遺伝的形質の発現機構及び遺伝と環境との相互関係について教育研究する。
	行動遺伝学	動物の行動を制御する遺伝機構を教育研究する。
集団遺伝学	集団遺伝学	集団の遺伝的機成変化の法則に関して教育研究する。
	進化遺伝学	生物進化の遺伝的機構を表現型と分子の両レベルで教育研究する。
	分子進化学	DNA や蛋白質の構造を理論的かつ実験的に解析し、遺伝子進化の過程と仕組みを教育研究する。
応用遺伝学	人類遺伝学	代謝異常や腫瘍の発生にかかわる遺伝要因を DNA 及び蛋白質分子レベルの変異として実験的に解析し、ヒト・生命現象の分子遺伝学的特性と個体差に関して教育研究する。
	植物遺伝学	有用植物の進化・適応・形質発現に関する遺伝学的研究及び遺伝資源生物の収集・保存の理論と技術に関して教育研究する。

E. 入学定員及び入学人数

年 度	平成 元年度	平成 2年度	平成 3年度	平成 4年度	平成 5年度	平成 6年度	平成 7年度
入学定員	6 人	6 人	6 人	6 人	6 人	6 人	6 人
入学人数	9 (1) 人	5 (4) 人	8 (3) 人	11 (2) 人	13 (1) 人	10 (1) 人	9 (2) 人

() は女子で内数

F. 修了要件及び学位の種類

1. 修了要件

3年以上在学し、本専攻で定めた授業科目について、10単位以上修得し、かつ、必要な研究指導を受けた上、博士論文の審査及び試験に合格することとする。

ただし、在学期間に関しては、特に優れた研究業績を挙げた者については、短縮することがある。

2. 学 位

博士（理学）、学位論文の内容によっては博士（学術）が授与される。

G. 学位授与状況

授与年度	平成 3年度	平成 4年度	平成 5年度	平成 6年度
課程博士 (理学)	6 ^人	4 ^人	9 ^人	7 ^人
論文博士 (理学)	0 ^人	0 ^人	1 ^人	0 ^人

H. 正規生

入学時期	氏 名	所属講座	所内所属研究部門等
4年4月	村手源英	個 体	個 体 遺 伝 研 究 系 門 発 生 遺 伝 研 究 部 門
	山口由美	集 団	生 命 情 報 研 究 セ ン タ ー 室 遺 伝 情 報 分 析 研 究 室
4年10月	小林正友	個 体	個 体 遺 伝 研 究 系 門 形 質 遺 伝 研 究 部 門
5年4月	遠藤俊徳	集 団	生 命 情 報 研 究 セ ン タ ー 室 遺 伝 情 報 分 析 研 究 室
	大久保 悌	個 体	生 物 保 存 研 究 セ ン タ ー 室 発 生 工 学 研 究 室
	逢坂文男	分 子	分 子 遺 伝 研 究 系 門 分 子 遺 伝 研 究 部 門
	影山裕二	個 体	個 体 遺 伝 研 究 系 門 形 質 遺 伝 研 究 部 門
	鎌田勝彦	分 子	遺 伝 情 報 研 究 セ ン タ ー 室 構 造 研 究 室
	草野秀一	分 子	分 子 遺 伝 研 究 系 門 分 子 遺 伝 研 究 部 門
	鈴木教郎	個 体	遺 伝 情 報 研 究 セ ン タ ー 室 組 換 研 究 室
	田原浩昭	細 胞	遺 伝 情 報 研 究 セ ン タ ー 室 遺 伝 子 ライブラリー研究室
	根岸智史	分 子	分 子 遺 伝 研 究 系 門 分 子 遺 伝 研 究 部 門
	榭屋啓志	細 胞	細 胞 遺 伝 研 究 系 門 細 胞 遺 伝 研 究 部 門

入学時期	氏名	所属講座	所内所属研究部門等
5年4月	満木 広宣	細胞	遺伝情報研究センター 遺伝子ライブラリー研究室
6年4月	浅野 敏	細胞	細胞遺伝研究系門 微生物遺伝研究部
	鷓飼 英樹	細胞	生物保存研究センター 微生物保存研究室
	大浪 修一	細胞	遺伝情報研究センター 遺伝子ライブラリー研究室
	岡田 聖裕	個体	個体遺伝研究系門 研究部
	中村 保一	集団	集団遺伝研究系門 進化遺伝研究部
	藤原 学	個体	遺伝情報研究センター 組換え研究部
	村上 勝彦	分子	分子遺伝研究系門 分子遺伝研究部
6年10月	高岸 雅	分子	遺伝情報研究センター 構造研究部
6年10月	竹丸 憲一	個体	個体遺伝研究系門 形質遺伝研究部
7年4月	石島 淳子	細胞	細胞遺伝研究系門 細胞遺伝研究部
	武内 昌哉	個体	遺伝情報研究センター 組換え研究部
	亦勝 実穂	個体	生物保存研究センター 無脊椎動物研究部
	田村 勝	個体	生物保存研究センター 発生工学研究部
	濱田 玲	集団	集団遺伝研究系門 進化遺伝研究部
	安井 潔	分子	分子遺伝研究系門 分子遺伝研究部
	山形 哲司	集団	集団遺伝研究系門 進化遺伝研究部
7年10月	太田 聡史	集団	集団遺伝研究系門 進化遺伝研究部

