

国立遺伝学研究所年報

第 47 号

(平成 8 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 の 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	21
	A-c. 核酸化学研究部門	25
	B. 細胞遺伝研究系	28
	B-a. 細胞遺伝研究部門	28
	B-b. 微生物遺伝研究部門	32
	B-c. 細胞質遺伝研究部門	39
	C. 個体遺伝研究系	43
	C-a. 発生遺伝研究部門	43
	C-b. 形質遺伝研究部門	48
	C-c. 生理遺伝研究部門	60
	D. 集団遺伝研究系	68
	D-a. 集団遺伝研究部門	68
	D-b. 進化遺伝研究部門	72
	D-c. 理論遺伝研究部門	84
	E. 総合遺伝研究系	92
	E-a. 人類遺伝研究部門	92
	E-b. 育種遺伝研究部門	103
	E-c. 応用遺伝研究部門	109
	F. 遺伝実験生物保存研究センター	112
	F-a. 哺乳動物保存研究室	112
	F-b. 無脊椎動物保存研究室	125
	F-c. 植物保存研究室	130
	F-d. 微生物保存研究室	134
	F-e. 遺伝資源研究室	137
	F-f. 発生工学研究室	138
	G. 構造遺伝学研究センター	141
	G-a. 超分子機能研究室	141
	G-b. 構造制御研究室	144
	G-c. 超分子構造研究室	148
	G-d. 遺伝子回路研究室	151
	H. 生命情報研究センター	156
	H-a. 遺伝情報分析研究室	156
	H-b. 大量遺伝情報研究室	167
	H-c. 遺伝子機能研究室	170
	H-d. 分子分類研究室	172
	I. 放射線・アイソトープセンター	177
	J. 実験 圃 場	179
IV.	海外における活動	180
V.	ほかの機関における講義	184
VI.	共同研究事業	185
VII.	研究材料・研究情報の収集と保存	191
VIII.	行 事	217
IX.	庶 務	219
	A. 沿 革	219
	B. 組織（機構と職員）	220
	C. 土地及び建物	243
	D. 予 算	244
	E. 奨学寄附金・受託研究費	245
	F. 日 誌	248
	G. 日 誌	250
	H. 栄 誉	254
	I. 図書及び出版	254
付	財団法人遺伝学普及会	259
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	261

国立遺伝学研究所年報

第47号 平成8年



電子計算機棟

国立遺伝学研究所

1997年発行

I. 巻 頭 言

私は1989年10月に所長に赴任し、本年9月に退任する。国立予防衛生研究所から大阪大学理学部に転任した1968年からの2年間、大学は紛争に明け暮れ、研究を通じての教育を意図していた私にとって満足できる状態ではなかった。また、明るい将来を見通すこともできなかったので、大学の状態がほぼ正常化するのを待って、1971年に米国NIHに転任し、再び研究中心の生活に戻った。

私が所長として赴任する意思の有無を打診されたのは1988年のことである。予想外のことであったが、当時行っていた研究が完成に近づき1年後に節目を迎えることを予測し、なんらかの形で転向の必要を感じていたので、お招きを承諾した。NIHでの研究生活には特に不満をもってはいなかったので、お招きが1年前か後であったら、承諾することはなかったと思うと、不思議な縁を感じる。

赴任した時点で私は遺伝研の事情をほとんど知らなかった。しかし、当時の日米の経済事情から考えて、いつかは日本での研究も米国での研究と肩を並べられる日が来ることを期待し、最先端の研究を推進して、世界の研究をリードする研究所を作るために、私の経験もあるいは役立つかもしれないと考えて就任を承諾した。赴任以来、研究所の目標と、研究所運営上の基本的な考え方を変えることなく、今日に至り、研究所も、不十分ながら、有意な成長をとげつつあることに満足を感じるとともに、これもひとえに研究所内外の皆様のご理解とご協力によるものと深謝している。

さて、研究所の実際の運営は、理想的な研究所を作るための運営と、現実的に有効な運営との妥協の上に成り立ったものであった。事業をもつ研究センターの充実を優先しつつ研究の活性化をはかったこれまでの方策は、内外の事情から研究所発展の過程として止むをえない方策であったと思う。しかし、その方策は、直接最先端の研究を推進する部門を増強するという方策とは、人員や予算の措置のうえで競合するものであった。今ようやく、研究所は最先端の研究を推進することを現実的な優先目標とすることのできる状況に近づいたと考える。

しかし、研究所の一層の発展のためには、多くの問題が未解決である。これまでの現実的な対応の中で、ややもすると取り残された課題である研究組織の再編成や教官の身分保証等の問題の解決に研究所が主体的に取り組むことが求められる時代になった。これに関連して、本年度の事業として、とくに重要なものは、業績報告ならびに評価書の作成である。その目的は1999年に始まる、第3

次長期計画の作成に資するため、この資料を参考として、研究および事業の推進についての具体的な提案が将来計画委員会で検討されている。

昨年に引き続き、今年も重要な組織の変更があった。昨年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、今年度は、遺伝情報研究センターを改称して超分子機能、超分子構造、構造制御、生体高分子、遺伝子回路の5部門からなる構造遺伝学研究センターが設置され、生体高分子の構造に基づく生物学研究のための組織の基礎が築かれるに至った。また、永く建設が望まれていた遺伝実験生物保存研究センター棟の建設が始まった。

本年度も頻繁な人事の移動があった。3月末には2年にわたり副所長をお願いした瀬野惇教授が退官された。在任中のご協力に深謝するとともに、後任を森島啓子教授をお願いした。また永年研究の推進に大きな業績を残された個体遺伝研究系杉山 勉教授が退官された。

遺伝情報研究センターの設置にともない、嶋本伸雄（超分子機能研究室）および小原雄治（遺伝子回路研究室）が教授に昇任し、菅原秀明（生命情報研究センター分子分類研究室）および廣海 健（発生遺伝研究部門）が教授として採用された。また、倉田のり（植物保存研究室）が助教授に就任し、光澤 浩及び木村誠（分子遺伝研究部門）、太田 力（細胞遺伝研究部門）、才 宏偉（育種遺伝研究部門）、野々村賢一（植物保存研究室）、秋葉俊彦（超分子構造研究室）、太田元規（大量遺伝情報研究室）、小林（深海）薫（遺伝子機能研究室）、宮崎 智（分子分類研究室）が助手として採用された。一方、平野博之（育種遺伝研究部門）は東京大学大学院農学生命科学研究科助教授として転出した。また、管理部長の河野憲司が京都大学へ転任し、黒田英雄が就任した。

総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻を担当し、後期学生27名の教育指導を行っており、あらたに10名が入学し、8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名の博士研究員の研究指導を行い成果をあげている。

本年度の特筆すべき行事としてDBBJ創立10周年の記念式典がある。生命情報研究センターが設置され、スーパーコンピュータ棟も完成して、この事業もようやく広範な期待に応えることのできる状態になったことを喜ぶとともに、内外のご支援に深謝するものである。これと前後して、DNA データーベースの国際諮問委員会が無事終了し、有効な提案がなされ、また「情報の流れとしての生命」についての国際シンポジウムが、当研究所の研究成果を反映した形で成功裡に開催された。

II. 研究 室 一 覧

(平成 8 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 澤 信 之 光 澤 浩 誠 木 村 努 岸 野 浩 明
	変異遺伝研究部門		山 尾 文 明	
	核酸化学客員研究部門	水 本 清 久(非) 森 川 耿 右(非)		
細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 堀 内 賢 介	細胞遺伝研究部門	小 川 智 子	今 井 弘 民	田 中 茂 生 力 太 田 藤 英 夫(休)
	微生物遺伝研究部門	堀 内 賢 介	安 田 成 一	原 東 弘 志 谷 篤 志
	細胞質遺伝客員研究部門	山 村 研 一	平 岡 泰(非)	
個体遺伝研究系 研究主幹(併) 廣 瀬 進	発生遺伝研究部門	廣 海 健	藤 澤 敏 孝	清 水 昌 裕 之 服 田 正 清 明 均
	形質遺伝研究部門	廣 瀬 進	村 上 昭 雄	湊 山 田 正 清 明 均
	生理遺伝客員研究部門	半 田 宏	奥 村 克 純	
集団遺伝研究系 研究主幹(併) 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 松 本 健 一 天 前 豊 明
	進化遺伝研究部門	池 村 淑 道	齊 藤 成 也	
	理論遺伝客員研究部門	高 深 尚 之 孝 畑 田 吉		
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	藤 山 秋 佐 夫 寶 来 聰	出 原 賢 治
	育種遺伝研究部門	沖 野 啓 子 (森島)		才 宏 偉
	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	遺伝実験生物 保存研究センター センター長(併) 中 辻 憲 夫	研 究 室	哺乳動物保存		城石俊彦	小出 剛
			無脊椎動物保存		林 茂生	後藤 聡
			植物保存		倉田のり	伊藤幸博
			微生物保存		西村昭子	金丸研吾(休)
			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
究	構造遺伝学研究センター センター長(併) 桂 勲	研 究 室	生体高分子			
			超分子機能	嶋本伸雄		永井宏樹
			構造制御	桂 勲		石原 健
			超分子構造		白木原康雄	秋葉俊彦
			遺伝子回路	小原雄治		安達佳樹
施	生命情報研究センター センター長(併) 五 條 堀 孝	研 究 室	遺伝情報分析	五條堀 孝		池尾一穂規
			大量遺伝情報	西川 建		太田元規
			遺伝子機能	舘野義男		小林 薫 (深海)
			分子分類	菅原秀明		宮崎 智
	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				野々村賢一	

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、昨年二名の助手が転出したのに伴い、本年2月光澤 浩がカリフォルニア大学から、4月には木村 誠がロックフェラー大学から、新任助手として着任した。教授・石浜 明、助手・藤田信之を含めて、再びスタッフ4名の体制が整備され、「原核生物における転写制御機構」、「真核生物の転写装置の分子解剖」及び「動植物ウイルスの転写複製装置の機能制御」の3本柱の研究を継続した。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・細胞物理学研究所; COE 外国人研究員; 遺伝研客員教授), Kundu, T. K. (インド科学研究所; COE 外国人研究員), Chatterji, D. (インド細胞分子生物学センター; 日印科学協力事業共同研究), Gowrishankar, J. (インド細胞分子生物学センター; 日印科学協力事業共同研究), Hayward, R. S. (連合王国スコットランド・エジンバラ大学; 文部省日英交換教授; 総合研究大学院大学客員教授), Glass, R. E. (連合王国イングランド・ノッティンガム大学; 国際学術日英共同研究), Hahn, M.-Y. (ソウル大学; 日韓科学協力事業共同研究), Hwang, S. (メルボルン大学; 日豪科学協力事業共同研究) 及び新エネルギー産業技術研究機構からの派遣研究員・本田文江, 文部省流動研究員・太田千佳子 (帯広畜産大学), 受託研究派遣研究員・浅野幸康 (三和化学総合研究所), また総合研究大学院大学学生・草野秀一, 根岸智史, 村上勝彦, 安井 潔, 石黒亮, 特別学生・宮尾武孝 (京都大学大学院薬学研究科), 渡辺貴斗 (東京大学大学院農学研究科), 研究生・寺社下美樹, 野村 扶, 三戸部治郎, 山口徹也が参加し, 研究補助員・櫻井仁美, 鈴木久子, 遠藤静子, 高橋美津恵及び事務秘書・原 雅子が協力した。加えて, 国内外の共同研究グループからの, 短期の客員研究員が常時滞在する状況となり, 研究室は, 常時20名を越える研究者の集団となっている。

これらの研究には, 遺伝研校費, 総研大校費に加えて, 次の研究費からの支援を得た。平成8年度文部省科学研究費補助金・重点領域研究「情報認識蛋白質」(藤田), 「生体金属」(石浜), 基盤研究(B)「RNAポリメラーゼの分子解剖」(石浜), 基盤研究(C)「RNAポリメラーゼのサブユニットのドメイン間相互作用」(藤田), 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」(藤田), 遺伝研特定研究「遺伝学への生物物理学的方法の導入」(藤田), 遺伝研特定研究「遺伝子高次機能の多面的総合研究」(光澤), 遺伝研特定研究「遺伝子進化化学の基礎的研究」(木村), 総研大共同研究「極限環境下の生命-適応の分子機構」(石浜)。さらに, 新エネルギー産業技術開発機構のプロジェクト研究「新原理に基づく遺伝情報発現制御技術の開発研究」(石浜)及び科学技術振興事業団戦

略的基礎研究によるプロジェクト研究「遺伝子発現ヒエラルキー決定機構の解明」(石浜)から支援を得て、一回り大きな組織となった研究室の財政的基盤がようやく維持できた。

遺伝研共同研究として、平成8年度下記の提案を受入れ実施した。「定常期における大腸菌の加齢現象の研究」(大阪医科大学・和田 明),「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} の研究」(東京大学・田中 寛),「OxyR 蛋白による酸化ストレス感知とシグナル伝達の分子機構」(東京大学・埜 和之),「Q β フェージ RNA レプリカーゼ宿主因子の RNA 複製における機能解析」(帝京大学・梶谷正行),「放線菌 RNA ポリメラーゼの構造及び機能の解析」(広島大学・新川英典),「インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの機能部位の決定」(久留米大学・豊田哲也)。また、同制度の研究集会として、「フェージ・細菌における遺伝子の発現制御の新視点」(京都大学・井口八郎)。

石浜は、「アジア転写会議」国際組織委員会委員長として、第4回会議を準備した。遺伝研の転写研究者を中心に国内組織委員会が組織され、本年3月30日-4月3日、神奈川県葉山町の総合研究大学院大学およびロフォス湘南を会場および宿舎として開催された。今回から、オーストラリアが加わり、研究発表のレベルは、一段と上昇した。韓国、インド、オーストラリア、台湾を中心に、海外からの参加者70名、国内からの参加者80名と、盛会であった。なお、第5回会議を、1998年オーストラリアで開催することを決定した。石浜はまた、日本ウイルス学会会長として、第44回総会を、10月23-25日に、静岡市民文化会館を会場に開催した。会員約1300名が参加し、研究発表430題といずれも過去最高であった。ウイルス学会では、従来ウイルス分科別の会場で、研究交流が行なわれていたが、今回は、ウイルス分科にまたがって共通する課題について、横断的に討論することを旨とした、新企画が採択され、好評であった。なお、ウイルス学会直前の2日間、10月21-22日に、第一回静岡フォーラムに協力し、「ウイルスの感染と防御」に関する、県民講演会、パネルディスカッション、国際シンポジウムの開催を指揮した。ウイルス学の国際的な指導的研究者を多数招待し、ウイルス学の新知見を普及するとともに、わが国のウイルス研究者との研究交流などに多大の寄与をした。

1. 大腸菌転写装置の機能変換による転写制御

(1) RNA ポリメラーゼ α サブユニットの分子解剖：転写因子との接触の実証：Ozoline, O., 村上勝彦, 根岸智史, 石浜 明

大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニットの C 末端ドメインは、クラス1 転写因子群およびプロモーター上流域 DNA にある転写促進シグナル (UP エレメントまたは原核細胞エンハンサー) と相互作用する、転写制御機能領域である。これまでに、変異体を用いた各種転写制御蛋白及び DNA 因子との相互作用接点部位のマッピングと、このドメインの構造解析を行い、機能構造相関の全体像を明らかにしてきた。しかし、分子間相互作用の直接証明が欠けていた。この問題の解明のためには、 α サブユニット C 端の機能域にだけ、分子間相互作用を観測できるプローブを導入する方法技術の開発が必要であった。そのために、 α サブユニットの C 端の特定位置にだけ Cys 残基をもつ変異体を作製し、そこに蛍

光プローブを導入することに成功した。野生型 α サブユニットには、N端サブユニット集合ドメインの3個、C端転写因子相互作用ドメインに1個のCysがあるが、N端の3個は、アラニンに置換しても活性に影響なかったので、全て置換し、C端269位のCysだけを残した。269位は、転写因子相互作用部位をもつヘリックスIの上であり、分子間相互作用観測用のプローブを導入するには、格好の位置であった。

蛍光プローブ標識法を用いた研究からは、大腸菌遺伝子のなかでUPエレメントをもつDNAと混合した時にだけ、蛍光発光の変化を観測し、特異的な分子間直接接触が実証できた。

(2) RNAポリメラーゼ α サブユニットの分子解剖： α サブユニット2分子間の機能の差異の解析：村上勝彦, Owens, J. T.¹., Meares, C. F.¹., Busby, S.²., 石浜 明 (¹Univ. Calif., Davis, USA; ²Univ. Birmingham, UK)

RNAポリメラーゼ α サブユニットの機能構造相関研究で、残された問題のひとつは、RNAポリメラーゼに存在する2分子の α サブユニットそれぞれの分担機能の同定である。この問題の解明のためには、2分子の α サブユニットを識別する方法の開発が必要であった。そのために今回、先に当研究室で単離されたサブユニット集合不全 α サブユニット変異体コレクションのなかから、 β サブユニットには結合できないが β' サブユニットに結合できる変異体を利用した、 α サブユニット配置指定再構成法を開発した。その方法を用いて、2種類の変異 α サブユニットを特定位置に配置したRNAポリメラーゼを形成することが出来るようになった。

新しい再構成法で、 α サブユニットの特定のひとつの、C端269位のCys残基に、ラジカル発生プローブ Fe-BABE [*p*-bromoacetamidobenzyl]-EDTA-Fe]を導入することに成功した。この酵素を用いると、プローブから発生するラジカルによって、その周辺で接触する核酸や蛋白質の主鎖が切断されるので、切断点を分析することで、C端269位のCys残基に接触する相手分子とその分子上の接触位置が同定できる。試みに、大腸菌リボゾームRNA遺伝子(*rnnB*)プロモーターとの接触点の同定をしたところ、 β' サブユニットの結合している α サブユニットがUPの上流域と接触していることが判明した。同じFe-BABE結合酵素をもちいて、明確なUPエレメントはないが、cAMP受容蛋白質(CRP)で転写が促進されるプロモーターへの α サブユニットの接触を解析した。その結果、CRPが存在する時のみ、 β' サブユニットに結合している α サブユニットがDNA上流域に、 β サブユニット結合 α サブユニットが下流域の結合することが判明した。CRP結合サイトを2箇所導入し、しかもその位置をずらすと、2分子の α サブユニットのDNA結合位置もそれに連動して変動した。従って、 α サブユニット2分子は、独立に転写因子CRPと相互作用してDNAに結合し、しかも相当の距離の動きが許されるようである。 α サブユニットとCRPの直接接触は、変異体CRPを用いて実証された。

(3) RNAポリメラーゼ β サブユニットの分子解剖：サブユニット間接触部位の同定：野村 扶, 藤田信之, 石浜 明

大腸菌RNAポリメラーゼ β サブユニットは、RNA合成の活性中心部位をもつサブユ

ニットで、これまでは、主として、転写素課程の各機能に関与する部位のマッピングが行われてきた。RNAポリメラーゼ形成過程では、まず機能的には中心的役割を果たす β サブユニットが、 α サブユニット二量体に結合した後に、 β' サブユニットが集合して、コア酵素が形成される。 β サブユニットにはまた、 σ サブユニットの結合も示唆されている。 α サブユニット上の、サブユニット相互作用接点のマッピングに続き、今回我々は、 β サブユニット上の、他のサブユニットとの特異的接触に関与する部位を同定する分子解剖を試みた。この目的のために先ず、 β サブユニット(1342アミノ酸残基長)のプロテアーゼ切断地図を解析した。トリプシンを用いた実験の結果、最初は、ポリペプチド鎖中間部アミノ酸残基500-900の領域で切断が始まり、N端約500アミノ酸とC端近傍900-1200領域約300アミノ酸残基の抵抗性断片が得られた。一方、サブユニット集合中間体 $\alpha_2\beta$ につき同様の解析をすると、残基750前後の中間領域がトリプシン抵抗性となり、その部分に α サブユニットが結合することが示唆された。一方、トリプシン切断断片を単離し、 α サブユニットとの結合能を調べると、N端断片は、予想通り結合出来なかったが、C端断片は一樣に α サブユニット結合能を示した。従って、 α サブユニットは、 β サブユニット上の数個所で結合している可能性が示唆された。

(4) RNAポリメラーゼ σ^{70} サブユニットの分子解剖：分子内ドメイン間相互作用：藤田信之、Kumar, A¹., Hayward, R. S., 石浜 明 (¹現所属：Univ. Calif., San Diego)

RNAポリメラーゼの σ サブユニットは、RNAポリメラーゼによるプロモーターの認識と、転写開始点付近のDNA二重鎖の開裂に中心的な役割を果たすと考えられている。多くのバクテリアはプロモーター認識の特異性が異なる複数の σ を持つことが知られており、大腸菌でもこれまでに少なくとも7種類が同定されている。これらの多くの σ の間で配列がよく保存されている領域のうち領域2.4と領域4.2は、それぞれプロモーターの-10配列と-35配列の認識に直接関与することが明らかにされている。なかでもC-末端に位置する領域4.2は多くのDNA結合蛋白質に共通するhelix-turn-helix様の構造を持ち、実際に認識ヘリックスに相当する領域に起こった変異によってプロモーター特異性が変化することから、helix-trun-helix様のモチーフを使ってDNAを認識するものと考えられている。先に我々は、領域4.1と4.2を含むC-末端部分を欠失してlacUV5などの通常のプロモーターを認識できなくなった σ^{70} 変異体(σ^{70} -529)が、TGnTATAATという“extended-10”配列を持つプロモーターや、-35付近にアクチベーター蛋白質が結合するgalやpstSの系では十分な活性を持つことを示した。今回、欠失した部分に相当する85アミノ酸残基のペプチド(R4ペプチド)を調製し、 σ^{70} -529と共に*in vitro*転写系に添加したところ、 σ^{70} -529単独では認識できないlacUV5、Pconsなどのプロモーターを強く認識できることがわかった。R4ペプチド単独ではコア酵素に結合できないことから、 σ^{70} -529とR4との間のドメイン間相互作用が σ の機能に重要な役割を果たすことが示唆された。ドメイン間相互作用に関わると予想される領域4.1にいくつかのアミノ酸変異を導入したところ、両親媒性のヘリックスを形成すると考えられる一連の疎水性アミノ酸を親水性アミノ酸に置換することによって、 σ の機能が著しく損なわれることがわかった。一方、R4ペ

ブチドはそれ自身が独立した構造単位を形成していると考えられるため、構造解析のよい材料となりうる。現在 NMR による構造解析に向けた準備をすすめている。

(5) 大腸菌のサブユニット各分子種の生体内制御機構：寺社下美樹，石浜 明

RNA ポリメラーゼシグマサブユニットは、プロモーターの選択に関与し、大腸菌では、プロモーター認識能の違う、少なくとも 7 種類の分子種が同定されている。増殖相移行、環境適応の遺伝子転写パターンの大きな変動は、主に、シグマサブユニットの交換によって考えられている。この仮説を実証し、またシグマサブユニット交換機構を解明する目的で、大腸菌菌体内の、各種シグマサブユニットの濃度を測定した。対数増殖期発現遺伝子群の転写を担当する σ^{70} サブユニット、窒素代謝に関与する σ^{54} サブユニット、鞭毛形成遺伝子群担当 σ^{28} は、増殖相に関係なく、1:0.1:0.5 の分子比で一定であった。ところが、 σ^{38} サブユニットは、対数増殖期には殆ど存在しないが、増殖停止定常期には σ^{70} の約 30% の水準までに増加し、定常期特異的遺伝子群の転写にこの σ^{38} が関与している事実とよく一致した。 σ^{38} の濃度は、また高塩濃度処理、高熱処理でも増加が認められ、ストレス応答遺伝子群の転写にも関与していることが示唆された。今回の研究から、大腸菌菌体内の各シグマサブユニットの分子数が推定できるようになったが、それぞれの細胞内存在状態、転写機能サイクルへの利用動態については、何も分かっていない。そこで、各種シグマサブユニットの細胞内の存在状態の解析を開始した。

なお、この研究に用いた大腸菌 W3110 株には、シグマサブユニットの組成だけ見ても、わが国に、少なくとも 5 系統存在することが分かった。その差は、主として σ^{28} と σ^{38} の存否によるもので、中には、両方のシグマサブユニットが共に欠けている系統さえあった。この差は、恐らく、W3110 株が、1960 年代にわが国に導入されてから、相当期間寒天培地で保存されていた間に起こった変異の蓄積によるものと推定される。遺伝子転写の包括制御に関与する中心の要素である、RNA ポリメラーゼシグマサブユニットで同一菌株内でもこれ程の差があることは、遺伝子発現制御に関する、異なる研究室からの研究発表を無批判に統合し議論することの危険性を示唆している。

(6) 大腸菌のサブユニットの機能特異性の解析：定常期遺伝子群対応 σ^{38} および鞭毛遺伝子群対応 σ^{28} サブユニット：草野秀一，Kundu, T. K¹，石浜 明（現所属：Rockefeller Univ.）

ストレス応答遺伝子などの転写転写に対応する RNA ポリメラーゼが作動する大腸菌細胞内環境は、対数増殖期のそれと異なっているため、細胞内に存在する各種 σ サブユニットが、転写過程にどの程度に利用されているかは、細胞内環境の変動と密接に関係していると予想される。そこで、定常期遺伝子群対応 σ^{38} および鞭毛遺伝子群対応 σ^{28} サブユニットにつき、試験管内転写反応の条件を系統的に検討し、細胞増殖関連遺伝子対応 σ^{70} サブユニットには阻害的に作用するが、調べた 2 種類の σ サブユニットには促進的に作用する幾つかの要因を発見した。例えば、 σ^{38} サブユニットは、高濃度グルタミン酸カリウム、高濃度トレハロース、DNA 超らせん構造の緩和などで、むしろ活性化された。同様に、 σ^{28} サブユニットも、高濃度グルタミン酸カリウムで転写が促進された。これらの条件は、ある

種のストレスで、実際の変化が観測されている細胞内環境変化である。

2. 分裂酵母転写装置の分子の実体の解明

(1) 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決定: 櫻井仁美, 石浜 明

分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II の精製標品に含まれる 10 種類のサブユニットと推定される蛋白成分の cDNA と遺伝子を単離し, その DNA 塩基配列を決定することで, それらの推定サブユニットの実体を解明する研究を継続し, 本年度までに, 10 種類全ての cDNA と遺伝子を単離した。これまでに, 当研究室で 4 種類 (Rpb1, Rpb2, Rpb3 及び Rpb5), 他の研究室で 1 種類 (Rpb6) の遺伝子が得られ, 既に報告されていた。今回, 残されたサブユニットにつきアミノ酸部分配列を決定し, その知識を基に残りのサブユニット遺伝子と cDNA の単離に成功した。即ち, Rpb8 の遺伝子と cDNA は, アミノ酸配列の知識を利用して作製したプライマーを用いた PCR 法で得られた。Rpb7 と Rpb11 は, 分裂酵母のゲノムデータベース (Pombase) の中に決定したアミノ酸配列を発見したので, データベースの塩基配列もプライマー作製に利用し, PCR 法でクローニングした。Rpb10 と Rpb12 の遺伝子は, 最近 Shakovski らにより, DNA データベースに登録されたので, その情報を利用して, PCR 法で, 遺伝子と cDNA クローンを得た。Rpb7, Rpb8, Rpb10, Rpb11, Rpb12 は, それぞれ 172, 125, 71, 123, 63 アミノ酸残基からなり, いずれも, 出芽酵母の相同蛋白との間で, 高いホモロジーがあった。遺伝子は, *rpb7* と *rpb12* がひとつのイントロン, *rpb8*, *rpb10* と *rpb11* は, ふたつのイントロンをもっていた。

(2) RNA ポリメラーゼ II のサブユニット集合: サブユニット結合蛋白質ネットワークのファーウエスタン法による解析: 安井 潔 (サブユニット 3), 石黒 亮 (サブユニット 6, 10, 11, 12), 宮尾武孝 (サブユニット 5), 木村 誠, 石浜 明

分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II は, 10 種類のサブユニットから構成されていることが示唆されたが, その集合様式については, 殆ど分かっていない。単離サブユニットからの再構成系の確立は, 相当に困難であったので, 先ず, サブユニット間の接触相関図を作製することとした。その為に, 大腸菌のなかで大量発現して純化した, サブユニット 3 以下の低分子量サブユニットをプローブとして利用し, 精製 RNA ポリメラーゼ II に対してファーウエスタン解析を行い, サブユニット間の相互作用を同定した。なお, 各サブユニットをプローブとして利用するために, 大腸菌で発現する際, 末端にプロテインキナーゼ A によるリン酸化の標的ペプチドを付加し, ^{32}P で標識した。サブユニットプローブ毎に分担して解析した結果, Rpb3 から Rpb12 にいたる 8 種類のサブユニットプローブの全てが Rpb1 と, また Rpb7 と Rpb8 を除く残り 6 種類のサブユニットは, Rpb2 と反応した。ふたつの巨大サブユニットはいずれも多くのサブユニット集合のプラットフォームになっている可能性が示唆された。低分子量サブユニット間で, これまでに確認された相互作用は, Rpb3-Rpb5, Rpb3-Rpb11, Rpb5-Rpb8 または Rpb11 の組み合わせである。これらの結果から, RNA ポリメラーゼ II のサブユニット集合における, サブユニット間の接

触相関図が推定できるようになった。観察されたサブユニット間相互作用の特異性と強度を分析する目的で、大腸菌発現サブユニットを等分子数で混合した、サブユニット混合物を用いて、ファーウエスタン解析を実施している。また、各サブユニットの断片を発現し、同じ方法で、各サブユニット内部の分子間接触部位を同定する研究も行った。

(3) RNA ポリメラーゼ II のサブユニット集合：サブユニット結合蛋白質ネットワークの two-hybrid 法による解析 宮尾武孝 (サブユニット 5), 安井 潔 (サブユニット 3), 光澤 浩, 石浜 明

ファーウエスタン法で同定した、サブユニット間の接触部位が生体内でも機能しているかどうかを調べ、併せて、各サブユニットに結合する転写制御蛋白質を検出する目的で、出芽酵母の two-hybrid-system を利用した。これまでに、Rpb3 および Rpb5 と相互作用する蛋白を検索した。GAL4 の DNA 結合ドメインにサブユニットを融合し、GAL4 転写活性化ドメインに cDNA がコードする未知蛋白を融合させて、サブユニットに結合する蛋白をスクリーニングし、さらに逆の組み合わせで確認したものについて、蛋白の性状を調べた。サブユニット間相互作用について得られた結果は、ファーウエステンの結果と矛盾しなかった。Two-hybrid 法をもちいて、各サブユニット上の結合サイトの同定も試みた。例えば、Rpb5 は、Rpb1 の C 端領域との相互作用に加えて、RNA ポリメラーゼ I サブユニット 1 (Rpa1) の相同領域とも強い反応を示した。Rpa1 のクローンが多数得られたのは、RNA ポリメラーゼ I の発現量が多く、用いた cDNA 中に Rpa1-cDNA 成分が多く存在したためと推定される。サブユニット以外の蛋白質については、リボソーム蛋白質、DNA 修復装置成分、DNA 結合蛋白質、および既知の蛋白質モチーフをもつが全体としては機能未知の蛋白質が多数得られた。

(4) RNA ポリメラーゼ II のサブユニット集合：サブユニット結合蛋白質ネットワークの遺伝解析：光澤 浩, 三戸部治郎, 石浜 明

RNA ポリメラーゼ II を巡る蛋白質相互作用ネットワークを解明する目的で、遺伝学的解析を開始した。即ち、分裂酵母染色体上の各サブユニット遺伝子に変異をもち、増殖が高温感受性または低温感受性となった条件致死変異体を単離し、それを出発材料として抑圧変異を分離し、変異が生じた遺伝子を系統的に解析することにした。手始めに、rpb3 遺伝子を、変異の発生を期待して PCR 法で増幅し、それを ura4 遺伝子をもつベクターに挿入して大腸菌を形質転換し、得られた約 1×10^4 の形質転換体からプラスミドを回収したライブラリーを 7 個独立に作製した。翻訳開始点下流 +450bp の位置で切断した直鎖状 DNA を分裂酵母に導入し、組み換え体を単離したのち、その中から、高温感受性、低温感受性の変異体を分離した。現在までに、下流側に変異を含むと期待されるライブラリーから 1×10^5 個の形質転換体をスクリーニングし、10 個の高温感受性変異体、 1×10^4 を調べ、6 個の低温感受性変異体を分離した。次に塩基配列を調べて、Rpb3 の変異による形質変化であることを確認する作業を行った。その結果、高温感受性変異体の 3 個については、確かに rpb3 遺伝子中に変異があることが判明した。これら変異体から、rpb3 遺伝子を回収し、再び野生株に戻すと、同じ条件致死形質を発現した。変異は、主として、生物

種間でよく保存されている，従って，機能的に重要と推定される領域で検出された．条件致死変異体の単離を続けるとともに，既に得られた変異体から，復帰変異体のスクリーニングを開始した．

一方，より低分子のサブユニットの条件致死変異の単離については，上の方法は適当ではない．別の方法として，目的サブユニットを高発現し，dominant negative 変異を単離する試みを *rpb7* 遺伝子について行っている

(5) RNA ポリメラーゼ II のサブユニット集合体の単離と解析：木村 誠，岩田 晃¹，石浜 明 (¹日本生物科学研究所)

RNA ポリメラーゼ II の 10 種類のサブユニットの集合状態，転写因子の結合様式を解析するために，当研究室ではこれまで，各サブユニットに結合する蛋白質を同定し，そのネットワークを明らかにする方向の研究を採択してきた．これに加えて，RNA ポリメラーゼ II を含む蛋白質集合体を，分裂酵母から単離し，その分子構成を調べる方向からの研究を開始した．今年は，その為に必要となる，タグを付加したサブユニット遺伝子を染色体にもつ分裂酵母，タグを付加したサブユニット発現系などを構築した．また，RNA ポリメラーゼ II 集合体の単離のために相応しい細胞破碎方法や，タグの種類に応じた蛋白質集合体単離方法の検討も行った．例えば，ヒスチジンタグを付加したサブユニットを分裂酵母内で発現させることで，ニッケル結合樹脂を用いたアフィニティクロマトグラフィと HPLC の 2 段階の操作だけで，RNA ポリメラーゼ II の精製に成功した．また，ヒスチジンタグを付加した各サブユニットについては，大腸菌での発現精製系を確立し，純化蛋白を利用してサブユニット特異的免疫抗体を準備した．

3. RNA ウイルスの転写複製装置の分子実体の解明

(1) インフルエンザウイルスゲノム RNA の末端構造の決定：本田文江，水本清久¹，石浜 明 (¹核酸化学研究部門/北里大学薬学部)

RNA ウイルスのゲノム RNA の 5'末端の構造は，VPg 蛋白が結合する一群のプラス鎖ウイルスを除いて，解析がない．インフルエンザウイルスでも，8 分節のマイナス鎖ゲノム RNA の末端構造は，未同定である．転写は宿主 mRNA をプライマーとして利用する特殊な機構で開始されるので，複製産物であるゲノム RNA の 5'端構造の決定は，複製開始機構に示唆を与える重要な課題である．そこで，今回，RNA 5'端が関係する，幾つかの酵素を用いてその構造決定を行った．即ち，5'OH を要求するポリヌクレオチドポリメラーゼ，5'三リン酸，5'二リン酸をもつ RNA のいずれにもキャップ構造を付加できる，出芽酵母のキャッピング酵素 (ab) および，RNA フォスファターゼ活性を欠き，5'二リン酸型 RNA のみにキャップを付加する欠失キャッピング酵素 (a) を利用した．その結果，インフルエンザウイルス RNA の 95% 以上は，5'末端に三リン酸をもっていることが判明した．この事実は，ゲノムの複製は，プライマーを使わず，基質から *de novo* に開始していることを示唆する．

(2) インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子解剖：転写素過程機能域のマッ

ピング：本田文江，浅野幸康¹，石浜 明（¹現所属：三和化学研究所）

インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼは，3種類のウイルス蛋白質 PB1, PB2, PA から形成されている。遺伝解析や，個別蛋白の活性測定から，PB1 に RNA 合成の活性中心があり，PB2 にキャップ RNA 切断エンドヌクレアーゼ活性があると推定されている。各サブユニットの分担機能をより直接的に証明し，さらに各ポリペプチド上にその機能域のマッピングを行う目的で，RNA 合成基質ヌクレオシド三リン酸およびエンドヌクレアーゼ基質キャップ RNA を，RNA ポリメラーゼに直接共有結合させて，結合点を同定する試みをした。8 アジド GTP 存在下に光照射をするか，NTP のリポーズを酸化させてアルデヒドとし，蛋白質に結合させた。V8 プロテアーゼで消化して，結合ヌクレオチドをもつ断片を決定した。その結果，RNA 合成基質は，PB1 の 2 個所で結合していた。

一方，キャップ RNA のキャップ部分の結合部位を同定する目的で，ワクチニアウイルスのキャッピング酵素を利用して，キャップ部分だけに RI 標識をした基質を作製した。インフルエンザウイルスより調整した RNP コアと混合し，紫外線を照射してクロスリンクさせた。リボヌクレアーゼ消化後，蛋白を SDS ゲル電気泳動で分離すると，RI は PB2 にだけ結合されていた。これを V8 プロテアーゼで消化し，分解産物を再び SDS ゲル電気泳動で分離すると，RI 結合断片の N 端アミノ酸配列の分析からキャップ結合部位を推定すると，この場合も 2 箇所が同定された。

(3) インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子解剖：サブユニット分子集合接点のマッピング：豊田哲也¹，Adyshev, J²，岩田 晃³，上田 進³，石浜 明（¹現所属：久留米大学医学部，²現所属：キルギス共和国科学アカデミー生物物理学研究所，³日本生物科学研究所）

インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ 3 種サブユニット間の相互作用接触部位の同定をする目的で，各 P 蛋白質 cDNA の 5' および 3' から様々な程度の欠失変異体を作製し，1 種類の P 蛋白質の完全鎖長 cDNA と別の P 蛋白質の欠失変異体 cDNA を混合し細胞に導入し，同時に発現させた。形成された 2 種 P 蛋白複合体を免疫沈殿法で回収し分子組成を分析した。この実験を 6 種類の組みあわせで実施し，以下の結論を得た。即ち，PA の C 端が，PB1 の N 端に結合し，また PB1 の C 端が，PB2 の N 端に結合する，リニヤー接続の三量体であった。PA-PB1, PB1-PB2 の接点は，いずれも 100 アミノ酸残基以下の領域であった。因に，これらサブユニット-サブユニット接点を含むドメインと，転写複製機能領域の境界は，プロテアーゼ切断実験では，最初に切断が入る領域であり，機能ドメインは，独立の構造ドメインを形成する相関が，この場合にも観察された。

(4) インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの機能制御機構：サブユニットと相互作用をする宿主蛋白の検索：太田千佳子 (PB1), Kundu, T. (PB1, PB2), 山口徹也 (PB2), 山田和穂¹，本田文江，石浜 明（¹三菱化学総合研究所）

インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼは，ウイルス感染後期には，mRNA を合成する転写酵素としての機能をもつ分子形態から，vRNA 複製をする複製酵素の形態に変換される。この変換には，宿主蛋白質因子の関与が示唆されてきた。しかし，複製酵素を精

製し、そこに結合する宿主蛋白を同定することは、分析に必要な量を確保する点で限界があり、困難であった。そこで、今年、方向転換をし、酵母の two-hybrid 法により、各 P 蛋白サブユニットに結合する宿主蛋白を探索し、その中から、目的蛋白を同定することとした。GAL4 の DNA 結合ドメインに融合して各 P 蛋白を発現し、一方、GAL4 の活性化ドメインに HeLa 細胞の cDNA を結合して融合蛋白を発現させた。先ず、PB1 と PB2 に結合する宿主蛋白の検索作業を分担して実施した。P 蛋白質の発現を確認した後、両プラスミドを混合して、出芽酵母 CG1945 株に導入し、GAL4 依存的に発現する b ガラクトシダーゼ活性を指標に、P 蛋白と相互作用をする蛋白をコードする cDNA を探した。現在までに、PB1, PB2 のいずれについても、幾つかの候補を選択した。

(5) タバコモザイクウイルス RNA ポリメラーゼの分子の実体の解明: 渡辺貴斗, 岩田晃¹, 上田 進¹, 日比忠明², 石浜 明 (¹日本生物科学研究所, ²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る 130 K 蛋白及びその通過翻訳産物 180 K 蛋白は、TMV ゲノム RNA の複製に関与する RNA ポリメラーゼであると考えられてきた。この予測の拠り所は、130 K 成分にメチルトランスフェラーゼ (M) 及び RNA ヘリカーゼ (H) と類似配列があり、また、180 K 成分に RNA レプリカーゼ (P) 特有の配列が存在することであった。我々は、RNA 転写、複製に関与する RNA ポリメラーゼの分子の実体を、実験的に解明する目的で、130 K, 180 K 蛋白 cDNA を pET ベクターに挿入し、大腸菌で発現させ、特異抗体を作製した。また、両蛋白および各ドメインの素活性を試験管内で測定する目的で、それらを、GST (グルタチオン S トランスフェラーゼ) または MBP (マルトース結合蛋白) との融合蛋白、または His (ヒスチジン) タグとの融合蛋白として、大腸菌で発現し、精製することを試みた。殆どは、発現しても不溶性画分に回収されたが、MBP と融合させた、M ドメイン、H ドメインは、1% Triton 存在下で、可溶性蛋白として回収され、活性測定系が準備できた。なお、平行して、酵母 two-hybrid 系を用いて、130 K, 180 K 蛋白と相互作用する宿主蛋白の検索を試みたが、現在まで、ポジティブなクローンは得られていない。

研究業績

(1) 原著論文

1. Artsimovitch I., Murakami K., Ishihama A. and Howe M. M.: Transcription activation by the bacteriophage Mu Mor protein requires the C-terminal region of both α and σ^{70} subunits of *Escherichia coli* RNA polymerase. *J. Biol. Chem.*, **271**, 32343–32348, 1996.
2. Belyaeva T., Bown J., Fujita N., Ishihama A. and Busby S.: Location of the C-terminal domain of the RNA polymerase alpha subunit in different open complexes at the *Escherichia coli* galactose operon regulatory region. *Nucleic Acids Res.*, **24**(12), 2243–2251, 1996.
3. Boucher P. E., Murakami K., Ishihama A. and Stibitz S.: The nature of DNA-

- binding and RNA polymerase interaction of the *Bordetella pertusis* BvgA transcriptional activator at the *fha* promoter. *J. Bacteriol.*, **179**, 1755-1763, 1997.
4. Chugani S. A., Parsek M. R., Douglas Hershberger C. D., Murakami K., Ishihama A. and Chakrabarty A.M.: Activation of the *catBCA* promoter: Probing the interaction of CatR and RNA polymerase through *in vitro* transcription. *J. Bacteriol.*, in press.
 5. Eichenberger P., Dethiollaz S., Fujita N., Ishihama A. and Geiselmann J.: The influence of the location of the activator binding site on the geometry of a transcriptional activation complex in *Escherichia coli*. *Biochemistry*, **35**, 15302-15312, 1996.
 6. Fujita N. and Ishihama A.: Reconstitution of RNA polymerase. *Meth. Enzymol.*, **273**, RNA Polymerase and Associated Factors, Part A, Adhya, S., ed., pp. 121-130, 1996.
 7. Giladi H., Murakami K., Ishihama A. and Oppenheim A. B.: Identification of an UP element within the IHF binding site at the P_{L1}-P_{L2} tandem promoter of bacteriophage λ . *J. Mol. Biol.*, **260**, 484-491, 1996.
 8. Greiner D. P., Miyake R., Moran J. K., Jones A. D., Negishi, T., Ishihama, A. and Meares, C.F.: Synthesis of the protein cutting reagent iron (S)-1-(*p*-bromoacetamidebenzyl) ethylenediaminetetraacetate and conjugation to cysteine side chains. *Bioconjugate Chemistry*, **8**(1), 44-48, 1997.
 9. Imamura R., Yamanaka K., Ogura T., Hiraga S., Fujita N., Ishihama A. and Niki H.: Identification of the *cdpA* gene encoding cyclic 3',5'-adenosine phosphophate phosphodiesterase in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, **271**(41), 25423-25429, 1996
 10. Ishihama A.: Promoter selectivity control of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Nucleic Acids & Molecular Biology*, Vol. 11, Mechanism of Transcription, Eds. F. Eckstein and D. Lilley, Springer-Verlag, Heidelberg, in press
 11. Ishihama A., Asano Y., Honda A., Toyoda T., Mizumoto K. and Nakada S.: Structure, function and formation of influenza virus RNA polymerase. In: *Options for the Control of Influenza*, Eds. L. E. Brown, A. W. Hampson and R. G. Webster, Elsevier Sci. B. V., Amsterdam, pp. 372-380, 1996.
 12. 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. *Mol. Microbiol.*, **19**(2), 307-314, 1996.
 13. Jair K.-W., Yu X., Skarstad K., Thony B., Fujita N., Ishihama A. and Wolf R. E,

- Jr.: Transcription activation of promoters of the superoxide and multiple antibiotic resistance regulation by Rob, a binding protein of the *Escherichia coli* origin of chromosomal replication. *J. Bacteriol.*, **178**(9), 2507–2513, 1996.
14. Jeon Y. H., Yamazaki T., Otomo T., Ishihama A. and Kyogoku Y.: Flexible linker in the RNA polymerase α subunit facilitates the independent motion of the C-terminal activator contact domain. *J. Mol. Biol.*, in press.
 15. Jishage M. and Ishihama A.: Variation in RNA polymerase sigma subunit composition within different stocks of *Escherichia coli* strain W3110. *J. Bacteriol.*, **179**, 959–963, 1997.
 16. Jishage M., Iwata A., Ueda S. and Ishihama A.: Regulation of RNA polymerase sigma subunit synthesis in *Escherichia coli*: Intracellular levels of four species of sigma subunit under various growth conditions. *J. Bacteriol.*, **178**, 5447–5451, 1996.
 17. 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.
 18. Kimura M. and Ishihama A.: Subunit assembly *in vitro* of *Escherichia coli* RNA polymerase: Role of the amino-terminal assembly domain of alpha subunit. *Genes To Cells*, **1**(6), 517–528, 1996.
 19. Kobayashi M., Toyoda T. and Ishihama A.: Influenza virus PB1 protein is the minimal and essential subunit of RNA polymerase. *Arch. Virol.*, **141**, 525–533, 1996.
 20. 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.
 21. Luo J., Sharif K. A., Jin R., Fujita N., Ishihama A. and Krakow J. S.: Molecular anatomy of the β' subunit of the *E. coli* RNA polymerase: Identification of regions involved in polymerase assembly. *Genes to Cells*, **1**(9), 819–828, 1996.
 22. Miyao T., Yasui K., Sakurai H., Yamagishi M. and Ishihama A.: Molecular assembly of RNA polymerase II from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*: Subunit-subunit contact network involving Rpb5. *Genes to Cells*, **1**(9), 843–855.
 23. Murakami K., Fujita N. and Ishihama A.: Transcription factor recognition surface on the RNA polymerase α subunit is involved in contact with the DNA enhancer element. *EMBO J.*, **15**(16), 4358–4367, 1996.
 24. Murakami K., Kimura M., Owens J. T., Meares C. F. and Ishihama A.: The two alpha subunits of *Escherichia coli* RNA polymerase are asymmetrically ar-

- ranged and contact different halves of the DNA UP element. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, in press.
25. 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.
 26. Rajkumari K., Kusano S., Ishihama A., Mizuno T. and Gowrishankar J.: Effects of H-NS and potassium glutamate on σ^S - and σ^{70} -directed transcription *in vitro* from osmotically regulated P1 and P2 promoters of proU in *Escherichia coli*. J. Bacteriol., **178**, 4176-4181, 1996.
 27. Sakurai H., Miyao T. and Ishihama A.: Subunit composition of RNA polymerase II from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. Gene, **180**(1), 63-67, 1996.
 28. Tang Y., Murakami K., Ishihama A. and deHaseth P. L.: Upstream interactions at the lambda P_{RM} promoter are sequence nonspecific and activate the promoter a lesser extent than an introduced UP element of an rRNA promoter. J. Bacteriol., **178**(23), 6945-6951, 1996.
 29. Toyoda T., Adyshev D. M., Kobayashi M., Iwata A. and Ishihama A.: Molecular assembly of influenza virus RNA polymerase: Identification of the subunit-subunit contact sites on each P protein subunit. J. Gen. Virol., **77**, 2149-2157, 1996.
 30. 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, **12**(2), 155-161, 1996.
 31. Toyoda T., Adyshev D. M., Kobayashi M., Iwata A., Ueda S. and Ishihama A.: The subunit-subunit contact sites of the influenza virus RNA polymerase. Options for Control of Influenza, Eds. L. E. Brown, A. W. Hampson and R. G. Webster, Elsevier Sci. B. V., Amsterdam, pp. 419-426.
- (2) その他
1. 石浜 明: ウイルスと遺伝。「微生物学」(竹田美文ら編), 416-423 頁, 医歯薬出版, 1996.
 2. 石浜 明: オルソミクソウイルス科。「微生物学」(竹田美文ら編), 492-501 頁, 医歯薬出版, 1996.
 3. 石浜 明: 生きるための遺伝戦略。「ネオ生物学シリーズ 3: 細菌」(吉川 寛編), 35-49 頁, 共立出版, 1996.
 4. 石浜 明: 転写制御における蛋白質分子間コミュニケーション. 構造生物学セミ

ナー「遺伝子の転写とその制御因子」, SBS 実行委員会, 1996.