入学時期	氏名	所属講座	所内所属研究部門等
7年10月	刘庆信	个体	个体遗传研究系 形質遗传研究部門

I. 研究生

氏名	受入研究部門	受入期間
寺社下美樹	分子遗传研究部門	7. 4. 1~8. 3.31

国立遺伝学研究所年報 第46号

平成8年3月25日 印刷

平成8年3月29日 発行

発行者 富 澤 純 一

国立 遺 伝 学 研 究 所 内

編集者 森島啓子・斎藤成也

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

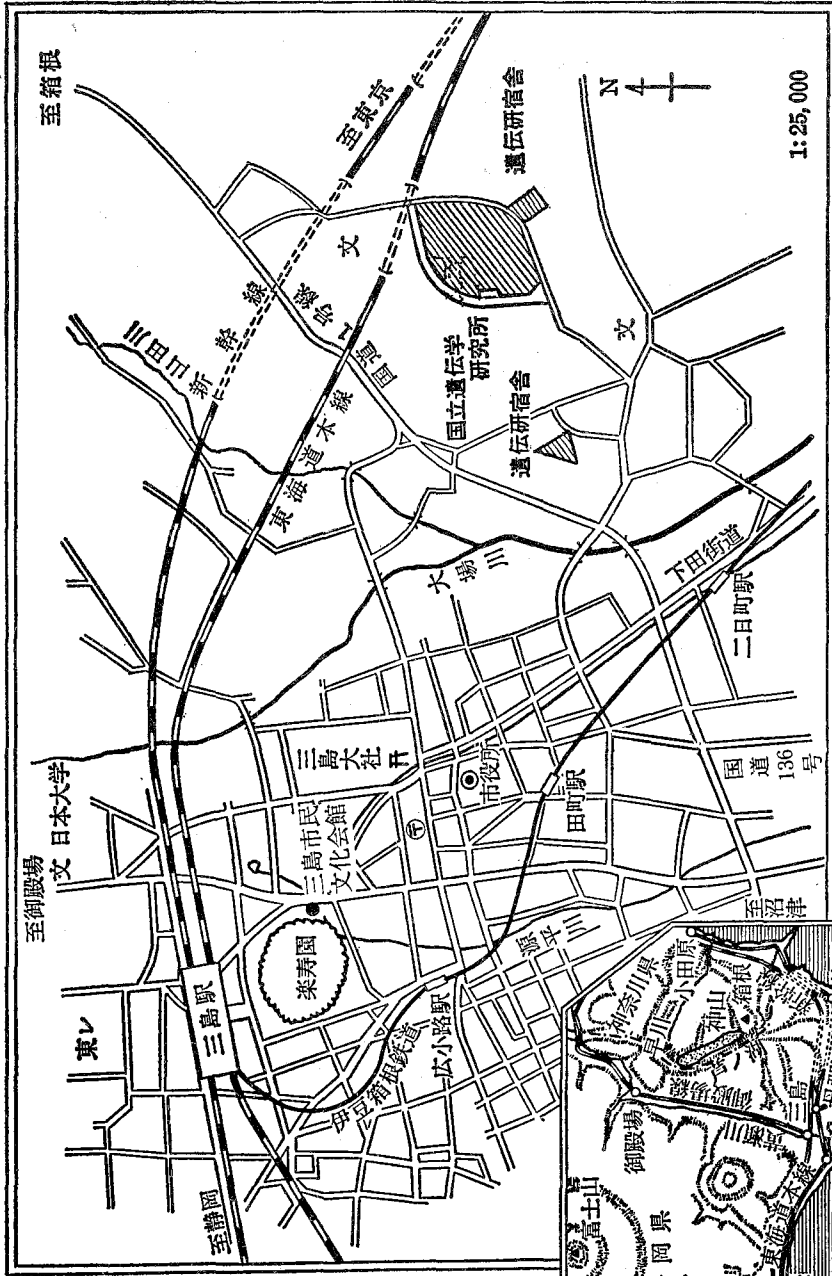
印刷所 株式
会社 国際文献印刷社

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 0559 (81) 6718



国立民俗学研究所位置図