(3) 発表講演

1. Ballesteros M., Kusano S., Ishihama A. and Vicente M.: Positive regulation affecting the expression of the *ftsQAZ* genes. EC Biotechnology Workshop, Madrid, March.
2. Belaeva 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 Asian Conf. on Transcription, Hayama, March.
3. Boucher P., Ishihama A. and Stibitz S.: Activation of transcription at the *pha* and *ptx* promoters of *Bordetella pertussis* by the *BvgA* response regulator. ASM Gen. Meet., New Orleans, May.
4. Chugani S. A., Parsek M. P., Hershberger C. D., Ishihama A. and Chakrabarty A. M.: The use of *in vitro* transcription assays to study the interaction of CatR at the *catBC* promoter, ASM Gen. Meet., New Orleans, May.
5. Fujita N.: Structure and Function of RNA polymerase from *Escherichia coli*: Molecular interactions with transcription factors. Seminars on Bacterial RNA Polymerases, Seoul National University, Seoul, January.
6. Fujita N.: Function of the C-terminal domain of the α subunit. 8th RNA Polymerase Workshop, Derby, March.
7. Gowrishankar J., Rajkumari K., Kusano S., Ishihama A. and Mizuno T.: σ^5 - and σ^{70} -directed transcription *in vitro* from osmotically regulated P1 and P2 promoters of *proU* in *Escherichia coli*. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, March.
8. 八田正人, 升永憲治, 伊藤壽啓, 岡崎克則, 豊田哲也, 石浜 明: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ PB2 の構造と機能. 第 44 回日本ウイルス学会総会, 静岡, 10 月.
9. Hattori T., Takahashi K., Sindo H., Ishihama A., Nakanishi T., Taniguchi S. and Takigawa M.: Specific interactions of IHF and FNR in NarL-binding on overlapping regulatory region between *narX* and *narK* genes in *Escherichia coli*. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, March.
10. 石浜 明: 転写制御における蛋白質の分子間コミュニケーション. 第三回構造生物学セミナー “遺伝子の転写とその制御因子”, 東京, 1 月.
11. 石浜 明: 転写における分子間コミュニケーション. 京都大学理学研究科セミナー, 京都, 1 月.
12. 石浜 明: 遺伝子転写制御の研究の新しい展開. 久留米大学医学部特別セミナー,

久留米, 5月.

13. Ishihama A.: Structure, function and formation of influenza virus RNA polymerase. "Options for the Control of Influenza", Cairns, May.
14. Ishihama A.: The molecular anatomy of influenza virus RNA polymerase. IRBM (Istituto di Ricerche di Biologia Molecolare) Workshop "Molecular Mechanisms of RNA Replication", Alghero, Sardinia, May.
15. Ishihama A.: Multiplication of influenza virus: Transcription and replication. The First Shizuoka Forum on Health and Longevity, Shizuoka, Oct.
16. Ishihama A.: A multi-functional enzyme with RNA polymerization and RNase activities: Molecular anatomy of influenza virus RNA polymerase. International Oji Seminar on "Posttranscriptional Control of Gene Expression: The Regulatory Role of RNA", Hakone, Nov.
17. 石浜 明: 転写装置の分子解剖. 重点領域研究公開シンポジウム「生体機能における金属イオンの特異的作用の分子科学」, 京都, 12月.
18. 石浜 明: 遺伝子発現の調節: 遺伝子の利用の仕方はどうのようにしてきまるのか. 国立東静岡病院セミナー, 清水町, 12月.
19. Jair K. W., Fawcett W. P., Yu X., Skastade K., Martin R. G., Rosner I. 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. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, March.
20. Jeon Y. H., Yamazaki T., Ootomo K., Ishihama A. and Kyogoku Y.: Molecular dynamics of RNA polymerase a C-terminal domain studied by NMR. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, March.
21. Jishage M., Fujita N. and Ishihama A.: Intracellular levels of RNA polymerase sigma subunits in *Escherichia coli*. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, March.
22. 梶谷正行, 井口義夫, 石浜 明: SP フェージは $\text{Q}\beta$ レプリカーゼ宿主因子 HF-I を要求する. 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8月.
23. Kang J. G., Hahn M. Y., Ishihama A. and Roe J. H.: Promoter selectivity of RNA polymerases from *Streptomyces coelicolor*. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, March.
24. Kundu T. K., Kusano S. and Ishihama A.: Promoter selectivity of *Escherichia coli* σ^F factor which controls transcription of flagellar class-III operons. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, March.
25. Kusano S., Fujita N. and Ishihama A.: Comparison of the functions and specificities between *Escherichia coli* RNA polymerase σ^{70} and σ^{38} . The 4th Asian

- Conf. on Transcription, Hayama, March.
26. Kyogoku Y., Jeon Y.H., Yamazaki T., Shirakawa M., Negishi T., Fujita N., Murakami K. and Ishihama A.: Solution structure of RNA polymerase α -C terminal domain and its interaction with UP element. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, March.
 27. Liu K., Ishihama A., Kainz M., Gourse R., Christie G. and Hanna M.: Functional map of the nascent RNA and NusA contact sites on the C-terminal domain of the α subunit of *E. coli* RNA polymerase. Cold Spring Harbor Meeting "Molecular Genetics of Bacteria & Phages", Cold Spring Harbor, New York, August.
 28. 升永憲治, 豊田哲也, 石浜 明: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子抑制: 抗ペプチド抗体を用いたマッピング. 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
 29. 光澤 浩, Del Villar K., Sattler I., 玉野井冬彦: 酵母ファルネシル転移酵素のタンパク質基質の認識に関与すると思われるアミノ酸残基の同定. 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
 30. Miyao T., Yasui K., Yamagishi M. and Ishihama A.: Subunit-subunit interactions within *Schizosaccharomyces pombe* RNA polymerase II. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, April.
 31. Murakami K. and Ishihama A.: Asymmetric arrangement and different roles of two alpha subunits within *Escherichia coli* RNA polymerase. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, April.
 32. Murakami K., Kimura M. and Ishihama A.: Asymmetric arrangement and different roles of two α subunits within *E. coli* RNA polymerase. Cold Spring Harbor Meeting "Molecular Genetics of Bacteria & Phages", Cold Spring Harbor, New York, August.
 33. Negishi T., Fujita N. and Ishihama A.: Functional map of the alpha subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase: Inhibition of transcription activation by alpha peptides. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, April.
 34. Ozoline O. N. and Ishihama A.: Topology of RNA polymerase surface involved in interaction with UP element. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, March. March.
 35. 笹沼明美, 森 浩禎, 藤田信之, 西村昭子, 倉富一興, 小林恭子: Ap₄A および Ap₄A 結合タンパク質と細胞分裂周期. 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
 36. Toyoda T., Adyshev D., Kobayashi M., Iwata A. and Ishihama A.: Molecular assembly of the influenza virus RNA polymerase: Determination of the sub-

unit-subunit contact sites. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, April.

37. 和田 明, 石浜 明: 細胞増殖定常期における大腸菌の加齢現象の研究. 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
38. Watanabe T., Hibi T. and Ishihama A.: Nucleotide sequence and expression of TMV (OM strain) RNA replicase. The 4th Asian Conf. on Transcription, Hayama, April.

A-b. 変異遺伝研究部門

酵母, 哺乳動物培養細胞を用い, ユビキチン/プロテアソームによるたんぱく質分解系が細胞の増殖, 周期や染色体の機能構造にいかに関わるかを中心課題として分子生物学的に研究してきた。

今年度の研究活動は助教授・山尾文明, 助手・岸 努, 清野浩明が行い, 飯塚友謙(北里大学衛生学部 4 年)と青木文子(研究補助員)が参加した。

当部門の関係する研究所共同研究は以下の 2 件であった。

1) 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)

2) 新規ヒトユビキチン結合酵素の機能解析, 岡野幸雄(岐阜大学医学部)

本年度の研究費は, 文部省科学研究費補助金, 重点領域研究(1)「選択的蛋白分解の分子機構」(代表, 鈴木紘一), 重点領域研究(2)「サイクリン分解と染色体分離, M 期脱出に必須のユビキチン経路」(代表, 山尾), 基盤研究(B)「ユビキチン系における分子識別と細胞機能制御」(代表, 山尾), 研究所特定研究「遺伝子高次構造の多面的総合的研究」(代表, 中辻憲夫)によった。

ややもすれば細胞内の不要物の除去機構として負のイメージで考えられがちであった蛋白質分解が, 最近になって逆に積極的な細胞機能調節機構として捉えなおされてきている。タンパク質のリン酸化による機能調節では不可逆のステップを完全にコントロールするには不十分で, 機能タンパク質の分解による後戻りできない 'All or None' の調節が必要とされる場合が多い事を意味している。そこで中心的な役割を担っているのはユビキチン/プロテアソーム系による選択的タンパク分解機構である。ユビキチン/プロテアソーム系による選択的タンパク分解の研究は旧来のプロテアーゼ研究とは明確に一線を画し, 酵素学から, 細胞のさまざまな基本的な機能を制御するネットワークの構成要素としての研究に急速に変貌しつつある。われわれがいま焦点をあてている Cell Cycle の分野を一例にあげても, 4 年前が CDK の多様性の発見が, 2 年前ではそれらの Inhibitor である CKI の発見が話題の中心であったのが, 最近では Cell Cycle のどの国際会議でもおしなべて Proteolysis による細胞周期制御に最大の関心があつまっていることは上の事情を端的に表わしている。

今年度, われわれのグループでは酵母を用い, 細胞周期の制御に大きく関わる代表的な

ユビキチン経路の二つについて解析した。いずれも酵母の経路であるが、高等動物細胞でも発現している普遍的な機能を持ったユビキチン経路であり、必要に応じて培養細胞を用いた解析も行った。

1) 分裂酵母の UbcP4 経路

細胞周期の進行と密接に関わるユビキチン経路を理解する目的で、遺伝学的解析の可能な分裂酵母の cDNA 発現ライブラリーから、その酵素活性を指標に新奇のユビキチン転移酵素 UbcP4 をコードする cDNA を単離したが、これは以下のように細胞周期制御の中心的な役割を果たすユビキチン経路であることがわかってきた。

UbcP4 をコードする遺伝子は細胞の増殖に必須であり、UbcP4 蛋白質を枯渇させた細胞は G2 期停止および M 期の異常という多面的な表現型を示した。表現型および遺伝学的な解析から UbcP4 蛋白質は M 期サイクリンなどの分解に関わる E3 である APC (anaphase promoting complex) の上流で機能する E2 であることが示唆された。G2 期に関しては細胞周期チェックポイントで機能する Chk1 蛋白質の上流で機能することを示唆する結果を得ている。

最近 UbcP4 遺伝子に温度感受性変異を持つ温度感受性株の単離に成功した。その株を用いて、実際に UbcP4 蛋白質が M 期サイクリンである Cdc13 蛋白質の分解に関わるという結果が得られつつある。同様に、染色体の対合に関与し、分裂期の完了と共に分解されることが染色体の分配に必須であると考えられている Cut2 蛋白質についても、その分解を検討することが可能になってきた。

G2 停止に関しては、現在のところ標的蛋白質に関する情報は得られていない。標的蛋白質の候補として、DNA 複製の開始に関与し、その分解が 1 細胞周期に 1 回だけ DNA を複製することに重要な関わりを持っていると考えられている Cdc18 蛋白質、SPF (S-phase promoting factor) の本体と考えられている Cig2 蛋白質などが挙げられる。これらの蛋白質が UbcP4 蛋白質の関与するユビキチン経路の標的であるかどうかを、遺伝学的解析ならびに生化学的な手法を用いて検討する予定である。

2) 出芽酵母の CDC34 経路

出芽酵母 CDC34/UBC3 は G1 後期の進行に必要なユビキチン結合酵素 E2 をコードする。Cdc34/Ubc3 によってユビキチン化される蛋白質の一つが S 期サイクリン依存キナーゼのインヒビター Sic1 であり、cdc34-1 sic1 Δ 株は制限温度において DNA 複製は可能になるが、2N の DNA 含量の状態で細胞周期を停止する。cdc34-1 sic1 Δ 株のサブレッサー株を分離しサブレッサー原因遺伝子をクローン化したところ Glucose Repression の調節にかかわるものとしてすでに同定されていた GRR1 が得られた (後に GRR1 はまた、G1 サイクリン Cln1 および Cln2 の安定性に関与していることも報告されている)。

cdc34-1 sic1 Δ 株をグルコース以外の炭素源を含む培地に広げた場合にも温度感受性を示したことから、GRR1 が Glucose Repression の機能とは別に、Cdc34 と共通の経路で細胞周期進行を調節する機能を持つことが示唆される。

GRR1 を cdc34-1 株に過剰発現すると 25°C においてもコロニー形成能を失なった。こ

の増殖阻害を多コピーで抑圧する遺伝子をスクリーニングしたところ SKP1 を取得した。SKP1 は *cdc34-1* 株と同様なフェノタイプを示す *cdc4* 株のマルチコピーサプレッサーとして同定されたもので、Sic1 や Cln2, Clb5 の分解に関与する。Gst との融合蛋白質を用いた Pull-down assay の結果、Grr1 は Skp1 と結合した。また、同様なアッセイで、Grr1 は Cln2 と結合すること、さらに Cln2 は Grr1 を介して Skp1 と結合することを明らかにした。したがって、Grr1 は Cln2 の認識に関わりかつ Cln2 と Skp1 とを結ぶアダプター分子として機能することが示唆される。また、Cln2 のユビキチン化には、C 末端側に存在する PEST 配列を含む領域がリン酸化されていることが必須であるが、この領域を欠失した Cln2-1 も Grr1 と結合した。最近、E3 活性を持つ Cdc53 は PEST 配列を含む領域のリン酸化に依存して Cln2 と結合することが報告された。したがって、Cln2 の N 末端側が Grr1 に認識され、リン酸化された C 末端側が Cdc53 に認識されると考えられる。

今後、Skp1-Grr1-Cln2 と Cdc34 および Cdc53 との相互作用を検討し、Cln2 のユビキチン化における各コンポーネントの役割、複合体形成の意義を明らかにしていく予定である。また、*cdc34-1sic1Δcln1Δcln2* 株は依然温度感受性を示し、他にも Cdc34 によってユビキチン化を受ける必要のある蛋白質の存在が示唆されるので、これも明らかにしていきたい。

研究業績

(1) 原著論文

1. Yamaguchi T., Kim N., Sekine S., Seino H., Osaka F., Yamao F. and Kato S.: Cloning and expression of cDNA encoding a human ubiquitin-conjugating enzyme similar to the *Drosophila* bendless gene product. *J. Biochem.*, **120**, 494-497, 1996.
2. Nakajima T., Morita K., Ohi N., Arai T., Nozaki N., Kikuchi A., Osaka F., Yamao F. and Oda K.: Degradation of topoisomerase II α during adenovirus E1A-induced apoptosis is mediated by the activation of the ubiquitin proteolysis system. *J. Biol. Chem.*, **271**, 24842-24849, 1996.
3. Azuma Y., Seino H., Seki T., Uzawa S., Kleb C., Ohba T., Wittinghufer A., Hayashi N. and Nishimoto T.: Conserved Histidine Residues of RCC1 Are Essential for Nucleotide Exchange on Ran. *J. Biochem.*, **120**, 82-91, 1996.
4. Hayashi N., Seino H., Irie K. and Watanabe M., Clark K. L., Matsumoto K. and Nishimoto T.: Genetic Interaction of *DED1* Encoding a Putative ATP-dependent RNA Helicase with *SRM1* Encoding a Mammalian RCC1 Homolog in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Gen. Genet.*, **253**, 149-156, 1996.
5. Ikehata H., Kaneda S., Yamao F., Seno T., Ono T. and Hanaoka F.: Mouse cells expressing temperature-sensitive ubiquitin-activating enzyme E1 mutant show ultraviolet-light sensitivity and deficiency in induced mutagenesis.

Molecular & Cellular Biology, 17, 1484-1489, 1997.

6. Osaka F., Seino H., Seno T. and Yamao F.: An ubiquitin-conjugating enzyme essential for onset of anaphase in conjunction with the anaphase promoting complex in fission yeast. Molecular Cellular Biology, in press.

(2) その他

1. 山尾文明: ユビキチン系における分子識別と細胞機能, 細胞工学, 15, 898-906, 1996.

(3) 発表講演

1. Seino H., Osaka F., Seno T. and Yamao F.: A novel ubiquitin-conjugating enzyme in fission yeast, essential not only for entering mitosis but for meta-phase/anaphase transition. 1996 Meeting on THE CELL CYCLE, Cold Spring Harbor Laboratory, May 15-19.
2. 山尾文明, 逢坂文男, 清野浩明: ユビキチン結合酵素の細胞周期制御における特異性, 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会シンポジウム, 平成 8 年 8 月 26-30 日, 札幌.
3. 中島琢磨, 森田健一, 大井直人, 新井孝夫, 野崎直仁, 菊池韶彦, 逢坂文男, 山尾文明, 小田鈞一郎: アデノウイルス E1A 誘導アポトーシスにおけるトポイソメラーゼ IIa 特異的ユビキチン系の活性化, 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 平成 8 年 8 月 26-30 日, 札幌.
4. 清野浩明, 逢坂文男, 山尾文明: 細胞分裂期進行に必須なユビキチン転移酵素, 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 平成 8 年 8 月 26-30 日, 札幌.
5. 西山隆太郎, 岡部善宏, 山尾文明, 清野浩明, 矢倉達夫: アフリカツメガエル過熟卵抽出液を用いたアポトーシス機構の解析, 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 平成 8 年 8 月 26-30 日, 札幌.
6. 岸 努, 瀬野悍二: 出芽酵母 CDC34 の温度感受性変異株のサプレッサー遺伝子 GRR1 の解析, 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 平成 8 年 8 月 26-30 日, 札幌.
7. 琴村直恵, 岸 努, 二宮康晴, 築山俊夫, 丹羽太貫: ELP アイソフォームと相互作用する因子の検索, 第 69 回日本生化学会大会, 第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 平成 8 年 8 月 26-30 日, 札幌.
8. 山尾文明, 逢坂文男, 清野浩明: 細胞周期 M 期を制御するユビキチン経路, 第 68 回日本遺伝学会, 平成 8 年 10 月 3-5 日, 名古屋.
9. 山尾文明: 細胞周期を制御するユビキチン経路, 第 55 回日本癌学会総会シンポジウム, 平成 8 年 10 月 10-12 日, 横浜.

10. 逢坂文男, 清野浩明, 山尾文明: M 期を制御するユビキチン経路, 第 49 回日本細胞生物学会大会シンポジウム, 平成 8 年 10 月 23-25 日, 京都.

A-c. 核酸化学研究部門

(1) センダイウイルス (HVJ) ゲノムの転写・複製機構: 水本清久

センダイウイルス (HVJ) はパラミクソウイルス科に属し, そのゲノムは約 15 kb の非分節マイナス鎖 RNA からなる. ウイルスゲノムの転写・複製はウイルスゲノムでコードされる RNA 依存 RNA ポリメラーゼによって触媒される. われわれは, HVJ ゲノム転写・複製の分子機構を明らかにすることを目的に, ウイルスポリメラーゼが触媒活性を発現するために必要な宿主因子の精製とその機能解析を行っている. これまでに, ウイルス粒子あるいはウイルス RNP を用いた *in vitro* 転写反応系を用いた解析から, HVJ mRNA の生合成は正に作用する因子と負に作用する因子によって制御されていることを明らかにした (文献 1, 発表講演 8, 9).

また, HVJ 感染細胞では, ゲノム 3'-末端リーダー配列から転写される約 50 ヌクレオチドのリーダー RNA が合成される. この RNA はゲノムの転写-複製モードスイッチに関与すると推定されているが, その生合成機構と意義の詳細は不明である. われわれは, ウイルス粒子を用いた *in vitro* リーダー RNA 合成系を構築し, この系を用いて, リーダー RNA 合成には, mRNA 合成に必要な因子とは異なる因子が関与することを明らかにした. さらに, リーダー RNA 合成に必要な因子の分画にはウイルスゲノム 3'-末端配列に特異的に結合し, リーダー RNA 合成において機能する因子が含まれることを示した (発表講演 2, 6, 7, 10).

(2) mRNA キャップ構造形成の分子機構: 水本清久

真核細胞 mRNA 5'-末端キャップ構造は, RNA ポリメラーゼ II による転写の極めて初期に付加され, その後の mRNA 代謝において重要なシグナルとして機能する. われわれは, 種々の生物のキャッピング酵素の反応機構について, 酵素化学的ならびに分子遺伝学的手法を用いて解析している. これまでにわれわれは, 酵母 *S. cerevisiae* のキャッピング酵素 α サブユニット遺伝子を単離し, それを用いて酵素の活性中心及びその近傍の構造-機能相関について解析した (発表講演 4). また, *Candida albicans* の α サブユニット遺伝子のクローニングにも成功し, その機能について解析した (文献 3).

キャップ形成が RNA ポリメラーゼ II 転写産物特異的に起こる機構を理解することを目的に, HeLa 細胞抽出液を用いた *in vitro* 転写系を利用して解析を行った結果, キャッピングに関与する一連の酵素系が転写開始複合体に特異的に組込まれて機能していることが明らかとなった (発表講演 1, 3, 5, 11).

(3) 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 (生物分子工学研究所)

大腸菌や枯草菌などでは, 複製の終結する部位 (*Ter*) が厳密に決まっている. この終結点に近づいてきた複製フォークは, この *Ter* 配列を認識して結合する蛋白質 (Tus) によ

て阻止される事が解っている。当研究室では、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目的として、Tus 蛋白質-*Ter*DNA の複合体を結晶化し、X線解析によって2.7Å分解能で立体構造を決定した。

Tus 蛋白質は大きく二つのドメインに分けられ、それぞれは α ヘリックス及び β シートを含む二次構造によって構成されている。この両ドメインを結ぶ二枚の β シートと長いループは、*Ter*DNAの主溝、副溝にそれぞれ入り込み、DNAの塩基との特異的な認識を可能にしている。基礎生物学研究所の堀内らが得た複製フォーク阻害欠損を示す変異体の解析結果から、Tus 蛋白質のアミノ酸置換体のほとんどがDNA認識領域に帰属される事が判明した。これらのTus 蛋白質変異体のDNA結合活性は低下しており、DNAへの親和力の強さのみが複製のフォークの阻害に必須であることを示唆している。

このTusタンパク質の複製フォークの進行阻止とは、複製装置の構成分子であるヘリカーゼの巻戻し運動に対して、一方向からでしか効果を与えない。この現象を立体構造の観点から説明すると、フォークの阻害とは、ヘリカーゼの進行を物理的衝突によって排除するもの他ならない。

研究業績

(1) 原著論文

1. Takagi T., Iwama M., Seta K., Kanda T., Tsukamoto T., Tominaga S. and Mizumoto K.: Positive and negative host factors for Sendai virus transcription and their organ distribution in rat. *Arch. Virol.*, **141**, 1623-1635, 1996.
2. Watanabe K., Handa H., Mizumoto K. and Nagata K.: Mechanism for inhibition of influenza virus RNA polymerase activity by matrix protein. *J. Virol.*, **70**, 241-247, 1996.
3. Yamada-Okabe T., Shimmi O., Doi K., Mizumoto K. and Yamada-Okabe H.: Isolation of the mRNA capping enzyme and ferric-reductase-related genes from *Candida albicans*. *Microbiol.*, **142**, 2515-2513, 1996
4. 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*, **24**, 402-403, 1996.
5. Kamada K., Horiuch T., Ohsumi K., Shimamoto N. and Morikawa K.: Structure of a replication-terminator protein complexed with DNA. *Nature*, **383**, 598-603, 1996.

(2) 発表講演

1. Mizumoto K.: Functional integration of mRNA capping enzyme into a transcription initiation complex of RNA polymerase II. The Fourth Asian Conference on Transcription, Hayama, March.

2. 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルス (HVJ) の転写複製機構: リーダー配列結合因子 (LBP) の性質とリーダ RNA 合成への関与. 日本薬学会第 116 年会, 金沢, 3 月.
3. 深町伸子, 水本清久: RNA ポリメラーゼ II による転写開始とキャッピング: キャップメチル化酵素の転写開始複合体への組み込み. 日本薬学会第 116 年会, 金沢, 3 月.
4. 後藤英夫, 柴垣芳夫, 塚本俊彦, 水本清久: 酵母 mRNA キャッピング酵素 α サブユニット構造と機能—GMP 結合部位近傍への点変異導入. 第 69 回日本生化学会大会—第 19 回 日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
5. 深町伸子, 水本清久: mRNA キャッピング酵素系の polII 転写開始複合体への組み込みと機能. 第 69 回日本生化学会大会—第 19 回 日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
6. 岩間美奈子, 水本清久: センダイウイルスゲノム 3'-末端のリーダ配列に結合する宿主因子の性質. 第 69 回日本生化学会大会—第 19 回 日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
7. Iwama M., Arashiro H., Ogino T. and Mizumoto K.: *In vitro* synthesis of Sendai virus leader RNA: Purification and characterization of a host factor which specifically binds to the genome leader sequence. Xth International Congress of Virology, Jerusalem, Israel, August.
8. 水本清久, 岩間美奈子, 高木敏光, 荻野朝朗, 古川尊久, 新城ひろみ: センダイウイルス (HVJ) ゲノム転写・複製の酵素機構. 第 44 回日本ウイルス学会総会ワークショップ, 静岡, 10 月.
9. 荻野朝朗, 岩間美奈子, 木ノ内順子, 水本清久: センダイウイルスの転写機構—ウシ脳抽出液からの宿主因子の部分精製とその性質. 第 44 回日本ウイルス学会総会, 静岡, 10 月.
10. 岩間美奈子, 新城ひろみ, 水本清久: センダイウイルスゲノム 3'-leader 配列に結語揺する因子の解析. 第 44 回日本ウイルス学会総会, 静岡, 10 月.
11. Mizumoto K.: Association of mRNA capping enzyme with a transcription initiation complex of RNA polymerase II. International Oji Seminar, "Post-transcriptional Control of Gene Expression: The Regulatory Role of RNA", Hakone, November.
12. 鎌田勝彦, 森川耿右: 複製終結点に形成されるタンパク質・DNA 複合体の構造解析. 第 1 回構造生物学シンポジウム, 横浜市立大学カメリアホール, 7 月.
13. Morikawa K.: Atomic structure and functional model of a replication terminator protein complexed with DNA. The 11th Rinshoken International Conference, Miyako Hotel Tokyo Japan, November.

B. 細胞遺伝研究系

B-a. 細胞遺伝研究部門

遺伝的組換えは相同な2分子の二重鎖DNAの切断と再結合により、正確に遺伝子を入れ換える反応であり、遺伝子の子に伝える減数分裂期や、DNA傷害の修復期で活発に働き、生物種の多様性を生み出すとともに、種の安定保持に役立っている。そのため、組換えは巧妙に制御されている。また、減数分裂期で、その頻度が高いのは、特徴的な染色体構造が関係している。今年度は、組換え蛋白質の染色体上の分布の解析、組換えの修復合成、組換え開始に伴ったクロマチン構造の解析、DNA傷害時に誘導される蛋白質の発現機構の解析と、組換えを行う蛋白質複合体の分離、精製、活性の同定と、その構成成分の機能解析を目的として行った。

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，太田 力（平成8年4月着任），COE非常勤講師；松田（高橋）志麻子，COE外国人博士研究員；Andrei Alexeev，特別大学院学生；池谷智淳，寺澤匡博，総合研究大学院大学学生；渡部光一，NEDO技術補佐員；古山嘉美，池谷優子であった。

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換えシステムの研究」(代表・小川英行)(小川) 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「遺伝的組換え機構を基礎とした遺伝子操作技術の確立」(代表・小川)，文部省科研費補助金、重点領域研究(2)「DNA修復欠損の分子病態」(代表：花岡)，分担課題：減数分裂期組換えに関与するクロマチン構造(田中)，重点領域研究(2)「細胞核の機能構造：分子構築と分子間コミュニケーション」(代表：水野)，分担課題：クロマチンの構造変化を誘導する組換え蛋白質の同定と機能の解明(田中)，COE外国人博士研究員研究補助金：組換えとDNA傷害の修復を行う蛋白質の機能解析と染色体構成成分との相互作用(Alexeev)，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換え機構の解析」(池谷)と、「高等真核生物の減数分裂期組換えの分子機構の解析」(寺澤)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」を行った(阪大・理学部・篠原 彰)。

(1) 真核生物の組換え蛋白質の機能と染色体構造の関連：池谷智淳，寺澤匡博，小川智子

真核生物の組換え遺伝子 *RAD51* が酵母，植物，動物に共通に存在することを明らかにした。また，*RAD52*，*LIM15* 遺伝子も生物に共通に存在すること，*Rad51* と *Lim15* 蛋白質の構造と性質が，大腸菌 *RecA* 蛋白質に似ていることが明らかになった。これらの結果は，組換え機構が生物を通して共通であることを示している。

我々は減数分裂期過程の染色体上の組換え蛋白質の分布が明らかになれば，組換え反応と染色体構造の関連が明らかになると考え，*Rad51* と *Lim15* 蛋白質について調べた。

両蛋白質は相同染色体の対合が始まる前のレプトテン期と、対合が行われているサイゴテン期に、染色体のクロマチンループの同じ位置に存在し、対合が完了したときには、Rad51のみが染色体のコアに存在し、Lim15は染色体のコアの末端に存在した。更に、染色体の分離が始まると、Rad51は分離した領域から消失し、最終的にはキアズマ領域にのみ存在し、Lim15は染色体の分離後も末端に存在した。これらの結果は、組換えと相同染色体の対合が運動していることを示し、相同染色体の対合では両蛋白質が共同で働き、対合が完了した後では、Rad51は染色体の交叉に働くか、相同染色体のシナプシスの保持、または分離に働いていると考えられる。一方、Lim15はテロメア領域の組換えに働くか、染色体が分離しないように止める働きを持つと考えられる。重要なことは、蛋白質の機能が、時間的(ステップ)、空間的(染色体構造)に制御され、異なる蛋白質と複合体を形成して機能することが示唆されたことである。

(2) 組換え開始に関与する染色体構造の解析: 田中茂生, 小川智子

真核生物のDNAは折り畳まれ、クロマチン構造を形成し、複製、転写、組換え等の生物機能に深く関わっている。我々は、減数分裂期組換えのホットスポット領域におけるクロマチン構造と、DNA二重鎖切断の関連を、組換え開始に関与する遺伝子欠損株を用いて解析した。減数分裂期組換えは、ホットスポット領域に二重鎖切断が入ることにより開始する。この二重鎖切断は、ホットスポットに数十個の切断を生じ、切断部位の塩基配列に特異性はない。したがって、切断が特異的な領域に起るためには、染色体構造、あるいは、特殊な蛋白質の関与が考えられる。我々はクロマチン、及び、ヌクレオソーム構造を塩基対レベルで解析できる *in vivo* フットプリント法を用いて、YCR47c-YCR48w領域のホットスポットのクロマチン構造の解析と、そこに関与する遺伝子の同定を試みた。そのために、大量の細胞が同調して減数分裂期を進行する条件を、二重鎖切断を蓄積する *rad50S* 変異株を用いて設定した。次いで、サザンハイブリダイゼーションにより、genomic DNAの塩基配列を決定できる系を確立している。また、*in vivo* フットプリントを行うためには、DNAに結合した蛋白質が解離しない条件、あるいは、プロテアーゼによる消化を受けない様な条件でのクロマチンの調整が必要で、核の調整、ヌクレアーゼの作用条件の設定を行っている。これらの条件が設定された時点で、二重鎖切断導入に関与する変異株でのフットプリントと、クロマチン構造を比較検討して、二重鎖切断導入に関与する遺伝子機能を同定する。

(3) 組換え遺伝子発現の制御: A. Alexeev, 小川智子

組換えに関与する蛋白質として、大腸菌のRecA蛋白質は、組換え反応の他に、DNA傷害時に誘導される20数個のSOS遺伝子(*recA* 遺伝子も含まれる)のリプレッサー、LexA蛋白質の不活化を行う。従って、*recA* 遺伝子の誘導にはRecA蛋白質が必要である(auto regulation)。真核生物でも、DNA傷害時に誘導される遺伝子が知られている。特に、*RAD51* 遺伝子や *RAD54* 遺伝子の上流には、DNA傷害時の誘導に関与する配列(DRE)や、細胞周期G1/Sでの誘導に関与する配列(MCB)と、減数分裂期での誘導に関与する配列が存在する。我々は、*RAD51* 遺伝子の誘導に関与する蛋白質の同定と、誘導時に

生じるクロマチン構造を、上記の3つの過程で解析して、転写の活性化因子とクロマチン構造について総合的に解析することを試みた。先ず、上流領域にある、これらの配列に、特異的な蛋白質の結合をメチルメタン・スルホン酸で処理した細胞のDNAの *in vivo* フットプリントで観察し、同時にクロマチン構造の変化を解析した。未処理の細胞では、ヌクレオソームが減数分裂の導入に関与する配列と Rad51 蛋白質の開始コドン ATG を覆うように存在し、その中間に存在する DRE 配列と MCB 配列は、ヌクレアーゼに感受性であった。さらに DNA に傷害を与えると、その感受性領域に蛋白質が結合し、ATG 上のヌクレオソームが移動した。

(4) 組換えを行う複合体の精製と活性の同定: 太田 力, 松田志麻子, 渡辺光一, 小川智子

酵母では、減数分裂期で、組換えが高頻度で起こり、この過程に関与する遺伝子は、その働く過程によって、3つのグループに分けられている。グループ(1)は、組換えを制御する遺伝子で、(II)は、組換えの開始である二本鎖 DNA 切断の導入に関与するもので、(III)は、相同 DNA の検索、対合と交叉に働くものである。これら3つのグループの遺伝子産物は、それぞれのグループに属する蛋白質間で、複合体を形成して機能することが、Two-Hybrid 法、共同的免疫沈降法、あるいは、生化学的解析から示唆されている。我々は、組換え開始と相同 DNA の組換えに関与する複合体の機能解明を目的として、下記の3点について解析を進めた。

(4-i) 二重鎖 DNA の切断に働く Mre11 蛋白質複合体の精製

組換えの開始反応である二重鎖切断に働く複合体の精製と、その機能の解析を行うために、Mre11 蛋白質を含む複合体の精製を試みた。Mre11 蛋白質の N 末、あるいは、C 末に FLAG-tag (7 個のアミノ酸) を付けた蛋白質を酵母で発現させ、細胞内で形成した複合体を、FLAG-tag に対する抗体カラムを用いて精製した。現在、この蛋白質複合体の *in vitro* での二重鎖 DNA の切断活性を調べている。

(4-ii) DNA 鎖の交換に働く Rad52 蛋白質の機能解析

出芽酵母の *RAD52* 遺伝子は、遺伝学的解析から、種々の組換え反応に必須な遺伝子として知られている。その蛋白質の活性として、相補的な単鎖 DNA をアニールする活性が見つかっているが、この活性が組換え反応でどのような役割を果たしているか、また、*Rad52* の機能が、このアニーリング活性そのものであるかは、わかっていない。我々は、*Rad52* 蛋白質の機能を同定するために、*rad52* 欠失変異株と同じ表現型を示す *rad52-1* 点突然変異遺伝子が作る蛋白質と、野生型蛋白質の活性の比較解析を計画した。大腸菌の大量発現系を用いて、これらの蛋白質を精製し、これらの蛋白質のアニーリング活性、*Rad51*、あるいは、RPA 蛋白質との複合体形成能、電子顕微鏡による複合体の形態を解析する。

(4-iii) DNA 鎖交換反応を行う Rad51 蛋白質を含む複合体の精製

相同組換えの DNA 鎖交換活性を持つ蛋白質複合体を精製し、その機能解析を行うことを目的として、相同 DNA の検索、対合と交叉に働く *Rad51*、および、*Rad51* と相互作用

する Rad52 蛋白質を含む、複合体の精製を試みた。Rad51, あるいは, Rad52 蛋白質の N 末に FLAG-tag を付け, 酵母で発現させ, 細胞内で形成された複合体を, FLAG-tag に対する抗体カラムで精製した。複合体中に Rad51, Rad52 の他に, RPA と 3 種類の蛋白質を同定した。現在, これらの蛋白質複体の DNA 鎖交換活性を調べている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ikeya T., Shinohara A, Sato S., Tabata S. and Ogawa T.: Localization of mouse Rad51 and Lim15 on meiotic chromosomes at late stages of prophase I. *Genes to Cells*, **1**, 379-389, 1996.
2. Matsuda S., Sakaguchi K., Tsukada K. and Teraoka H.: Characterization of DNA ligase from the fungus *Coprinus cinereus*. *European J. Biochem.*, **237**, 691-697, 1996.
3. Tanaka S., Livingstone-Zatchej, M. and Thoma, F.: Chromatin structure of the yeast *URA3* gene at high resolution provides insight into structure and positioning of nucleosomes in the chromosomal context. *J. Mol. Biol.*, **257**, 919-934, 1996.

(2) その他

1. 寺澤匡博, 池谷智淳, 小川智子: 減数分裂期組換えにおける組換え蛋白質の機能。蛋白質・核酸・酵素, **41**, 1535-1542, 1996.

(3) 発表講演

1. Ogawa T., Ikeya T., Shinohara M., Shinohara A. and Terasawa M.: Roles of Rad 51, Rad52 and Lim15 proteins in meiotic recombination. Keyston meeting: Replication and Recombination, USA, Feb.
2. Ogawa T., Ikeya T. and Terasawa M.: Dual nature of Rad51 and Lim15 proteins in meiotic recombination. EMBO Meeting: Recombination, France, May
3. Ikeya T., Sato S., Tabata S. and Ogawa, T.: Localization of mouse Rad51 and Lim15 proteins on meiotic chromosomes at late stage of prophase I. Gordon Research Conference: Meiosis, USA, June.
4. Ogawa T. and Shinohara A. Biochemical activities of Rad52 protein in homologous recombination. Gordon Research Conference: Meiosis, USA, June.
5. 小川智子: 減数分裂期組換え。第 19 回日本分子生物学会年会バイオテクノロジーセミナー, 札幌, 8 月。
6. 小川智子: 組換えの分子機構 日本組織培養学会シンポジウム, 横浜, 12 月。
7. 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. 遺伝子制御ネットワーク冬のワークショップ, 志賀高原, 1月.
8. 田中茂生: 減数分裂期組換えに関するクロマチン構造. 組換えワークショップ, 葉山, 7月.
 9. 田中茂生, 小川智子: 減数分裂組換えの二重鎖切断ホットスポット領域のクロマチンの構造変化. 第19回日本分子生物学会年会, 札幌, 8月.
 10. 田中茂生: クロマチンの構造変化を誘導する組換え蛋白質の同定と機能の解明. 核構造ワークショップ, 御殿場, 9月.
 11. 太田 力: 転写制御におけるヒト Swi 蛋白質複合体の役割. 組換えワークショップ, 葉山, 6月.
 12. 太田 力: 転写制御におけるヒト Swi 蛋白質複合体の役割. 第19回日本分子生物学会年会, 札幌, 8月.
 13. 太田 力: ヒト Swi 蛋白質複合体と核構造. 核構造ワークショップ. 御殿場, 9月.
 14. 太田 力: 転写制御におけるヒト Swi 蛋白質複合体の役割. DNA 修復ワークショップ, 仙台, 12月.
 15. 松田志麻子: *Coprinus* 減数分裂細胞に存在する DNA ポリメラーゼの特異的性質について. 第11回組換えワークショップ, 葉山, 7月.
 16. 松田志麻子: 担子菌類 *Coprinus cinereus* の DNA ポリメラーゼと DNA リガーゼ. 第19回分子生物学会年会, 札幌, 8月.
 17. 池谷智淳, 小川智子: マウス Rad51 と Lim15 蛋白質のシナプトネマ複合体での局在. 第19回分子生物学会年会, 札幌, 8月.
 18. 寺澤匡博, 小川智子: ユリ減数分裂期染色体上における, Rad51 と Lim15 蛋白質の分布. 第19回日本分子生物学会年会, 札幌, 8月.
 19. 渡辺光一: アカパンカビ (*Neurospora crassa*) の DNA 組換え修復に関する遺伝子, *mus-23* のクローニング. 第19回日本分子生物学会年会, 札幌, 8月.

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, 及び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, 総研大学院生浅野 敏, 技能補佐員鈴木恵美子であった. なお, 堀内は今年度末をもって定年退官となるので, これが最終年度である.

本年度の研究は, 文部省科学研究費一般研究(C)「大腸菌の SOS 応答における細胞増殖の制御機構」(東谷)の支援を受けた.

研究所の共同研究制度による研究としては, 「複製開始領域における DNA-蛋白質複合

体の視覚化」(上智大・廣川秀夫),「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」(福井医科大・犬塚 学),「大腸菌細胞分裂阻害蛋白質 SulAの生体内分解機構におけるFtsHプロテアーゼの役割」(熊本大・小椋 光),「イソプレノイドの「原核生物型」生合成経路の解明」(東邦大・藤崎真吾)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) 大腸菌の因子とプロモーター-10領域における非鋳型鎖との相互作用—繊維状ファージの複製開始機構から得られた新知見: 東谷篤志, 東谷なほ子, 堀内賢介

繊維状ファージ(f1, M13)のマイナス鎖の複製は、宿主RNAポリメラーゼがオリジン領域(約130塩基からなる2つのヘアピン構造を含む)特異的に結合して、プライマーRNAを合成することにより開始される。この反応には大腸菌主要 σ 因子である σ^{70} を必要とし、その認識機構においては転写時のプロモーター認識とかなりの類似性があることを、私達はこれまでに示してきた(文献1)。しかしながらオリジンの“-10”に相当する領域は、一本鎖状のDNA構造をとることが塩基配列上から推定され、この点がプロモーターとの顕著な違いであった。

本年度の研究においては、このファージオリジンに対するRNAポリメラーゼの親和性を*in vitro*の競合実験により調べた。その結果、オリジンへの親和性は*lacUV5*プロモーターに比べ約16倍高いことが明らかになった。またオリジンの“-10”に相当する領域(-12から-1まで)を完全な二本鎖状の*lacUV5*プロモーター-10領域(-12から-1まで)に置き換えた場合、この変異オリジンではRNAポリメラーゼの親和性が野生型に比べ約1%となり、オリジンとしての活性を消失した。次にこの完全な二本鎖状の*lacUV5*-10領域の鋳型鎖と非鋳型鎖の塩基配列をA \leftrightarrow CとG \leftrightarrow Tに片鎖ずつ置換し、もう一度一本鎖状のDNA構造に変化させた二種類の変異オリジンを作成した。その結果、非鋳型鎖が*lacUV5*プロモーター配列であるときにのみ、RNAポリメラーゼの親和性が野生型なりに回復し、オリジン活性を示した。また非鋳型鎖の“-10”に相当する領域の野生型ファージにおける塩基配列はAAAAACであり、この配列をプロモーターコンセンサス配列TATAATに置換してもオリジン活性を示したが、TTTTTTに置換すると活性が失われた。これらのことから、RNAポリメラーゼのオリジンに対する高親和性には“-10”相当領域の一本鎖構造とその非鋳型鎖のadenineを含む塩基配列が重要であることが明らかになった。この高親和性は、宿主菌にSOSストレスをかけることなく速やかに複製するためにファージが獲得した戦略であると言える。またプライマーRNA合成の開始と転写開始における反応温度の依存性を*in vitro*系で調べたところ、プライマーRNA合成はより低温下でも効率良く行われ、37°Cのときに比べ、23°Cのとき61%、16°Cのとき27%の活性をそれぞれ示したが、*lacUV5*プロモーターからの転写は、その37°Cのときに比べ、23°Cで12%、16°Cで2.1%と著しく低下した。このことは、RNA合成開始反応における鋳型DNAとRNAポリメラーゼによるopen complex形成が、ファージオリジンの場合、転写プロモーターに比べより低いエネルギーで形成されることを示唆している。ファージオリジンにおけるRNAポリメラーゼの高親和性は、“-10”相当領域の一本鎖構

造による open complex 形成のし易さに起因すると考察される。

以上の結果から、転写開始反応においても同様に σ 因子はプロモーター“-10 領域”の非鋳型鎖の一本鎖を認識している可能性をここに提唱したい。また上記の結果は文献 2 に発表した。

(1-ii) 繊維状ファージ複製開始蛋白の活性中心：浅野 敏，東谷篤志，堀内賢介

大腸菌繊維状ファージ (f1, fd, M13) のプラス鎖複製は rolling circle 型で行われ、その中心的な役割を果たすのはファージ自身がコードする 410 アミノ酸残基からなる複製開始蛋白 (gpII; gene II protein) である。複製は、gpII がプラス鎖 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。gpII はこの切断を起こす endonuclease 活性の他に、塩基配列特異的 DNA 結合能や DNA 鎖を連結する ligase 様活性などを持つ多機能蛋白質である。

これまでに我々は、gpII が nick 導入後の 5'-P 末端との間に、共有結合複合体 (covalent complex) を形成すること、covalent complex は非常に不安定であり反応開始直後には検出されるが、その後短時間のうちに検出されなくなること、gpII-DNA 間のリン酸ヂェステル結合は、Tyr 残基が形成していることを明らかにしてきた。

今年度、我々は、この Tyr 残基を特定するために変異蛋白の作成を行った。gpII の一次配列上には Tyr 残基が 15ヶ所存在する。そのうち一ヶ所が Phe 残基に置換した一連の変異 gpII を作成した。得られた 15 の変異体について、gene II に amber 変異をもつ変異ファージの増殖欠損を *in vivo* で相補するかを検定したところ、相補はするものの野生型に比べて弱いものが 3、42°Cでの温度感受性を示すものが 3、そして全く相補しないものが 1 という結果を得た。この全く相補しない変異体は、197 番目の Tyr 残基を Phe 残基に置換した gpII Y197F であった。そこで gpII Y197F を精製し、*in vitro* での origin DNA への結合能ならびに nicking 活性を測定したところ、野生型 gpII 同様に origin DNA に特異的に結合して DNA を湾曲はするが、nicking 活性は有しないことが明らかになった。

さらに、covalent complex を形成する Tyr 残基の位置を直接決定するために、covalent complex をプロテアーゼで分解した後、peptide-DNA complex を分離し、ペプチドシーケンシングを行う方法を試みた。まず gpII-DNA covalent complex を形成させ、トリプシンで消化した後、陰イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーを用いて、peptide-DNA covalent complex を分離した。この complex 中のペプチド鎖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た結果、covalent complex を形成しているのは、197 番目の Tyr 残基であることが確認された。

従って、*in vivo* 及び *in vitro* の実験結果は全て、197 番目の Tyr 残基が nicking 反応の活性中心であることを示している。

溶菌型ファージである phiX174 ファージの複製開始蛋白 (cisA) は、nick 導入後の 5' 末端と安定な covalent complex を形成することが知られている。これに対し、繊維状ファージの gpII は、自身の作用により、gpII と DNA の 5' 末端との間の共有結合を速や

かに解消する。この covalent complex の不安定性が複製サイクルの不連続性として表れ、宿主菌の増殖との調和のとれた DNA 複製を可能にするものと考えられる。

(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

われわれは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ことを見いだした。本年は昨年を引き続き、DnaA 蛋白のどの部分が DnaK 蛋白との結合にあずかっているのかを明らかにする目的で、DnaA 遺伝子の種々の欠失変異の単離を行った。dnaA 遺伝子内にある 8 種類の制限酵素切断部位を利用して、N 端側の 20(*EcoRI*)、および 72(*PvuII*) アミノ酸、C 端側の 16(*EcoRV*)、91(*SspI*)、136(*BsiWI*)、および 264(*Eco47III*) アミノ酸、および中央部の 41 (*BssHII*)、および 75(*PvuI*) 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。それぞれの欠失株からはほぼ予想通りのサイズの DnaA 蛋白が検出できるようになったが、N 端の欠失蛋白は溶菌後可溶性画分へ回収されるものの割合が非常に低く、殆どが不溶性の画分に見いだされた。不溶性の画分はグアニジンや尿素で可溶化できることが分かったが、DnaK との相互作用を調べるには変性処理を施した DnaA を使うのは適当でないと思われるので、他の蛋白との融合などによってより可溶性の高い変異蛋白を作成することを試みている。可溶性の変異蛋白質については、順次大量調製と精製を行いつつある。予備的な実験によれば、C 末端 16 アミノ酸の欠失した蛋白は野生型の DnaA と同じく陽イオン交換樹脂に吸着するが、C 末端 90 アミノ酸を欠失したものでは陽イオン交換樹脂には吸着せず、逆に陰イオン交換樹脂に吸着することが分かった。今後は変異蛋白質を精製して、野生型 DnaA 蛋白で知られている他の分子(ヌクレオチド、oriC DNA など)との相互作用とあわせて DnaK 蛋白との相互作用の有無を調べる予定である。

(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, PBP) 3 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、ペニシリンによる障害を受ける架橋酵素のドメインは PBP3 の C 末端側およそ半分にあると考えられる。架橋酵素ドメインの活性中心残基を置換した変異 PBP3 が野生型に対して優性負効果を示すことを利用し、N 末端およそ半分の部分に変異を誘起して、この優性負効果を打ち消すようになったものを分離した。そのような N 末端側遺伝子内サブレッサー変異の中には、野生型の C 末端側架橋活性ドメインと組み合わせた時に、ペニシリン結合能(架橋酵素活性の指標)は保持しているのに隔壁形成が行えない不活性 PBP3 となるものがあった。その一つは N 末端から 41~44 番目の Arg-Val-Ala-Trp の 4 残基の欠失変異であった。一方、PBP3 の N 末端部分を置換する実験に供する目的で、PBP3 の遺伝子内の制限酵素 *MtuI* 切断部位に *EcoRI* 切断配列を含む 12 塩基対を挿入(42 番目の Val の後に Asn-Ser-Arg-Val の 4 残基の挿入に相当)したところ、これもペニシリン結合能はあるのに隔壁形成が行えない不活性 PBP3 となり、活性中心置換

をもつ C 末端側架橋活性ドメインと組み合わせるとその優性負効果を打ち消した。これら欠失・挿入変異は、ペニシリン結合能を指標に分離されてきた既存の架橋活性欠損変異と異なり、PBP3 同士或いは他の細胞分裂の働く蛋白と複合体を形成する活性に欠損が生じているのかもしれない。欠失・挿入の位置は、疎水性残基が連なっていて細胞質膜貫通領域とされている 24~48 番目の配列のペリプラズムに近い側にあるが、細胞質膜の通過は正常で、ペリプラズム側で起こる C 末端 11 残基のプロセッシングを受ける。41 番目の Arg は疎水性残基が連なる中にある荷電残基であることに注目して他の 19 種のアミノ酸に置換してみたが、隔壁形成機能は失われなかった。42~44 番目の残基あるいは疎水性領域の長さが PBP3 の機能に重要である可能性を考えている。

(2-ii) 細胞壁合成・細胞分裂遺伝子クラスターの最初の 2 つの遺伝子: 原 弘志, 堀内賢介

大腸菌の染色体地図上 2 分の領域に、PBP3 の遺伝子 *ftsI* も含め細胞分裂や細胞壁ペプチドグリカン生合成に働く必須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る。このクラスターの最初にプロモーターがあって *ftsW* まで 9 つの遺伝子の発現に働いており、染色体上のこのプロモーターを破壊して替りに *lac* プロモーターを挿入した菌株は *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 なしで生育できる。クラスターの最上流の 2 つの遺伝子 (DNA データベースで *orfC*・*orfB* と名付けられている) は機能が知られていないが、このクラスターの遺伝子とその配置が大腸菌・枯草菌・*Haemophilus influenzae* の間で染色体の他の部分に比べて例外的によく保存されていることから、おそらく細胞分裂かペプチドグリカン生合成に必須の働きをしている遺伝子だろうと想像されてきた。ところが、3 番目の遺伝子 *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 なしでも生育できた。3 番目・4 番目の *ftsL*・*ftsI* は必須遺伝子であることが証明されているが、実際 *ftsI* から或いは 5 番目の *murE* から *ftsW* までを発現しているプラスミドでは IPTG なしでは生育できなかった。非誘導状態の *lac* プロモーターによる低い発現量で十分である可能性もあったので、最終的に確認するため染色体上で *orfC* と *orfB* にまたがる *PvuII* 断片を薬剤耐性遺伝子と置換してみたところ、正常に生育したので、この 2 つの遺伝子は必須ではないと結論した。

(2-iii) *spr* 遺伝子: 大淵裕子¹, 中小路雅代¹, 石原充郎¹, 中沢康郎¹, 西村行進¹, 原弘志, 堀内賢介 (¹東邦大学理学部)

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、それをサプレッスする変異を多数分離するとすべて染色体地図上 47 分付近にマップされた。この *spr* 変異は *prc*⁺ の背景では再び低浸透圧で高温感受性を現わした。整列入フェージコレクションの中から *spr* を形質導入できるものを見出し、それから *spr* 遺伝子をサブクローン化して、その DNA 塩基配列を決定した。予想される遺伝子産物は 19 kDa のリポ蛋白であり、高コピー数のプラスミドにク

ローン化する膜分画に約 20 kDa の蛋白が過剰発現しているのが検出できた。この蛋白は *prc* 欠失変異株では更に多量に検出され、Prc プロテアーゼによって分解されるのだろう。*spr* 変異株の一つでは、この遺伝子のすぐ上流に *ISI* が挿入しており、Spr 蛋白の発現量が著しく低下していた。Spr 蛋白のアミノ酸配列は *Listeria* 属の分裂隔壁形成後の細胞分離にも関与する p60 蛋白や *Bacillus sphaericus* のペプチドグリカンのペプチド側鎖分解酵素と高い相同性を示し、また、*spr* 変異株の低浸透圧下での高温感受性はペプチドグリカンのペプチド架橋分解酵素である PBP7 の過剰生産によってサプレスされ、このサプレッションに架橋分解活性が必要であること、低浸透圧で高温の条件に移したとき、*prc* 欠失変異 (Spr 蛋白が分解されずに過剰に存在する) では溶菌し、*spr* 変異株では増殖を停止することなどから、Spr 蛋白も細胞壁形成に関与している可能性があると考えている (文献 3)。

(2-iv) ペプチドグリカンのグリカン重合酵素: 原 弘志, 堀内賢介

PBP1a・1b は C 末端側にペニシリン感受性ペプチド架橋酵素活性ドメイン、N 末端側にペニシリン非感受性グリカン重合活性ドメインをもつ双機能ペプチドグリカン合成酵素であり、1a・1b の少なくとも一方が生育に必須で、一方のみ欠失しても生育できるが、両方の欠失は致死性である。私たちは以前、PBP1a・1b 以外に、架橋活性をもたない単機能グリカン重合酵素が存在することを見出し、この酵素を精製して性質を調べた。最近になって、大腸菌のゲノム DNA 塩基配列決定が進み、PBP1a・1b の N 末端ドメインと高い相同性を示すが、C 末端ドメインに相当する部分をもたない蛋白をコードする遺伝子 *mgt* が見出され、クローン化されて、その産物がグリカン重合活性をもつことが示された。そこで、染色体地図 72 分に位置するこの遺伝子の内部に薬剤耐性遺伝子を挿入して破壊してみたが、そのような株も正常に生育し、この遺伝子は必須でないことが判った。*mgt* 遺伝子産物と私たちの精製したグリカン重合酵素は、分子量や 2 価金属イオン要求性に少し違いがあるので、同一のものであるか否かはまだ定かではない。大腸菌は 2 つ以上の単機能グリカン重合酵素をもつのかもかもしれない。

(2-v) 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—その 2: 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)

大腸菌の SOS 応答においては、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 の一過的な産生が生じる。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、私達の研究も含めてこれまでに明らかにされてきた。また昨年までの私達の SulA の欠失変異を用いた機能領域の分子解剖により、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、ならびに SulA の C 末端から 8 残基以上の欠失で Lon プロテアーゼによる分解を受けなくなることを明らかにしてきた。

本年度は、SulA の N 末端 30 番目から 130 番目までにおける全ての塩基性アミノ酸と leucine 67, glutamic acid 76, tryptophan 87, valine 115, glycine 117, glutamic acid

126 の 15 箇所をそれぞれ alanine に置換した変異体を作成し、それら置換変異体の細胞分裂阻害活性を調べた。その結果、arginine 62, leucine 67, tryptophan 77, lysine 87 の 4 箇所の alanine 置換変異体は細胞分裂阻害活性を失うことが明らかになった。arginine 39, lysine 72, arginine 75, glutamic acid 76, histidine 98, arginine 105, arginine 108, valine 115, glycine 117, glutamic acid 126, histidine 128 の 11 の置換変異体においては分裂阻害活性が認められた。すなわち SulA の中央部の 4 種のアミノ酸残基は分裂阻害活性に重要な役割をすることが示唆された。

また SulA の C 末端の数残基が Lon プロテアーゼによる SulA の分解および認識においてどのような役割をするのか調べる目的で、MBP-SulAN94 (SulA の N 末端 94 番目から C 末端 169 までの MBP 融合蛋白質) と MBP-SulAN150 (N 末端 150 番目から C 末端 169 まで) とを新たに作成し、これらを基質として *in vitro* 精製系で Lon プロテアーゼによる分解反応について検討を行った。その結果、両融合蛋白質はもはや細胞分裂阻害活性は失っていたが、MBP-SulAN94 は野生型の MBP-SulA と同様に Lon プロテアーゼにより効率良く分解された。一方 MBP-SulAN150 は Lon プロテアーゼによる分解を全く受けなくなった。次にそれぞれの融合蛋白質と Lon プロテアーゼとの分解に先立つ複合体形成能を、5 分間という短い時間での incubation 後、amylose 樹脂に展開することにより同定した結果、MBP-SulA, MBP-SulAN94 ならびに MBP-SulAN150 は Lon プロテアーゼとの安定な複合体を形成することが確認された。またこの複合体形成には ATP を要求しなかった。MBP-SulAC148 (C 末端 149 番目から 169 までの欠失) および MBP-LacZα においては、Lon プロテアーゼによる分解もこれら複合体形成も認められなかった。以上の結果から、SulA の C 末端数残基が Lon プロテアーゼによる認識、複合体形成において重要な働きをし、そして分解においても必須であるが、それだけでは十分では無いことが明らかになった。今後この C 末端の数残基の構造決定が、Lon による基質の認識と結合を調べる上での糸口になることが期待される。これまでの結果を文献 4 に発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Higashitani N., Higashitani A., Guan Z. W. and Horiuchi K.: Recognition mechanisms of the minus-strand origin of phage f1 by *Escherichia coli* RNA polymerase. *Genes to Cells*, 1, 829-841, 1996.
2. Higashitani A., Higashitani N. and Horiuchi K.: Minus-strand origin of filamentous phage versus transcriptional promoters in recognition of RNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, in press.
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, 2(1), 63-72, 1996.

4. Higashitani A., Ishii Y., Kato Y. and Horiuchi K.: Functional Dissection of a Cell-Division Inhibitor SulA of *Escherichia coli* and its negative regulation by Lon. Mol. Gen. Genet., in press.

(2) 発表講演

1. Higashitani A.: Molecular mechanism of SOS response in *Escherichia coli*. The Fourth Asian Conference on Transcription. Hayama, Kanagawa, April.
2. Higashitani A.: Initiation of DNA replication in filamentous phage. The Second Indo-Japan Workshop on Molecular Biology. Symposium. Hayama, Kanagawa, March.
3. 浅野 敏, 東谷篤志, 堀内賢介: 大腸菌繊維状フェージ複製開始蛋白の活性中心の探索. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
4. 大淵裕子, 中小路雅代, 石原充郎, 中沢康郎, 西村行進, 原 弘志, 堀内賢介: 大腸菌の Prc プロテアーゼ欠失による高温感受性増殖能をサプレッする遺伝子 *sprA* の同定. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
5. 原 弘志, 堀内賢介: 大腸菌のペニシリン結合蛋白質 3 (PBP3) の新しいクラスの変異. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
6. 東谷篤志, 東谷なほ子, 堀内賢介: 繊維状フェージのマイナス鎖複製開始機構: 大腸菌 RNA ポリメラーゼによるオリジンの認識. The 12th Workshop on DNA Replication and Chromosome Partition, Wakayama, November.
7. 浅野 敏, 東谷篤志, 堀内賢介: 大腸菌繊維状フェージ複製蛋白の活性中心の探索. The 12th Workshop on DNA Replication and Chromosome Partition, Wakayama, November.

B-c. 細胞質遺伝研究部門

(1) 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 期の間で最も高い発現を示した。詳細は文献 1 に発表した。

上記の方法では、ES 細胞をレチノイン酸処理して分化誘導させ、その前後でマーカー遺伝子を発現するクローンを単離した。しかし、未知遺伝子を発見する効率が悪いことが示唆された。また、このベクターでは遺伝子をクローニングする効率の悪いことも示された。遺伝子トラップ法を用いている理由の一つは、初期発生に関与する未知遺伝子の単離であるので、それに適したスクリーニング系として胚様体形成系を利用することにした。この系が果たして正常の胚発生を掃除しているかを件とするため、いくつかの内胚葉特異的遺伝子のマーカーを用いて、発現パターンを解析した。その結果、類似していること、スクリーニング系として用いうる事が明らかとなった。詳細は文献 2 に発表した。

(2) Cre-loxP システムによる遺伝子導入: 山村 研一

Cre-loxP システムは本来遺伝子の挿入と削除を行なうが、哺乳類細胞内ではもっぱら削除することしか行なわれていない。その理由は、切り出された loxP を含む断片が核内で拡散してしまい、実際の反応を行えないからである。そこで、loxP 配列に変異を導入し、いったん組込まれば Cre によって削除されなくすれば、挿入に傾いた反応を起こされうると考え、実験を行なった。その結果、事実 ES 細胞中で 10% 程度の効率で遺伝子を導入できることを明らかにした。詳細は印刷中の文献 3 に発表した。

(3) 三次元蛍光顕微鏡システムの開発: 平岡 泰

蛍光顕微鏡を基盤としてコンピューター制御の三次元光学顕微鏡システムを開発した。このシステムは、蛍光顕微鏡・冷却 CCD・コンピューターから成り、単一のワークステーションで三次元画像化・画像処理・画像解析をすべて行うことができる。これを用いれば、解像度の高い三次元画像が得られ、細胞内の微細な構造を解析することができる。

さらに、生細胞で特定分子を蛍光画像化する技術の開発を行った。生細胞で特定の分子を蛍光染色する方法として我々は次の 3 つの方法を組み合わせ用いている。(1) DNA 特異的蛍光色素 (2) タンパク質への化学的蛍光標識 (3) 光クラゲの蛍光タンパク質 green fluorescent protein (GFP) との融合遺伝子。

(4) 減数分裂における染色体構築の解析: 平岡 泰

分裂酵母の減数分裂における染色体運動の様子を生細胞で観察した。2 つの核が融合した後、染色体が細胞内を動き回るのが観察された。この動き回る染色体に対し、セントロメアとテロメアの位置を決定したところ、驚いたことに、動きの先端にはテロメアが位置していた。増殖時の分裂運動では、セントロメアが引っ張られるのはよく知られている。しかし、テロメアが運動の先端にあるという構造は今まで全く知られていなかった。この様な特殊な構造が、減数分裂の初期にのみ現れることから、テロメアが減数分裂に重要な役割を果たしていると考えられる。運動の先導部位がセントロメアからテロメアに変わる過程を突然変異株を用いて詳細に解析した。(Chikashige *et al.*, EMBO J., in press)

(5) ヒト培養細胞の有糸分裂における染色体構築の解析: 平岡 泰

ヒト培養細胞において染色体構築と動態の解析を行った。まず、固定試料で、高解像三次元解析を行った。焦点面を段階的に移動させて得た 3 次元画像からコンピューター画像

処理で非焦点情報を除去することにより、解像度の大幅な改良がなされた。また、蛍光色素を共有結合させたタンパク質を細胞に導入することで、生きたままの細胞で特定の細胞構造を蛍光染色することができる。(Hiraoka and Haraguchi, *Chromosome Research*, **4**, 173-176, 1996) この方法を用いて細胞分裂時の染色体と微小管のダイナミックな変化を生きた細胞で調べた。さらに、抗癌剤などの薬理効果を直接観察することも可能になった。この方法は、抗癌剤だけでなく様々な生理活性物質に応用でき、医学・薬学での今後の進展が期待される。

研究業績

(1) 原著論文

1. 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*, **169**, 197-201, 1996.
2. Abe K., Niwa H., Iwase K., Takiguchi M., Mori M., Abe S., Abe K. and Yamamura K.: Endoderm-specific gene expression in embryonic stem cells differentiated to embryoid bodies. *Exp. Cell Res.*, **229**, 27-34, 1996.
3. Araki K., Araki M. and Yamamura K.: Targeted integration of DNA using mutant lox sites in embryonic stem cells. *Nucleic Acid Res.*, in press.
4. Hiraoka Y. and Haraguchi T.: Fluorescence imaging of mammalian living cells. *Chromosome Research*, **4**, 173-176, 1996.
5. Kikuchi S., Sonobe K., Shinohara D., Ohyama N., Mashiko S. and Hiraoka Y.: A double-axis microscope and its three-dimensional image position adjustment based on an optical marker method. *Optics Commun.*, **129**, 237-244, 1996.
6. Chikashige Y., Ding D.-Q., Imai Y., Yamamoto M., Haraguchi T. and Hiraoka Y.: Meiotic nuclear reorganization: switching the position of centromeres and telomeres in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *EMBO J.* (in press).

(2) その他

1. 山村研一: 染色体への遺伝子導入—疾患モデルによる解析—。蛋白質・核酸・酵素, **41**, 2397-2406, 1996
2. 山村研一: 遺伝子の機能の検査法—トランスジェニックマウス—。最新内科学大系, **2**, 39-43, 1996
3. 平岡 泰, 原口徳子: 生細胞の蛍光動画像。Medical Imaging Technology, **14**, 9-13, 1996.
4. 原口徳子, 平岡 泰: 蛍光顕微鏡による染色体の生細胞観察と三次元画像化。日本臨床, **54**, 276-284, 1996.
5. 平岡 泰, 原口徳子: 3次元蛍光顕微鏡システムによる染色体の核内構築とダイナ

ミクスの解析. 蛋白質・核酸・酵素, 41, 102-110, 1996.

6. 平岡 泰 (分担執筆)「ネオ生物シリーズ・酵母」第3章 (柳田充弘編) 共立出版, 東京, 1996.
7. 平岡 泰, 原口徳子 (分担執筆)「臨床染色体診断法」(古庄敏行ら編) 金原出版, 東京, 1996.

(3) 発表講演

1. 山村研一: 疾患解析におけるマウスの戦略的位置付け. 第69回日本内分泌学会学術総会 (教育講演), 大阪, 7月.
2. 山村研一: トランスジェニック動物の将来への展望と技術. 日本実験動物動物技術者協会第30回総会 (特別講演), 沖縄, 7月.
3. Chikashige Y., Ding D.-Q., Yamamoto A., Haraguchi T. and Hiraoka Y.: Dynamics of nuclear and microtubules during fission yeast meiosis. CSH, New York, Mar. 15, 1996.
4. Hiraoka Y., Haraguchi T., Kaneda T. and Koujin T.: Multiple-wavelength fluorescence imaging of chromosomes and cellular structures in living mammalian cells. CSH, New York, Mar. 1996.
5. Hayashi A., Ogawa H. and Hiraoka Y. Arrangement and dynamics of chromosomes during meiosis in yeast *S. cerevisiae*. Gordon Research Conference, New Hampshire, June 12, 1996.
6. Hiraoka Y.: Nuclear reorganization in fission yeast meiosis. Gordon Research Conference, New Hampshire, June 12, 1996.
7. Hiraoka Y. and Haraguchi T. (招待講演): A computerized fluorescence microscope system for three-dimensional multiple-wavelength imaging of cell structures. 10th International Congress of the Histochemistry and Cytochemistry, Kyoto, Aug. 24, 1996.
8. Hiraoka Y. and Haraguchi T. (招待講演): Multiple-wavelength fluorescence imaging of chromosomes and cellular structures in living cells. 10th International Congress of the Histochemistry and Cytochemistry, Kyoto, Aug. 23, 1996.
9. Ding D.-Q., Chikashige Y., Yamamoto A., Haraguchi T. and Hiraoka Y.: Microtubule-mediated nuclear movement in meiotic prophase in fission yeast. 6th International Congress on Cell Biology/36th American Society for Cell Biology, San Francisco, Dec.
10. Haraguchi T., Kaneda T., Koujin T. and Hiraoka Y.: Dynamics of nuclear structures and their nuclear transport activity visualized in living mammalian cells by fluorescence microscopy. 6th International Congress on Cell Biology/

- 36th American Society for Cell Biology, San Francisco, Dec. 7, 1996.
11. Haraguchi T., Kaneda T. and Hiraoka Y.: Multiple-wavelength fluorescence imaging of chromosomes and microtubules in living mammalian cells. 6th International Congress on Cell Biology/36th American Society for Cell Biology, San Francisco, Dec.
 12. Kinoshita M., Haraguchi T., Hiraoka Y., Mizoguchi A., Ide C., Kumar S. and Noda M. Nedd5, a mammalian septin, is implicated in cytokinesis, stress fiber and focal adhesion 6th International Congress on Cell Biology/36th American Society for Cell Biology, San Francisco, Dec. 7, 1996.
 13. Hiraoka Y. (招待講演): Telomeres take the place of centromeres in fission yeast meiotic prophase. 6th International Congress on Cell Biology/36th American Society for Cell Biology, San Francisco, Dec. 7, 1996.

C. 個体遺伝研究系

C-a. 発生遺伝研究部門

当研究部門では、ヒドラグループが日本産チクビヒドラ (*Hydra magnipapillata*) を用い、動物発生の基本原理の研究を進めている。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優れたモデル動物である。従来は、発生過程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の増殖分化の制御機構の研究を進めてきた。最近では、主として、発生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、単離ペプチドの機能を明らかにする研究を進めている。また平成8年に定年退官した杉山勉教授の後任として広海健教授が着任し、ショウジョウバエを用いて神経系の発生機構の研究を開始した。

本年度の教官メンバーは、10月1日付けで着任し、教授; 広海健、ヒドラグループの助教授; 藤沢敏孝、助手; 清水 裕、助手; 服田昌之の4名である。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平成8年3月に博士号を取得し、理化学研究所に就職した。研究生の岸本康之は5月からドイツ・チュービンゲンのマックスプランク研究所に博士研究員として留学した。また、大韓民国から廉勝植が4月から研究生としてヒドラの研究を始めた。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¹, 宗岡洋二郎², 高橋俊雄², 小泉 修³ (石巻専修大学理工学部, ²広島大学総合科学部, ³福岡女子大学人間環境学部)

我々はヒドラからペプチド性のシグナル分子を大規模に分離し、その構造と機能を解析するプロジェクトを推進している。そのために、これまで試みられたことのない、全く

新たなアプローチを採用した。その概要は以下の通りである。(1) 大量のヒドラからペプチドを抽出し、スクリーニングは一切行わず、5-8 段の HPLC で順次単離する。(2) 単離したペプチドを用いてはじめて 1 次のスクリーニングを行う。そのために Differential Display PCR (DD-PCR) 法 (Liang & Pardee, 1992) を用い、ペプチドに遺伝子発現パターンを変化させる活性があるか否かを調べる。活性を示すものをシグナル分子と規定する。(3) シグナル分子と認められたものは、アミノ酸配列の決定を行い、続いて、化学合成する。(4) 合成ペプチドを用いて、生体内作用 (形態形成、細胞増殖、細胞分化、神経作用等) の検査を行う。(5) 合成ペプチドを抗原として抗ペプチド抗体を得、ペプチドの生体内分布、また機能阻害実験などを通して、ペプチドの機能を明らかにする。(6) ペプチドをコードする遺伝子、ペプチドに反応する遺伝子の分離を行う。

この方法で得られた結果を要約すると以下の如くである。(1) ヒドラ組織 (150 g 及び 500 g = 約 100 万匹) から 339 のオリゴペプチドを単離した。(2) このうち 136 について DD-PCR 法で遺伝子発現に影響を与えるか否かを調べたが、47 (35%) が影響を与えた。即ち、調べたペプチドの約 1/3 がシグナル分子と認定された。(3) これらのペプチド及び、多量に存在するペプチド (186) は DD-PCR 法を経ないで、構造解析に供し、197 個につきアミノ酸配列を決定した。(4) 生体内作用を調べるため、30 種のペプチドを化学合成した。(5) このうち生物活性を見いだしたものは次の 14 種である。i) ヒドラの親個体からの芽体分離を促進し (筋-神経接合部で働く神経伝達物質と考えられる)、かつ、カイウミヒドラ幼生の変態を促進するペプチド同族体 (LWamides) 7 種。ii) ヒドラの体幹を収縮させる神経伝達物質と考えられる新ペプチド 1 種。iii) 神経細胞分化を抑制するペプチド同族体 (PW peptides) 4 種。これらもこれまでに全く知られていないペプチドである。iv) 神経細胞分化を促進するペプチド 1 種。v) ヒドラの足部形成に関わる形態形成因子と考えられるペプチド 2 種類。

(2) ミドリイシサンゴの進化遺伝学的解析: 服田

サンゴ礁は多種多様な生物の棲息環境となっており、熱帯浅海の生態系基盤として重要な存在である。しかしサンゴ礁を形成する造礁性サンゴ自体の遺伝的多様性については全く明らかにされていない。

造礁性サンゴのなかでも主要なミドリイシ属サンゴは種数が多く形態変化に富んでいるが、初夏の満月前後の夜に同一海域で同時刻に数十種が一斉に産卵することが知られている。この一斉産卵によって、雑種化を引き起こす可能性と、逆に、地理的隔離の無いままに種分岐してきた可能性とが考えられ、種分化を考えるうえで大きな問題を秘めている。

そこでミドリイシサンゴ 12 種について、雑種をつくり得るかどうかを、体系的な交配実験によって確かめ生殖隔離の実態を明らかにした。その結果複数の種間で交雑が見られた。幼生の遺伝子診断によって確かに種間交雑であることを確かめた。雑種を作る種の組み合わせによってこれまでに 4 つの生殖グループが見つかった。

次いで交配に用いた群体を対象に、核にコードされるミニコラゲン遺伝子の DNA 塩基配列の違いに基づく遺伝的多様性と種間系統関係を推定した。雑種を作った種の間では遺

伝子塩基配列の系統関係が入り乱れ、生殖グループがひとつの種のようにまとまった。生殖グループ内では雑種形成による遺伝子移入が起こっていると考えられた。

ミドリイシサンゴは頻繁な雑種形成をする複合種からなり、一斉産卵という独特な生殖様式を通して雑種化によって形態等の多様性が高くなっていると考えられる。

この研究は阿嘉島臨海研究所と東京水産大学と共同で行なった。

(3) ショウジョウバエ神経系発生機構の解析

神経系発生過程では多くの種類のニューロンやグリアがゲノムの情報に基づいて正確に生み出される。複雑な神経回路形成も、回路を構成するニューロンが機能面だけでなく発生過程でも分子的に多種多様であることに依存している。我々はショウジョウバエの胚中枢神経系及び成虫複眼をモデル系としてを用いて、神経系発生過程におけるニューロン運命決定機構・神経回路形成機構の研究を行っている。この2つの系はニューロンの多様性の点でそれぞれ中枢・末梢神経系の中でも最も単純な系であり、単一の同定された細胞の分化を解析することが可能である。ニューロンの個性を制御する遺伝子を同定することを目的として、エンハンサートラップスクリーンを行い、胚中枢神経系及び成虫複眼の特定のニューロン或いはその前駆細胞でのみ発現している遺伝子を多数同定した。これらの遺伝子の遺伝学的・分子生物学的解析について報告する。

(3-a) 複眼光受容ニューロンの運命を決定する遺伝子 *seven-up* の同定と発生学的解析: S. Kramer¹, S. West¹, 広海 健 (¹プリンストン大学)

seven-up 遺伝子は個眼の8個の光受容ニューロンのうち特定のニューロン種でのみ発現している。*seven-up* 遺伝子の突然変異の解析により *seven-up* が複眼形成中、2種のニューロン間の遺伝的スイッチとして働くことを示した。*seven-up* 遺伝子は進化的に極めてよく保存された核リセプターをコードする。ショウジョウバエの SEVEN-UP と COUP と呼ばれるヒトのホモログは DNA 結合領域、リガンド結合領域いずれも 93% 以上の相同性を示す。このことはショウジョウバエとヒトの蛋白が共に同じ、もしくは似た塩基配列を認識し、リガンド結合領域が結合する分子(リガンド或いは他の蛋白)もヒトとショウジョウバエの間で保存されていることを強く示唆している。リセプター-リガンド相互作用の発生過程での生物学的意義を解析するには、リセプターの活性を生体内で観測することが必要である。この目的で、現在我々はキメリックリセプターシステムと呼ばれるリガンド結合領域の転写制御活性を生体内で測定する方法を開発している。この方法を用いればリガンドの分子的性質に関する知識が全くなくてもリガンド(或いはリガンド結合領域の機能を調節する他の分子)の時間的・空間的分布に関する情報が得られると期待される。

(3-b) 複眼ニューロン分化を阻害する新しい ETS 蛋白 EDL の同定: 山田琢磨¹, 広海 健 (¹プリンストン大学)

ショウジョウバエ複眼光受容細胞のニューロンへの分化は、細胞表面のリセプターチロシンキナーゼの情報を核内の転写因子に伝える RAS/MAPK シグナル伝達経路が担っている。我々は個眼の小数個の細胞で発現するエンハンサートラップシステムから出発して、新

しい ETS 蛋白 EDL を同定した。他のすべての ETS 蛋白とは異なり EDL は保存された ETS ドメインと呼ばれる DNA 結合領域を持たないが、ETS ファミリーの多くに存在する POINTED ドメインと呼ばれる第二の保存されたドメインを有している。EDL を複眼光受容細胞で強制発現させると複眼光受容細胞のニューロン分化が阻害される。これらの結果は EDL 蛋白が RAS/MAPK シグナル伝達経路の出力を調節する働きを持つことを示している。

(3-c) R7 光受容細胞分化における *klignon* 遺伝子の機能: S. Butler¹, 広海 健 (1プリンストン大学)

個眼の 8 個の光受容細胞のうち、R7 前駆細胞は唯一の UV 受容ニューロンとして他の光受容ニューロンとは異なる神経細胞に分化する。エンハンサートラップ法により我々は複眼発生中に R7 ニューロンで特異的に発現する系統を見出し、それをもとに *klignon* 遺伝子をクローニングした。KLINGON 蛋白は免疫グロブリン (Ig) ファミリーのメンバーで 3 つの Ig ドメインを有し、膜と GPI 結合する。培養細胞系では KLINGON 蛋白はホモフィリックな細胞接着分子として働く。*klignon* 遺伝子の遺伝解析により *klignon* 遺伝子が R7 光受容細胞のニューロン分化に寄与していることを示した。(文献 2)

(3-d) 中枢神経系で発現する新しい bHLH 遺伝子 *biparous* の同定: A. Bush¹, M. Cole¹, 広海 健 (1プリンストン大学)

多くの動物種において筋肉、神経、上皮、等の特定の細胞系列への分化は bHLH クラスの転写因子の働きを必要とすることが知られている。M. Cole 研究室との共同研究によって我々はショウジョウバエ中枢神経系で発現する新しい bHLH 遺伝子 *biparous* を同定した。今までに同定されている bHLH 遺伝子とは異なり、*biparous* は神経系発生後期にまで継続して発現する。lacZ 融合遺伝子を用いて *biparous* を発現する細胞の分化を観察した結果、*biparous* はグリア・ニューロン両方の前駆細胞で発現していることが判明した。(文献 1)

(3-e) FRT/FLP システム及び GAL4/UAS システムを用いた細胞系譜解析法の開発: 伊藤 啓², 山本大輔², 広海 健 (2ERATO 山本行動制御プロジェクト)

中枢神経系発生過程ではニューロblastが分裂を繰り返すことによって多数のニューロンをうみだす。ニューロンの多様性生成過程に置ける細胞系譜・細胞間相互作用の寄与を調べるためにはニューロblastの細胞系譜を解析することが必要である。我々は FRT/FLP システムと GAL4/UAS システムを組み合わせた新しい細胞系譜解析法を開発した。このシステムでは、発生過程の任意の時期に単に熱ショックを与えるだけで少数個のニューロblastで GAL4 を恒常的に作り出す遺伝子を構成することによって細胞をマークし、その子孫を GAL4 オペレータである UAS につないだ各種指示遺伝子を用いて観察することができる。この方法を用いて成虫脳の mushroom body の細胞系譜を解析し、mushroom body が同一の発生能力を持つ 4 個の mushroom body ニューロblastの子孫からなる 4 重構造であることを明らかにした。(文献 3)

(1) 原著論文

1. Bush A., Hiromi Y. and Cole M. D. Biparous: a novel bHLH gene expressed in glial and neuronal precursors in the embryonic *Drosophila* nervous system. *Dev. Biol.*, in press.
2. Butler S. J., Ray S. and Hiromi Y. Klingon, a new member of the *Drosophila* immunoglobulin superfamily, is required for the development of the R7 photoreceptor neuron. *Development*, in press.
3. The *Drosophila* mushroom body is a quadruple structure of clonal units each of which contains a virtually identical set of neurones and glial cells. Ito K., Awano W., Suzuki K., Hiromi Y. and Yamamoto D. *Development*, in press.
4. Hobmayer B., Hatta M., Fujisawa T. Holstein T. and Sugiyama, T. (1996). Identification of a Hydra homologue of the β -catenin/placoglobin/armadillo gene family. *Gene*, **172**, 155–159.
5. Takahashi T., Muneoka Y., Lohmann J., Lopez de Haro, Bosch T.C.G., David C. N., Bode, H. R., Koizumi, O., Shimizu H., Hatta M., Fujisawa T. and Sugiyama T. Systematic isolation of peptide signal molecules regulating development in Hydra: I. LWamide and PW families. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, in press.
6. Takahashi T., Ohtani M., Muneoka Y., Arimoto S., Hatta M., Shimizu H., Fujisawa T., Sugiyama T. and Koizumi O. Structure-activity relation of LWamide peptides synthesized with a multipeptide synthesizer. *Peptide Chemistry*, in press.
7. Shimizu H, Bode P. M., and Bode H. R. Patterns of oriented cell division show that epithelial cells rearrange continuously in both layers of adult hydra. *Dev. Dynamics*, in press.

(2) 発表講演

1. 杉山 勉, 清水 裕, 服田昌之, 藤沢敏孝, 高橋俊雄, 宗岡洋二郎, 小泉 修: ヒドラのペプチド性シグナル分子の大規模スクリーニングと機能解析 I. ペプチド分離とスクリーニング 日本発生生物学会第 29 回大会, 京都, 5 月.
2. 藤沢敏孝, 小泉 修, 清水 裕, 服田昌之, 杉山 勉, 高橋俊雄, 宗岡洋二郎: 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 II. 神経細胞分化を抑制する PW ファミリー 日本発生生物学会第 29 回大会, 京都, 5 月.
3. 清水 裕, 藤沢敏孝, 服田昌之, 杉山 勉, 高橋俊雄, 宗岡洋二郎, 小泉 修: ヒドラのペプチド性シグナル分子の大規模スクリーニングと機能解析 III. 芽体の分離を促進する GLW-NH₂ ファミリー 日本発生生物学会第 29 回大会, 京都, 5 月.
4. 服田昌之, 藤沢敏孝, 清水 裕, 杉山 勉, 高橋俊雄, 宗岡洋二郎, 小泉 修: ヒドラのペプチド性シグナル分子の大規模スクリーニングと機能解析 IV. 足部活性

化ペプチドの同定 日本発生生物学会第 29 回大会, 京都, 5月.

5. 藤沢敏孝: ヒドラの発生分化を制御するペプチド性シグナル分子. 日本動物学会第 67 回大会関連集会, 札幌, 9月.
6. 高橋俊雄, 大谷政博, 宗岡洋二郎, 相本三郎, 服田昌之, 清水 裕, 藤沢敏孝, 杉山 勉, 小泉 修: イソギンチャク体壁縦走筋における LWamides の構造—活性関係. 日本動物学会第 67 回大会, 札幌, 9月.
7. 藤沢千笑, 杉山 勉, 藤沢敏孝: チクビヒドラの多能性間幹細胞から生殖幹細胞への分化調節 日本動物学会第 67 回大会, 札幌, 9月.
8. 藤沢敏孝, 清水 裕, 服田昌之, 岩尾研二, Hofmann D., 高橋俊雄, 宗岡洋二郎, 杉山 勉: 腔腸動物の幼生変態を制御するペプチドファミリー. 東京大学海洋研究所シンポジウム「動物の変態—現象とその分子機構」東京, 11月.
9. 藤沢敏孝: ヒドラの形態形成を制御するペプチド性シグナル分子. フォーラム「形成中心」. 八王子, 12月.
10. 服田昌之, 坂口雅彦, 小早川義尚: ヒドラ刺細胞に特異的な細胞骨格分子の単離. 日本動物学会第 67 回大会, 札幌, 9月.
11. 深見裕伸, 服田昌之, 林原 毅, 下池和幸, 杉山 勉, 大森 信: ミドリイシサンゴの一斉産卵による雑種形成と遺伝子移入. 日本動物学会第 67 回大会, 札幌, 9月.

C-b. 形質遺伝研究部門

当研究部門では、主としてショウジョウバエとカイコを用いて遺伝子発現制御と発生および发育遺伝学の研究を行っている。本年度の研究には、教授・広瀬 進、助教授・村上昭雄、助手・上田 均、山田正明、湊 清、日本学術振興会特別研究員・影山裕二、総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻大学院生・小林正友、岡田聖裕、竹丸憲一、劉 慶信、相田紀子、同研究生・高橋良知、国立遺伝学研究所特別研究生（岩手大学大学院）川崎陽久、東京工業大学生命理工学部教授・半田 宏（国立遺伝学研究所生理遺伝研究部門客員教授）、同大学院生・後藤正英、理化学研究所研究員・村田武英、大阪大学工学部助教授・原島 俊、名古屋大学農学部助手・山崎健一が参加した。技術課職員深瀬与惣治および研究補佐員として高田佑子、植松こづえ、渡辺たつのが研究を支援した。広瀬は「*in vivo* を反映したクロマチン再構築系における転写のメカニズムの解明」（代表者：慶應義塾大学医学部・梅澤明弘）、「MAR・DNA 超らせんによるウニ胚遺伝子発現調節に関する研究」（代表者：広島大学理学部・赤坂甲治）、「LCR 結合因子 Bach ファミリーの試験管内転写系を用いた機能解析」（代表者：筑波大学基礎医学系・五十嵐和彦）を、上田は「カイコの転写因子 FTZ-F1 とそのメディエーター MBF1 との相互作用についての構造学的研究」（代表者：奈良先端科学技術大学院大学・白川昌宏）を、村上は「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）、「家蚕における新機能遺伝子の探索（代表者：九州大学農学部・藤井 博）、「形態形成と生

理学的適応の遺伝学的関係」(代表者: 信州大学理学部・高田啓介)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“転写メディアエーターの機能解析”(広瀬), 同重点領域研究“細胞核の機能構造”(1)「核機能発現の場の構築」(広瀬), 同重点領域研究“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), 同重点領域研究“昆虫の変態・休眠の分子機構”(2)「脱皮・変態の分子機構の解析」(上田), 国立遺伝学研究所特定研究「遺伝学への生物物理学的方法の導入」(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, アメリカ合衆国サンディエゴ)に参加し, 発表した。

(1) DNAの高次構造と真核生物の遺伝子発現制御

(1-a) 真核生物のDNA超らせん化因子に関する研究: 相田紀子, 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。分子内に5つのEFハンドドメインをもち, 超らせん導入活性には Ca^{2+} が必須である(発表講演3)。ショウジョウバエ超らせん化因子のcDNAを解析したところ, 意外なことにN末端にシグナルペプチド様の配列が存在し, ERに局在するマウスのreticulocalbinやヒトのERC55と分子全体に渡ってホモロジーをもつことが判明した。ショウジョウバエの発生を通して2種のmRNAが存在し, 長いmRNAはシグナルペプチド様配列をコードするが, 短いmRNAはこの配列を欠き, それ以外は共通の配列をもつ。N末端付近にエピトープをもつ抗体(α NT)は細胞質に存在する38kDaのタンパク質を認識し, C末端側にエピトープをもつ抗体(α CT)はそれに加えて22kDaの核タンパク質を認識する。胚の核抽出液を用いて α CTで免疫沈降を行うと, トポイソメラーゼIIが回収された。逆に, トポイソメラーゼII抗体で免疫沈降すると, 超らせん化因子が回収された。以上の結果から, 細胞質に存在するタンパク質がreticulocalbinやERC55のホモログで, 核に局在するタンパク質が超らせん化因子に相当すると考えられる。間接蛍光抗体法により, 幼虫の組織における発現を調べると, α NTでは唾腺のanterior側や, garland cell, pericardial cellで細胞質が強く染色された。 α CTではこれら細胞質の染色に加えて唾腺のposterior側や, 脂肪体, tracheaで核が染色された(発表講演6)。

(1-b) クロマチン構造を介した遺伝子発現調節: 岡田聖裕, 上田 均, 赤坂甲治¹, 広瀬進¹(¹広島大学理学部)

遺伝学的解析から, ショウジョウバエの*fushi tarazu* 遺伝子の転写活性化には, クロマチンのリモデリングに関わるGAGA因子が必要なことが示されている。そこで, *fushi tarazu* 遺伝子のプロモーター領域を含むプラスミドDNA上にsalt dialysis法で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, ショウジョウバエの胚抽出液と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ことに成功した(発表講演8)。この系を用いて, クロマチンリモデリングの目印となるGAGA因子と, 実際のリモデリングを行うNURF(nucleosome remodeling factor)との

間を仲介するタンパク質複合体の実体を解析する予定である。また、ウニのアリルスルファターゼ遺伝子上流にインシュレーター活性を示す DNA 領域を見出した (発表講演 7)。現在、このエレメントがショウジョウバエでも働くかどうかについて transgenic fly を作製して調べている。

(2) 転写コアクチベーター MBF に関する研究: 竹丸憲一, 劉 慶信, 上田 均, 後藤正英¹, 半田 宏¹, 原島 俊², 山崎健一³, 白川昌宏⁴, 広瀬 進 (1東京工業大学生命理工学部, 2大阪大学工学部, 3名古屋大学農学部, 4奈良先端科学技術大学院大学)

ショウジョウバエの転写制御因子 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仲介する 2 つのコアクチベーター MBF1 と MBF2 が必要である。これら転写因子をめぐる DNA・タンパクおよび、タンパク・タンパク間相互作用と *in vitro* 転写系による解析から, FTZ-F1 と MBF1 が positive cofactor である MBF2 を FTZ-F1 結合配列をもつプロモーターに recruit することにより, FTZ-F1 結合配列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 (文献 4, 発表講演 4)。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真核生物に保存されていることが判明した (発表講演 1)。出芽酵母を用いた遺伝学的解析により, MBF1 が GCN4 による転写活性化を仲介することを見出した (発表講演 10)。現在, ヒトやイネの MBF1 についても共同研究を進めている (発表講演 11, 12)。さらに, NMR による解析から, MBF1 の C 末端側半分が 4 本の α ヘリックス構造から成ることが判明した (発表講演 14)。

(3) 転写制御因子 FTZ-F1 の研究

(3-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, 広瀬, 上田

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に結合しエクジソンの体液中の濃度の変化に応じて検出される 2 つの因子, I-4, II-4/II-7 を見出した。II-4/II-7 は, その発現パターンおよび結合配列から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 DHR3 であることが示唆された。そこで, II-4/II-7 の結合部位をプローブとしたゲルシフトに DHR3 抗体を加えたところ, II-4/II-7 のバンドは, スーパーシフトし, II-4/II-7 は, DHR3 であると考えられた。次に, FTZ-F1 の時期特異的発現に関わる領域に存在する II-4/II-7 部位に塩基置換を生じた FTZ-F1 プロモーターにレポーター遺伝子を結合した融合遺伝子を持つ transgenic fly 系統を作成し, レポーター遺伝子の発現パターンを観察したが, 野生型プロモーターを持つ融合遺伝子との発現の違いは観察されなかった。また, DHR3 を熱ショックで発現する transgenic fly 系統を作成し, 熱ショックで DHR3 を強制発現させが, FTZ-F1 の発現誘導は観察されなかった。以上のことから, DHR3 は, FTZ-F1 遺伝子の発現制御に大きくかわることはないと考えられた。

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

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 100bp 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なであることを示し, 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, 転写開始点の上流 -408 bp までを有すると本来の発現パターン (頭部と胸部の表皮での発現) を再現できること, -194 bp まで削ると腹部表皮での発現が見られるようになること, -104 bp まで削ると本来の発現部位である頭部と胸部の表皮での発現は観察されなくなるが腹部表皮での発現は残ることが判明した. 以上の結果から, -408 bp から -194 bp の間に腹部表皮での発現を抑制する因子が作用すること, -193 bp から -104 bp の間に頭部と胸部表皮での発現に必要な因子が作用すること, -103 bp より下流に腹部表皮での発現に positive に働く因子が作用することが示唆された. また, 時期特異的に発現する FTZ-F1 と組織特異性を規定する因子の協調作用により, *EDG84A* の発現制御がおこなわれていることが予想された.

(3-c) FTZ-F1 の変異株の解析: 山田, 広瀬, 上田

Dr. Anne Eprussi より FTZ-F1 の mutant 系統 FTZ-F1el5, FTZ-F1el7, FTZ-F1el8 の供与を受け, 解析を開始した. まず, 相補試験により, 以前より FTZ-F1 の変異株の可能性があった系統を調べた. その結果, P エlement 挿入系統の P1598 系統は, FTZ-F1el5 あるいは FTZ-F1el7 と相補せず, *FTZ-F1* 遺伝子座に P エlement が挿入していると考えられた. これらの系統の *FTZ-F1* 遺伝子領域のゲノムを調べたところ, P1598 は *FTZ-F1* 遺伝子転写開始点付近に P エlement の挿入が, FTZ-F1el7 は *FTZ-F1* 遺伝子転写開始点付近を含む広い領域の欠失が, FTZ-F1el5 と FTZ-F1el8 は, *FTZ-F1* 遺伝子内の第一イントロンに異常が見られ, それぞれ, FTZ-F1 の変異株であることが確認された. FTZ-F1el5, FTZ-F1el7, FTZ-F1el8 は, embryonic lethal であったので, 熱ショックで FTZ-F1 を発現できる hsL332 系統と交配し, 熱ショックで rescue を試みた. embryonic stage の熱ショックで FTZ-F1el7 hsL332 は, 1 齢幼虫に成ることができたが, 2 齢には成らなかった. また, マウスフック, スピラクルやトラキアを詳しく観察すると, 2 齢のものが部分的には形成されていることが明らかになり, ある程度脱皮の準備まではできるが, 脱皮しないと考えられた. これらの結果から, FTZ-F1 は, 脱皮に必要なことが示唆された.

(3-d) FTZ-F1 の標的遺伝子の検索: 川崎, 広瀬, 上田

FTZ-F1 を発現している時期のショウジョウバエ胚あるいは幼虫から核を分離し, パラフォルムアルデヒドで固定後, 超音波で処理することによりクロマチンを断片化した. 次

に FTZ-F1 抗体を結合した磁気ビーズを用いて、FTZ-F1 が結合しているクロマチン画分を濃縮し、そこに含まれる DNA 断片を得、その中から 80 個以上の断片をクローン化した。ゲルシフトコンペティションアッセイにより、クローン化した DNA 断片のうち約 2 割は FTZ-F1 と強い結合を示すことが確認され、FTZ-F1 の標的遺伝子の近傍領域が濃縮された遺伝子断片のプールができていたことが期待され、今後近傍に標的遺伝子があるか検索することにした。

(4) カイコ終齢幼虫にみられる過剰脱皮と変態：村上・島田¹ (東京農工大・農)

カイコ (*Bombyx mori* L.) は完全変態の昆虫で、発育に伴い卵、幼虫、成虫という形態の変化がみられる。これらの生長事象は発生遺伝学に制御されるが、生体内外に環境にも多少応じて、脳を介した内分泌系により修飾されうる。本昆虫種の幼虫脱皮は幼若ホルモン (JH) と脱皮ホルモン (MN: molting hormone) の共存下において、蛹 (変態) 脱皮は MH の単独作用によると考察されてきた。しかし、幼虫から蛹へ発育段階の変換時期の終齢幼虫期における内分泌系による生長・発育事象の内分泌系による調節機構についての情報は充分とはいえない。事実、この変態事象は外観のみならず摂食の有無に基づく栄養生理学的変換が顕著なのである。また、本研究シリーズの絶食処理、幼若ホルモン類似物質 (JHA: Juvenile hormone analogue) 投与並びに脳摘出実験から、JHA 処理 (塗布) 時期にみられる顕著なその処理効果のあることを確認した。そこでこれらの事実について発生学的な観点から分析を試みた。

25°C 温度条件下で常法にしたがってクワを用いて飼養した交雑種 (J106×大造) F₁ を実験の対象として、5 齢脱皮後 48, 60, 72, 84, 96 時間経過した幼虫、各 50 個体に JHA (Methoprene^{註1}; ジェルサイエンス KK. 製) の塗布処理を行った。本剤をアセトンで 10 mg/10 ml に希釈し、塗布処理量は 10 mg/1 g 体重とした。JHA 処理の対照にはアセトンを塗布処理した。実験に用いた 4 回脱皮性 F₁ 交雑個体は正常 (25°C) な飼養をすると、経齢幼虫期にクワを摂取開始後大略 120 時間で吐く糸行動を開始しうる。

終齢幼虫脱皮後の 48 時間摂食群の 20 匹の処理個体中 2 個体は生残し蛹化脱皮した。60 時間および 72 時間群では 14 個体 (70%), 100% 蛹化脱皮した。JHA 塗布処理を施した場合、JHA 処理群では 72 時間目まで幼虫死亡個体を顕著に増加させた。幼虫の過剰脱皮^{註2} は 60 から 84 時間目の JHA 塗布処理に誘導され、84 時間目の JHA 処理によって、ほぼ全個体に幼虫脱皮が誘導された。96 時間目の処理ではほとんどの個体は蛹化脱皮が誘導され、5 齢 84 から 96 時間目の間に蛹変態への不可逆的な決定がされると推論された。一方、48 時間摂食後、の絶食処理した群では死亡個体が多発したが、生残した個体も蛹化脱皮時期の遅延が検出されたが、60 時間後の絶食群では著しく遅延した。72 時間以上摂食した場合のその差異は少なく、96 時間摂食群ではそれ以後の絶食にかかわらず脱皮時期への影響は全く認められず、脱皮 60 時間 (2.5 日) 強の摂食によって、蛹に変態生

^{註1} Isopropyl(2E,4E)-11-methoxy-3,7,11 trimethyl-1-2-4-d Edecadienoate.

^{註2} 本実験で誘導された過剰脱皮の全ては蛹形態の触角を持つプロヒラリー (prothetely) の一つである。

育しうるに必要な栄養源は充分摂取できたものと推定された。

さて JHA 処理による幼虫の過剰脱皮は 60 時間から 84 時間目に誘導されたが、96 時間目においてはほとんどの個体 (92%) が蛹化脱皮した、しかも興味あることに 48 時間目処理群でも生残した 94% の個体が蛹化脱皮した。したがって、終齢幼虫期の发育段階は 60 時間目から 84 時間目を境に 3 区分できる: 本実験に用いた F₁ 交雑 (J106×大造) 個体においては第 1 段階は脱皮後 60 時間前後に、第 3 段階は 84~96 時間目と推定された。この第 1, 2 段階には脱皮事象と変態事象との 2 種類が同時進行する。終齢脱皮後には遺伝的枠組に則ったすでに蛹変態へ向かう生育過程に入っていて、内分泌系による調整可能な第 2 段階を経て、蛹変態への不可逆的な決定が第 3 段階に相当すると考察された。Sakurai (1984) はすでに終齢幼虫の脱皮時点で蛹変態へ運命づけられている可能性を示唆している。後述するように終齢脱皮後 72 時間目まで摂食した幼虫の脳を摘出処理した群において蛹化脱皮が僅かながら観察され、同様に 96 時間目の脳摘出群の 80% の個体が蛹化脱皮した。

カイコ幼虫はエネルギー源を得るためにクワを摂食し消化する必要がある (Sakurai, 1984; 村上, 1994)。事実、JHA による幼虫タイプの中腸から蛹タイプへの変態移行が阻止される時期は、外胚葉性の諸組織・器官に対するそれとは異り、終齢の中期に限定されると考えられた。かような点からすると本昆虫種の胚葉起源を異にした組織は JHA に対して異なった感受性を示すことが認められる (Kurushima, Ohtaki, 1975)。いづれにせよ、その後の生存に必要な栄養源を摂取完了した。終齢幼虫期において、JHA の幼虫型の中腸から蛹 (態) 型への移行を阻止する臨界期するが推察された。ある種の鱗翅目昆虫には変態事象の誘導に必要な幼虫の生長の期間閾値の存在 (Nijhout, 1975) も見逃すことはできない。

(5) カイコ幼虫の過剰脱皮事象と脳の機能: 島田¹⁾・村上 (農工大・農)

カイコの幼虫から蛹への変態という生長段階の移行は発生遺伝学的に制御されると同時に中枢神経—脳—による情報の察知とその解読・統合により内分泌系を介して調節され、本昆虫の生命事象のみならず、適応の原動力となっている (村上, 1994; Murakami, 1996)。われわれはこの成長・変態にかかわる幼若ホルモン (Juvenile hormone: JH) の作用に興味をいだいている。脳は成長現象の調節に関与すると考えられるので、そこで今回は対照群としての脳非摘出、摘出ならびに脳摘出個体へ脳の再移植手術を施して JH 類似物質 (JH analogue: JHA) の処理効果を比較検討した。脳摘出処理の対照群には受傷および絶食処理した、JHA 処理、脳摘出、移植処理は 20°C 恒温室内でエーテル麻酔後、常法により行った (島田, 1989)。処理個体は麻酔覚醒までの養生を兼ね、20°C で 12 時間保護し観察に供した。脳摘出群は摂食不能になるため、対照群として脳を有する正常個体への絶食並びに JHA 塗布をも試みた。48, 60 時間目の脳摘出処理では全個体が、72, 84 時間目においても 80% 以上が死亡し、脳摘出によりその生命維持能が失われることと絶食によるエネルギー源の枯渇との相乗効果によると考察された。

脳摘出個体への JHA 処理は、脳摘出とそれによる摂取不能、JHA 処理の发育遅延が相

乗的に加わり、死亡個体数が増加し、84時間目までの処理では全個体が死亡し、96時間目処理では50個体中20%が(蛹へ)脱皮し、残る80%は死亡した。

84時間摂食した幼虫の脳摘出個体に、系統、発育時期を同一とした別個体の脳を2個移植し、JHA処理を施した結果、20個体中18個体(90%)に過剰幼虫脱皮が誘導され、蛹化脱皮(変態)は2個体に認められるにすぎなかった。この結果は脳を有する正常個体へJHA塗布し、絶食処理した場合とほぼ同一であった。また、84時間目の脳摘出群において20%の個体の蛹化脱皮(変態)が認められたことから、JHA処理による幼虫の過剰脱皮の誘導には脳の存在が必須な事実が明らかとなった。移植脳は神経連鎖を断っているため、JHA処理による過剰幼虫脱皮の誘導は脳からの分泌物によると考察される。脳の分泌物(あるいはホルモン)には内分泌器官のホルモン分泌活性を制御する複数の物質の存在が実験生物学的に予想された(島田, 1986)。脳の分泌物がアラタ体のJH分泌活性を制御すると想定した(村上, 1994)。今回の分析によって当該分泌物はJHAが投与されないと作用しない点から、アラタ体のJH分泌活性を制御する機能とは異なって、JH(A)の活性化機能と標的細胞がJH(A)を受容しうる能力を決定(許容)する2つの可能性が考えられるが、現時点においては後者の考えが妥当と考察される。本脳分泌物は標的細胞(の核DNA)に働き、JH(A)を受容可能に変換すると推定される。そこにJH(A)が投与されると、そのJH本来の幼体(現状)維持能(Wigglesworth, 1935; Williams, 1952)が発揮され、蛹への変態過程が停止し、そして幼虫形質の回復発現が可能になると想像される。かかる点を考慮して本脳分泌物は幼若ホルモン受容性化物質[JHAR; JH(A) Activator of the Receptor cell]と仮称した。

(6) カイコにおけるパーセノジェネシスの遺伝学的アプローチ: 村上・深瀬

昆虫にはパーセノジェネシス(=処女生殖)によって繁殖する種が多数知られている。その上、気候に適応して春から秋口まではパーセノジェネシスによって繁殖し、生育条件が劣悪化する秋口から翌春まで両性生殖によって繁殖・冬眠するなどの種々の変異がみられる。われわれが研究の対象としているカイコ(*B. mori* (L.))は両性生殖によって種の維持がなされる。本邦ではカイコは農業昆虫として古くから利用されているが、パーセノジェネシス個体は温湯、過冷却などの人為的処理を施すことによってを発生させる技術が知られている。しかし、この生殖現象について数十年前にイタリアで自然発生のパーセノジェネシスについての研究が報告されて以来途絶えていた。われわれは10数年前からこの問題に取り組んで来た。本昆虫は自然発生的に発生する個体は極稀な事象である。系統間で差異のある事実が明らかになってきて遺伝学的にも興味のもたれるところとなった。なお、自然に発生したパーセノジェネシス個体は卵内でほぼ完全な幼虫体にまで発育するが、完全ふ化に至らない。ところが、温湯処理によってふ化するに至り、この処理は精子の侵入と同様の効果のある事実が認められている。さて、われわれはすでに日本種系統の金色(K)系統は全くと言っていいほどパーセノジェネシスの兆候がみえず、このK系統と他の系統との交配の結果として、雌雄によってその遺伝性に顕著な差異がみられ、K系統のメスの細胞質にはパーセノジェネシスの抑圧因子(C^{par-})が保持され、オスの核因子に

は他の系統と同様に正常因子 (N^{par+}) が保有されることが明らかになっている。なお、この系統の胚は電離放射線にも UV にも感受性が高いという特異な様相を有し、放射線障害回復機構の欠損する異常系統でもある。さて、抑圧因子 C^{par} の存在が確認されて以来、本異常生殖現象が生じ易い系統の検索を進めてきた。そしてこれまでも数系統の候補を報告してきた。ところが異常に高い頻度 (50%~70% に達する) で自然発生する中国種 (黄波) 系統の存在することをつきとめた。この系統と K 系統との正逆交雑を行った結果、雌雄によって異常生殖発生が認められ、K 系統をメスにした場合、全くパーセノジェネシス個体は検出できなかった。しかし、その逆交雑においては中程度の頻度で異常発生個体が検出された。また中程度 (正常) の異常発生系統との正逆交雑では、いづれにおいても頻度の上昇が明らかに認められ、黄波 (O) 系統は優性形質の N^{par2+} を保有し、しかも細胞質因子は正常と判定された。なお、一般に実用系統は当該異常発生個体の出現頻度は低い。O 系統は実用に供されていないのである。今後、この O 系統の由来に関する情報を収集しその生物学的意義を考察したい。

(7) カイコのふ (う) 化行動にみられる概日性周期: 村上

われわれの手元にある、ふ化 (hatching) および羽化行動 (eclosion) シリーズ変異体は光周期 photoperiodism とよく一致する。これらの行動の正常型 (h^+ ; e^+) の行動をみると、季節の進行にともなっているものの、日出から 45 分程遅れてピークがみられる。周知のごとく、日の出からピーク時点までの光量は対数的に増加し、それ以降は比較的ゆるやかな増加をたどって安定な状態になる。したがって、それぞれの行動はピーク時点を境にして二項分布はせずに前半と後半は多少異なって、前半の方がやや急伸な分布となる。この後半の分布曲線は 1 時間ほどで終了する。それぞれの行動は明らかに光日周期に依存するのみならず光日周運動が時刻調整能のあることも考慮する必要がある。

各々の行動のピーク・ポイントは年間を通じて正確に 24 時間周期である。なお、参考までに、そのような正確なリズムも夜半において人為的に極く微小時間の電灯の点滅によっても開発されるし、昼間に一時的な暗黒条件下に置いて常態の日照条件下に戻すと、やはり同様な行動が開発される。これらのフラッシュ条件による行動は非常に微妙な反射行動によること示唆し、光日周期によって維持されるふ (羽) 化ホルモンの介在もあるが、それに対して両行動はかなり受動的な機構であると考えられる。

上述した正常 h^+ (e^+) の行動からすれば、ふ (う) 化の両行動は生物側の積極的な生物機構は関与していないかの如くに見えるが、両行動の変異体 (h^{++} , h^- ; e^{++} , e^-) について分析すると、生物反応の関与が認められる: h^{++} (あるいは e^{++}) 変異体は年間を通じて、ふ (羽) 化行動が年間を通じて日の出以前から顕著に観察される個体が出現すると同時にピーク・ポイントも正常型 (h^+ (e^+)) に比較して 15 分程早くみられる。これらの行動は太陽の日周期運動とは無関係に生じ、生体時計に支配された主体的行動と考えられる。また、 h^- (あるいは e^-) 遅延変異体は年間を通じて正常型のピーク・ポイント時点から 3~4 時間後まで出現し、やはり光周期とは無関係な行動がみられる。かかる変異体の行動からして明らかに生物自体の生物時計による行動の存在は不定できない。また、これら変異体の行

動も光周期にある程度パラルであることも分った。すなわち、問題となる両行動は元来日の出前後という時刻に設定されているが、太陽の日周運動との近くにあつて、ある程度時刻調整もされると考察できる。かかる見解が正しいとするならば、これらのふ（羽）化両行動は単にホルモン物質によって微調整されるのとは異なつて生物自体の反応が介在しその一部は酵素様物質と想像できる。

これまで述べてきた羽化事象はサナギ（蛹）から成虫への変態現象の一環であるが、厳密にはサナギ脱皮であると同時にマユからの脱出でもある。われわれはときどき不完全な脱皮個体を観察する。この事象はマユから成虫が脱出する際に、自己の吐液したタンパク分解酵素によってマユの一部がとかされ、そのとけ口の周囲のマユの切れ端の介在によって、サナギの脱皮殻が完全に除去されるのである。したがつて、サナギの脱皮殻を付けた成虫は稀なのである。われわれがカイコを対象とした寿命実験を実施する際、雌雄に分けるので、マユの切開を施す。それ故に、この人為的処理によってサナギの脱皮殻の有無が、この脱皮事象との関連を観察する機会に遭遇できる。さいわいにわれわれは不完全な脱皮系統を検出した。それは中国種の漢川という系統である。しかも興味あることに、この系統のメスはほぼ完全に脱皮殻がついたままであるが、オスの一部は極くまれに不完全脱皮型となる。この事実からして、これを支配する遺伝因子は伴性の X-染色体に座乗し、しかもこの問題になる純系と他の正常系統との雑種一代目の個体はいづれも完全に脱皮するので、劣性遺伝形質 (*iep*: incompletely ecdysial pupae) と結論した。

(8) 絹タンパク質の生成の生物学的意義：村上

カイコ *B. mori* (L.) を含む、絹糸昆虫はタンパク繊維を作る。その中の数種は絹糸生産昆虫として、人類に利用されてきた。カイコにおける絹タンパク質の性質は農学から分子生物学にわたる広い領域での実験資料が蓄積されている。しかし、生物学的観点からの研究は少ない。そこでカイコの絹タンパク質の生成の意義について考察した。カイコはどうして絹タンパク繊維を吐糸するのであろうか？ 当然のことではあるが、カイコが絹タンパク繊維を人類に提供することを本来の目的であらうはずがない。自己の生命維持にあることは自明の理である。この問題は絹タンパク繊維の構成アミノ酸の構成、当該昆虫種の生命維持に必要な栄養成分、カイコ（あるいは他の絹糸虫）の摂取する植物の葉の成分についての情報が明らかになったことのおかげでその糸口が得られると考えられる。クワの葉はカイコの生長に必須なアミノ酸のみならずその他のアミノ酸を豊富に保有する優良な餌である。ところが、絹タンパク繊維を構成する主要アミノ酸—アラニン、グリシン、セリン、トリプトファン—は本昆虫の必須アミノ酸とは異なつて非必須のタイプで、カイコが摂取したクワの葉のかなりの部分のアミノ酸は生長には不用なアミノ酸である。かような N-含有物が絹タンパク繊維として利用されていることを知るのである。生体にとって有害な過剰な N 化合物を重合という手段で中性化し、安全な絹物質として体外に排出している。この量は最終齢幼虫において摂取するクワの量が莫大なので当然のごとく幼体重の十数パーセントに達するのである。このタンパク質を人類は利用してきたのである。周知の通り、幼虫のクワの葉の摂取が停止すると絹糸腺（細胞）は消失する。ただ留意しておく

べきことはクワを摂食開始する幼虫期の初期においても絹タンパクを極く微量吐糸する。そして幼虫の生長にともなってその吐糸量も増加する。幼虫体内の非必須のアミノ酸の重合量は膨大な量に達するので、その処理能力を向上させる目的で、絹糸腺細胞の染色体DNAは多糸性樹(状態)をなし、多数のRNAを産生し、いわゆる絹タンパク繊維の効果的な重合が行われるのである。このような観点からすると本昆虫種のタンパク繊維の育種は他の動植物のそれとは異なって、カイコの生長・生理とのバランスを考慮した方法論の考案が必要となる。事実、肥満な幼虫は虚弱であり、感染症に罹患し易い。また、蛹(成虫)体重がそれぞれの系統の平均体重の範囲にあるか多少軽量の成虫個体は生存期間が平均以上値より長くなるということが認められている。

(9) 絹タンパク質生成に関する遺伝学的要因: 村上

カイコの従来の育種戦略は大きな体で、大量に摂食する系統を育成してきた嫌いがある。したがって、育種の目標とする絹糸の長さ、太さ、強度・伸度などの物理的性質も、体の大小—脱皮回数—という要因に一括して取り扱われてきた。しかし、幼虫の生長形質の一つと考えられる脱皮回数(眠性ともいう)は上述した絹タンパク繊維生成における独立した物理的形質と考察されるので、その関係を遺伝学的に分析してみた。強度・伸度は数種の純系についての値をみても幼虫の生長の程度とは関係なく、しかも系統に関係なく共通の値であった。この事実はカイコという昆虫種においてこれらの物理的変数は極く基本的な遺伝形質で絹タンパク質の生成—重合—という基本過程という系統間差の入る余地のない分子機構に支配されている。今のところ生長形質の様に変異のみられる形質と考えられない。つぎに絹タンパク繊維の太さであるが、この形質遣は環境に変更されやすいが、幼虫体の大・小(=脱皮回数)に深くかかわる形質である。大型の幼虫体の絹タンパク繊維は概して太く、小型のそれは細いということが明瞭である。これは幼虫体の大小という解剖学的差異とパラレルな吐糸口(=spinneret)の大小に依存するからである。最後に絹タンパク繊維の長さについてこれまでに分析した(系統)間の差異は体の大小とある程度平行なケースと、それとは全く逆に小さい体型でも長い場合が検出される。農水省において系統保存されている十数種の3回脱皮性系統においても4回性脱皮系統とほぼ同じ長さの系統が存在する。これらの事実はいわゆる幼虫体の外枠を規定している脱皮回数とは独立した形質と見做される。なお、長さの形質は絹タンパク(繊維)生産性(=絹の繊維の太さ、絹タンパク質、アミノ酸の摂取量など)と関連する複合形質と考察されるので今後の分析の進展によって更に分割されうると考えられた。かように、カイコの吐糸する絹タンパク量は幼虫の生長の程度と完全に一致しえない点を考慮すると、かかる点を考慮して新しい育種戦略を構築する必要がある。むろん、絹糸腺の細胞数(=系統間の差異は少ない)樹状核(DNA/RNAのコピー数)についての詳細な情報を蓄積する必要もある。要するに、脱皮回数あるいは幼虫の生長の程度と絹タンパク生成に関する遺伝的形質は独立したものと考えられる。

昆虫の完全変態機構の成立: 湊

昆虫綱が動物界の中で圧倒的な種類数を誇っている大きな理由は、進化の過程での「翅」

と「完全変態機構」の獲得にあると思われる。その内、後者について、それが種類数を増加させる理由と、その機構が進化の過程で生まれて来た仕組みについて昨年度に引き続き検討を加えた。完全変態類の昆虫は不完全変態類のそれと異なり、親に似ない幼虫期と、後に続く成虫期との間に蛹期という「ほとんど動かず・摂食しない令期」を持つのが特徴である。蛹期の性格とその起源については、つい近年まで色々議論されて来たが、現在のところ、それは、「幼虫と成虫の間の互いに異なる形態間のギャップを埋めるために生まれた特殊な令期である」(Hinton, 1963) というのがもっとも妥当な考え方ではないかと思われる。

完全変態類昆虫の種類数の多さは、これまでのところ、完全変態機構(蛹期の存在)の結果、幼虫と成虫でそれぞれが特殊な形をとることが出来るようになり、それまで不完全変態類昆虫には利用出来なかったか、あるいは、進化の過程で新しく現われて来たような多くの生活の場を利用出来るようになったことによると考えられている。このことは、完全変態類昆虫群の幼虫の、食性を中心とした生活形を調べた時に特に顕著であることが分かった。すなわち、非常に多くの種の幼虫が、葉・茎・材・果実・虫こぶ・土・粘性のある液体・他の動物の肉体(内部寄生の場合)等々の三次元的な構造の中へ潜ったり穿孔したりして摂食する生活をしているが、このような生活形は、それらの示す幼虫形、すなわち、不完全変態類の若虫の場合に体の外にあった翅芽を内部化したり、同じく複眼・成虫型肢・成虫型触角等を内部原基化するような方向での変化の結果生まれたと思われる。比較的単純な幼虫形によって初めて可能になったものと考えられる。

進化の過程で、完全変態機構に見られる、単純で特殊化した幼虫形を生み出す方向への変化は、蛹期的な令期を生み出す変化と平行しながら徐々に進行したと思われる。あるいは、成虫の側の新しい環境への適応的变化が、そのような動きを進めたかも知れない。どちらがより支配的か、あるいは、同時に進行したのか調査中である。また、特に、どのような仕組みで、翅・複眼・触角・肢等を内部原基化して行くのかも調査中である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ueda H., Murata T., Sun G.-C. and Hirose S.: Role of transcription factor FTZ-F1 in the process of ecdysis and metamorphosis. in "Molecular Mechanisms of Insect Metamorphosis and Diapause" (Suzuki, A. *et al.* eds.), pp. 299-307, Industrial Publishing & Consulting, Inc., 1995.
2. Murata T., Kageyama Y., Hirose S. and Ueda H.: Regulation of the *EDG84A* gene through FTZ-F1 during metamorphosis in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Cell Biol.*, **16**, 6509-6515, 1996.
3. Fuse N., Hirose S. and Hayashi S.: Determination of wing cell fate by the *escargot* and *snail* gene in *Drosophila*. *Development*, **122**, 1059-1067, 1996.
4. 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 *in vitro*. Genes cells, in press.

(2) その他

1. 上田 均, 竹丸憲一, 李 豊情, 広瀬 進: TFZ-F1 による転写調節. 蛋白質・核酸・酵素, 増刊「転写因子」, 41(8), 1210-1218, 1996.
2. 広瀬 進: 染色体の転写. 蛋白質・核酸・酵素, 増刊「ヒト染色体」, 41(15), 2393-2396, 1996.
3. 上田 均: 調節領域の解析法. 組織培養の技術 (日本組織培養学会編), pp. 517-521, 朝倉書店, 東京, 1996

(3) 発表講演

1. Hirose S., Takemaru K., Li F.-Q. and Ueda H.: Evolutionally conserved mediator that connects regulatory factor and TATA-element binding protein. The 4th Asian Conference on Transcription, Hayama, March-April, 1996.
2. Kageyama Y., Hirose S. and Ueda H.: Characterization of trans-acting factors of the FTZ-F1 gene. 37th Annual *Drosophila* Research Conference, San diego, April-May, 1996.
3. 小林正友, 上田 均, 広瀬 進: DNA 超らせん化因子の機能ドメイン. 第13回染色体ワークショップ, 仙台, 2月.
4. 広瀬 進, 竹丸憲一, 李 豊情, 上田 均: 転写メディエーター MBF と転写因子の相互作用. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会合同年会シンポジウム, 札幌, 8月.
5. 半田 宏, 山口雄輝, 高木敏行, Ferdous A., 今井 剛, 広瀬 進: 転写反応におけるカゼインキナーゼ II の役割. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会合同年会シンポジウム, 札幌, 8月.
6. 小林正友, 相田紀子, 広瀬 進: ショウジョウバエ超らせん化因子の細胞内局在. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8月.
7. 赤坂甲治, 西村亜津子, 広瀬 進, 光永 (中坪) 敬子, 嶋田 拓: ウニ・アリルスルファターゼ遺伝子上流のインスレーター. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8月.
8. 岡田聖裕, 廣瀬 進: クロマチン構造を介した *fushi tarazu* 遺伝子の転写制御. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8月.
9. 上田 均, 村田武英, 影山裕二, 広瀬 進: FTZ-F1 の標的遺伝子 *EDG84A* の転写制御機構. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8月.
10. 竹丸憲一, 原島 俊, 上田 均, 広瀬 進: GCN4 による転写活性化に必要な酵母

- MBF1 の機能解析. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
11. 後藤正英, 佐藤 朗, 竹丸憲一, 広瀬 進, 半田 宏: コアクチベーター hMBF1 のクローニングと機能解析. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
 12. 山崎健一, 伊藤嘉信, 岩滝暢子, 竹丸憲一, 広瀬 進: 植物の転写 mediator MBF1 の機能. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
 13. 川崎陽久, 上田 均, 広瀬 進: ショウジョウバエ FTZ-F1 ターゲット遺伝子の検索. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌, 8 月.
 14. 尾崎 淳, 竹丸憲一, 池上貴久, 上田 均, 広瀬 進: カイコ転写メディエーター MBF1 コアドメインの NMR による構造解析. 第 34 回日本生物物理学会年会. 筑波, 11 月.
 15. 上田 均, 孫 冠成, 村田武英, 影山裕二, 山田正明, 広瀬 進: ショウジョウバエの転写因子 FTZ-F1 の脱皮, 変態における役割. 東京大学海洋研究所シンポジウム“動物の変態—現象とその分子機構” ショウジョウバエの転写因子 FTZ-F1 の脱皮, 変態における役割, 東京, 11 月.
 16. 上田 均: FTZ-F1 の標的遺伝子 *EDG84A* の発現制御機構の解析. ワークショップ「昆虫の変態・休眠の分子機構」, 松本, 8 月.
 17. 影山裕二: エクジソン応答性転写因子の転写制御機構の解析. ワークショップ「昆虫の変態・休眠の分子機構」, 松本, 8 月.
 18. 川崎陽久: 脱皮・変態における FTZ-F1 標的遺伝子検索の試み. ワークショップ「昆虫の変態・休眠の分子機構」, 松本, 8 月.

C-c. 生理遺伝研究部門

(1) 転写開始前に調節される RNA ポリメラーゼ II 伸長活性: 半田 宏

我々は, DNA 固定化ラテックス粒子を用いて, DNA 結合性因子を細胞粗抽出液から直に分離・精製できるシステムを開発した. このシステムにより, DNA 結合性転写因子 ATF/CREB ファミリーに属するメンバーのすべてを短時間の内に回収率よく精製できる. 近年, キナーゼ活性をそれら ATF/CREB メンバーと共に分離できることを見出した. このキナーゼを同定してみると, カゼインキナーゼ II(CKII)であった. CKII は 4 つのサブユニット $\alpha, \alpha', \beta, \beta$ から成る複合体であるが, その中の α と α' サブユニットが, ATF/CREB メンバー間で保存されている b-zip 構造に特異的に結合することを明らかにした. このことから, CKII を含むタンパク質リン酸化酵素が DNA 結合性転写因子により DNA 上にリクルートされ, 転写開始反応に関与することが示唆された. これらの結果は, 論文 (T. Wada *et al.*, 1996, *Nucl. Acids Res.*, 24, 876-884) に発表した.

つぎに、CKII を含むリン酸化酵素の活性阻害剤であり、しかも RNA ポリメラーゼ II による転写を阻害する 5,6-dichloro-1- β -D-ribofuranosylbenzimidazole (DRB) を選択して、DRB による転写阻害機構を *in vitro* 転写系を用いて解析した。その結果、DRB による転写阻害は転写伸長段階に起こり、その阻害に関与する新規の転写制御因子 DSIF (DRB sensitivity inducing factor) を同定し、その cDNA をクローン化した。また、DSIF を介しての DRB の阻害作用は、転写開始複合体が形成された後で、しかも転写が開始する前に起こることを明らかにした。これらのことにより、転写伸長活性が転写開始前に調節されているという新たな転写制御モデルを提唱するに至った。さらに、転写開始複合体を形成させてから、転写開始前に ATP, GTP および dATP をそれぞれ単独で反応液に加えると DRB による阻害効果は解除される。このことから、それらをリン酸基ドナーとして使うことが出来て、しかも DRB に対して感受性であるキナーゼが触媒する転写開始前のタンパク質リン酸化が、RNA ポリメラーゼ II の伸長活性を制御しているものと思われる(投稿中)。

(2) FISH による哺乳類ゲノムの解析: 奥村克純

FISH 法を用いてヒト・マウスのゲノムの構造と DNA 複製、核内構造について解析を行ってきた。まず、種々の cDNA やゲノムクローンを用いて遺伝子の染色体上の存在部位を明らかにした。これらの結果については、発表論文 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28 および発表講演 25, 26, 28, 32 に発表した。

また、ゲノム・インプリンティングを受ける遺伝子が存在するゲノム領域、マウスインスリン様成長因子 II 型 (*Igf2*)、およびその受容体 *Igf2r*、ヒトの Prader-Willi/Angelman Syndrome (PW/AS) 領域について DNA 複製タイミングを調べたところ、広い範囲で父方、母方のアレル間で複製タイミングが異なることが分かった。このアレル間の非同調的複製を示すゲノム領域は、発現のインプリンティング領域よりも範囲が広く、複製タイミングドメインとも言うべきドメインを形成していると考えられる。特に PW/AS 領域は、従来の報告よりも小さな複製タイミングドメインから形成されていることが分かった。すなわち、これまでに報告のない複製タイミングのスイッチ領域がいくつか存在することを示す結果が得られた。マウス *Igf2r* の核内ゲノム構造を、バラホルムアルデヒドで立体構造を保持するように固定した線維芽細胞核に対して FISH を行うことにより検討したところ、DNA 複製前後において、早く複製するアレルのゲノム領域が伸展しており、一方、遅く複製するアレルはコンパクトな領域を占有することが分かった。同様の結果は PW/AS 領域でも得られ、インプリンティングを受けるゲノム領域はアレル間で特異的な核内構造をとっていることが強く示唆された。これらの結果は、業績その他の 4, 5, 6, 発表講演 19, 29, 30, 35, 36 に発表した。また、広大なゲノム領域がアレル間で非同調的複製を示すことから、複製バンドレベルの解析を伸展染色体を用いて行い、インプリンティングを受ける領域やその可能性がある領域をいくつか示し、発表講演 21 で発表した。

一方で、ヒト MHC 領域の複製タイミング、クラス II とクラス III の間に存在する Pseudoautosomal Boundary like sequence の発現や他の染色体領域でのこの配列の存

在の検討, ヒト染色体の核内配置の検討を行った。これらの結果は, 発表論文 16, 発表講演 15, 16, 20, 27, 31 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 17, 26, 29 および発表講演 17, 18, 22, 23, 24, 33, 34 を発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Hayashida N., Sumi Y., Wada T., Handa H. and Shinozaki K.: Construction of a cDNA library for a specific region of chromosome by a novel cDNA selection method using latex particles. *Gene*, **165**, 155-161, 1995.
2. Tanaka H., Makino Y., Hiramoto M., Handa H. and Makino I.: Potentiation of glucocorticoid-mediated gene expression by the novel benzoquinone derivative (2E)-3-[5-(2,3-dimethoxy-*o*-methyl-1,4-benzoquinoyl)]-2-propenoic acid (E3330). *Eur. J. Pharm.*, **291**, 121-127, 1996.
3. Watanabe K., Handa H., Mizumoto K. and Nagata K.: Mechanism for inhibition of influenza virus RNA polymerase activity by matrix protein. *J. Virol.*, **70**, 241-247, 1996.
4. Goto M., Shimizu T., Sawada J-I, Sawa C., Watanabe H., Ichikawa H., Ohira M., Ohki M. and Handa H.: Assignment of the E4TF1-60 gene, an Ets-related transcription factor, to human chromosome 21q21.2-q21.3. *Gene*, **166**, 337-338, 1996.
5. Imai T., Sumi Y., Hatakeyama M., Fujimoto K., Kawaguchi H., Hayashida N., Shinozaki K., Yajima H. and Handa H.: Selective purification of DNA or RNA using single-stranded DNA affinity latex particles. *Colloid Interface Sci.*, **177**, 245-249, 1996.
6. Hirano F., Tanaka H., Makino Y., Okamoto K., Hiramoto M., Handa H. and Makino I.: Induction of the transcription factor AP-1 in cultured human colon adenocarcinoma cells following exposure to bile acids. *Carcinogenesis*, **17**, 427-433, 1996.
7. Wada T., Takagi T., Yamaguchi Y., Hiramoto M., Ferdous A., Takayama M., Lee K.A.W., Hurst H. C. and Handa H.: Copurification of casein kinase II with transcription factor ATF/E4TF3. *Nucl. Acids Res.*, **24**, 876-884, 1996.
8. Shiio Y., Sawada J-I: Handa H., Yamamoto T. and Inoue J-I., Activation of the retinoblastoma gene expression by Bcl-3: implication for muscle cell differentiation. *Oncogene*, **12**, 1837-1845, 1996.
9. Shimada H., Wada T., Handa H., Ohta H., Mizuguchi H., Nishimura K., Matsuda T., Shioi Y. and Takamiya K-I.: A transcription factor with a leucine-zipper

- motif involved in light-dependent inhibition of expression of the *puf* operon in the photosynthetic bacterium *phodobater sphaeroides*. *Plant Cell Physiol.*, **37**, 515-522, 1996.
10. Hashimoto M., Chayama K., Tsubota A., Kobayashi M., Saito S., Arase Y., Ikeda K., Kobayashi M., Nakano A., Takagi K., Koike H., Okamoto K., Handa H. and Kumada H.: Typing six major hepatitis C virus genotypes by polymerase chain reaction using promoters derived from nucleotide sequences of the NS5 region. *Int. Hepatol. Commun.*, **4**, 263-267, 1996.
 11. Kosukegawa A., Arisaka F., Takayama M., Yajima H., Kaidow A. and Handa H.: Purification and characterization of virus-like particles and pentamers produced by the expression of SV40 capsid proteins in insect cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **1290**, 37-45, 1996.
 12. Okazaki T., Takita J., Handa H. and Yokota J.: Detection of amplified genomic sequences in human small-cell lung carcinoma cell lines by arbitrarily primed-PCR genomic fingerprinting. *Human Genomics*, **98**, 253-258, 1996.
 13. Yajima H., Kosukegawa A., Hoque M. M., Shimojima T., Takayama M., Sasaki Y., Sakai H., Ohtsuka M., Inokuchi S. and Handa H.: Construction and characterization of a recombinant adenovirus vector carrying the human preproinsulin gene under the control of the methallothionein gene promoter. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press.
 14. Nabeshima R., Aizawa S., Nakano M., Toyama K., Sugimoto K., Kaidow A., Imai A. and Handa H.: Effects of vesnarinone on the bone marrow stromal cell-dependent proliferation and differentiation of HL60 cells in vitro. *Exp. Hematol.*, in press.
 15. Aoki H., Seki T., Sawada J-I., Handa H. and Adachi K.: The promoter of the androgen dependent gene in the flank organ of hamsters. *J. Dermatol. Sci.*, in press.
 16. 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**(1), 23-32, 1996.
 17. Nishitani H., Nishitsuji K., Okumura K. and Taguchi H.: Proton Pump Activation and Growth Promotion by Cinchomeric Acid in Radish. *Phytochemistry*, **42**(1), 1-6, 1996.
 18. Mizuki N., Kimura M., Ohno S., Miyata S., Sato M., Ando H., Ishihara M., Goto K., Watanabe S., Yamazaki M., Ono A., Taguchi S., Okumura K., Nogami M., Taguchi H., Ando A. 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*, **34**, 114–118, 1996.
19. Makino Y., Ohga T., Toh S., Koike K., Okumura K., Wada M., Kuwano M. and Kohno K.: Structural and Functional Analysis of the Human Y-Box Binding Protein (YB-1) Gene Promoter. *Nucl. Acid Res.*, **24**(10), 1873–1878, 1996.
 20. Taniguchi K., Wada M., Kohno K., Nakamura T., Kawakami M., Kagotani K., Okumura K., Akiyama S. and Kuwano M.: A Human Canalicular Multispecific Organic Anion Transporter (cMOAT) Gene Is Overexpressed in Cisplatin-resistant Human Cancer Cell Lines with Decreased Drug Accumulation. *Cancer Res.*, **56**, 4124–4129, 1996.
 21. Eki T., Okumura K., Amin A., Ishiai M., Abe M., Nogami M., Taguchi H., Hurwitz J., Murakami Y. and Hanaoka F.: Mapping of the Human Homologue (ORC1L) of the Yeast Origin Recognition Complex Subunit 1 Gene to chromosome Band 1p32.2–p32.3. *Genomics*, **36**, 559–561, 1996.
 22. Matsuzaka Y., Kagotani K., Okumura K., Kimura M., Inoko H. and Taniguchi Y.: Isolation and Structural Analysis of the Mouse Nat (Ring3) gene in the MHC Class II Region. *Nucl. Acids Symposium Series*, **35**, 225–226, 1996.
 23. Eki T., Okumura K., Shiratori A., Abe M., Nogami M., Taguchi H., Shibata T., Murakami Y. and Hanaoka F.: Assignment of the Closest Human Homologue (DNA2L; KIAA0083) of the Yeast Dna2 Helicase Gene to Chromosome Band 10 q21.3–q22.1. *Genomics*, **37**, 408–410, 1996.
 24. Taniguchi Y., Katsumata Y., Koido S., Suemizu H., Yoshimura S., Moriuchi T., Okumura K., Kagotani K., Taguchi H., Imanishi T., Gojobori T. and Inoko H.: Cloning, Sequencing, and Chromosomal Localization of Two Tandemly Arranged Human Pseudogenes for the Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA). *Mammalian Genome*, **7**, 906–908, 1996.
 25. Tran P. T., Hori H., Hori Y., Okumura K., Kagotani K. and Taguchi Y.: Molecular Cloning of the Human Methylthioadenosine Phosphorylase Processed Pseudogene and Localization to 3q28. *Gene*, in press.
 26. Oshima N., Nishitani H., Nishikawa S., Okumura K. and Taguchi H.: 1-*O*-Nicotinoyl- β -*D*-glucopyranose Found in Cultured Tobacco Cells as a New Niacin Metabolite. *Phytochemistry*, in press.
 27. Hata M., Okumura K., Seto M. and Ohtuka K.: Genomic Cloning of a Human Heat Shock Protein (Hsp40) Gene and Its Chromosomal Localization to 19p13.2. *Genomics*, **38**, 446–449, 1996.
 28. Fujiwara Y., Miwa M., Nogami M., Okumura K., Nobori T., Suzuki T. and Ueda, M.: Genomic Organization and Chromosomal Localization of the Human

Casein Gene Family. Hum. Genet., in press.

29. Sasatani K., Nishitani H., Okumura K. and Taguchi H.: Finding of UDP-Glucose: Nicotinic Acid-*N*-glucosyltransferase Activity in Cultured Tobacco Cells and Its Properties. Biosci. Biotech. Biochem., in press.

(2) その他

1. 半田 宏: 新遺伝子工学ハンドブック (分担); 羊土社, 1996.
2. 山口雄輝, 半田 宏: 転写のしくみと疾患 (分担); 羊土社, 1996.
3. 和田忠士, 澤田幸治, 矢島宏昭: DNA 腫瘍ウイルスの分子生物学の現状; 蛋白質核酸酵素, 41(6), 793, 1996.
4. 奥村克純: FISHによるDNA複製タイミングとゲノムの動態の解析. 「ヒト染色体—分子生物学から遺伝子医学へ—」清水信義, 中込弥男編, 蛋白質核酸酵素, 41(15), 2191-2201, 1996.
5. 奥村克純: 動物ゲノムの構造と複製に関する分子細胞遺伝学的研究. 日本農芸化学会誌, 71(2), 121-127, 1997.
6. 奥村克純: FISHによる動物細胞ゲノムの核内構造解析の現状. 日本生化学会誌, 69(5), 印刷中.

(3) 発表講演

1. Handa H., Takagi T., Yamaguchi Y., Ferdous A., Imai T. and Wada T.: Involvement of casein kinase II activity in transcription initiation, Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Transcription Mechanisms, Taos, New Mexico, USA, March.
2. Sawada J-I., Suzuki F., Sawa C., Goto M. and Handa H.: Analysis of heteromeric complex formation of E4TF1, Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Transcription Mechanisms, Taos, New Mexico, USA, March.
3. Handa H., Yamaguchi Y., Takagi T., Ferdous A., Imai T. and Wada T.: Involvement of casein kinase II in transcription reaction, The Fourth Asian Conference on transcription, Hayama, Kanagawa, Japan, March.
4. Wada T., Takagi T., Yamaguchi Y., Ferdous A., Imai T. and Handa H.: Involvement of casein kinase II in transcription initiation, The Fourth Asian Conference on Transcription, Hayama, Kanagawa, Japan, March.
5. Nabeshima R., Handa H., Aizawa S., Hoshi S. and Toyama K.: Possible involvement of bone marrow stromal cells in agranulocytosis caused by vesnarinone treatment, The 25th Annual Meeting of the International Society for Experimental Hematology, New York, USA, August 23-27.
6. Wada T., Takagi T., Yamaguchi Y., Ferdous A., Imai T., Hirose S. and Handa H.:

- Regulation of RNA polymerase II processivity by casein kinase II, EMBL meeting on transcription, EMBL, Heidelberg, Germany, August.
7. Hiramoto M., Sugimoto K., Shimizu N., Tang J. and Handa H.: Selective purification of the receptor protein for E3330, which inhibits NF- κ B activation, by using E3330-immobilized affinity latex beads, IBC's Fourth Annual Conference on Transcriptional Regulation—Drug Discovery and Development—, San Diego, California, USA, September.
 8. Sawada J-I., Suzuki F., Sawa C., Goto M., Sato A. and Handa H.: Synergistic transcription activation of hGABP with ATF1 or CREB1, Transcriptional Regulation—Drug Discovery and Development—, San Diego, California, USA, September.
 9. Sawada J-I., Suzuki F. and Handa H.: Analysis of interaction between transcription factor hGABP and DNA or ATF, The Third BIASymposium—Biomolecular Interaction Analysis—, Tokyo, Japan, October 3–4.
 10. Sasaki Y., Horimoto M., Nabeshima R., Wada S., Ito T., Kasahara A., Handa H. and Hayashi H.: Establishment of rat hepatocyte cell lines by a temperature sensitive or a wild type recombinant SC40-adenovirus vector, American Association for the Study of Liver Diseases, Chicago, Illinois, USA, November.
 11. Matsumoto M., Misawa S., Chiba N., Hayashi H. and Handa H.: Construction of the expression system of the active herpes simplex virus type 1 protease and its kinetic analysis with synthetic peptides, 第8回日本蛋白質工学会, 博多, 5月.
 12. 半田 宏: 細胞内薬剤レセプター解析システムの開発, 遺伝子診療学会, 第3回学術集会シンポジウム, 東京, 8月.
 13. 半田 宏, 山口雄輝, 高木敏行, Anwarul Ferdous, 今井 剛, 広瀬 進, 和田忠士: 転写反応におけるカゼインキナーゼIIの役割, 第69回日本生化学会・第19回日本分子生物学年会合同年会シンポジウム, 札幌, 8月.
 14. 曾和義広, 藤田 剛, 椎尾 譲, 井上純一郎, 半田 宏, 酒井敏行: 転写因子E4 TF 1による網膜芽細胞腫遺伝子(RB)プロモーターの活性化, 第55回日本癌学会総会, 横浜, 10月.
 15. 池村淑道, 深川竜郎, 中村保一, 山形哲司, 大野みずき, 天前豊明, 野上正弘, 奥村克純: 高等脊椎動物染色体のGC含量区分構造と染色体の核内配置の研究. 第13回染色体ワークショップ, 岩沼市, 2月.
 16. Okumura K., Nogami M., Hishida K., Kagotani K., Taguchi H., Ando A., Inoko H., Fukagawa T., Sugaya K., Matsumoto K. and Ikemura T.: Delineation of DNA Replication Timing in the Human MHC and Intranuclear Arrangement of Genome Domains by FISH. Human Genome Meeting '96, Heidelberg, Germany, 3月.

17. 黒宮友美, 西谷 弘, 奥村克純, 田口 寛: ユーグレナにおける NAD の生合成と代謝について. 日本農芸化学会 1996 年度大会, 京都市, 4 月.
18. 緒方 進, 奥村克純, 田口 寛: 細胞内 NAD レベルが DNA 修復に及ぼす影響について. 日本農芸化学会 1996 年度大会, 京都市, 4 月.
19. 磯村元歳, 奥村克純, 田口 寛: FISH によるマウス・インプリント遺伝子領域の複製タイミングとゲノムの構造変化の解析. 日本農芸化学会 1996 年度大会, 京都市, 4 月.
20. 野上正弘, 齋藤和歌子, 野上織江, 池村淑道, 奥村克純, 田口 寛. FISH によるヒト・ゲノムの複製タイミングと核内配置の解析. 日本農芸化学会 1996 年度大会, 京都市, 4 月.
21. 籠谷和弘, 奥村克純, 田口 寛: 統括的に複製制御を受けるゲノム領域の探索. 日本農芸化学会 1996 年度大会, 京都市, 4 月.
22. 緒方 進, 奥村克純, 田口 寛, 西谷 弘: ヒトリンパ球においてナイアシンが細胞内 NAD 量および DNA 修復に及ぼす影響について. 日本ビタミン学会第 48 回大会, 東京都, 5 月.
23. 田口 寛, 村田圭一郎, 奥村克純, 西谷 弘: コーヒー植物体中に見つかったナイアシン結合タンパク質について. 日本ビタミン学会第 48 回大会, 東京都, 5 月.
24. 黒宮友美, 奥村克純, 田口 寛, 西谷 弘: ユーグレナにおける NAD の生合成経路について. 日本ビタミン学会第 48 回大会, 東京都, 5 月.
25. 服部毅之, 野上正弘, 木村正志, 清島真理子, 奥村克純, 鷺見典子, 田口 寛, 北島康雄, 岡野幸雄: TSC-22 のヒトホモログのクローニングと染色体マッピング. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌市, 8 月.
26. 高原英成, 一井正城, 辻本弘昭, 奥村克純, 籠谷和弘, 田口 寛, 小野博之, Ahmed Abu Rus'd, 白岩雅和: マウス Peptidylarginine deiminase TypeII 遺伝子構造と染色体マッピング. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌市, 8 月.
27. 山形哲司, 野上正弘, 安藤麻子, 奥村克純, 猪子英俊, 五條堀 孝, 池村淑道: ヒト MHC (HLA) 領域に観察される巨大 G+C%ドメインの構造解析. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌市, 8 月.
28. 木村正志, 奥村克純, 浴 俊彦, 服部毅之, 野上正弘, 永田由香, 吉岡 孝, 戸所一雄, 田口 寛, 北島康雄, 岡野幸雄: ヒト新規セリン/スレオニンキナーゼ AUK の機能解析. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会, 札幌市, 8 月.
29. 奥村克純: 動物ゲノムの核内挙動の解析. 第 5 回染色体コロキウム"画像解析の 15 年・FISH 法最近の進歩, 上越市, 9 月.
30. 奥村克純: 動物ゲノムの構造と複製に関する分子細胞遺伝学的研究. 日本農芸化学会中部支部第 117 回例会, 名古屋市, 10 月.

31. 山形哲司, 野上正弘, 菅谷公彦, 安藤麻子, 奥村克純, 猪子英俊, 五條堀 孝, 池村淑道: ヒト MHC(HLA) 領域に観察される巨大 G+C% ドメインとドメイン境界構造の解析. 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋市, 10 月.
32. 松坂恭成, 篁谷和弘, 奥村克純, 木村 穣, 猪子英俊, 谷口泰史: マウス NAT(RING 3) 遺伝子の構造解析. 第 23 回核酸化学シンポジウム, 岐阜市, 11 月.
33. 西谷 弘, 笹谷員禎, 奥村克純, 田口 寛: タバコ培養細胞の UDP-グルコース: ニコチン酸-N-グルコシルトランスフェラーゼについて. 日本農芸化学会 1997 年度大会, 東京都 97 年 4 月.
34. 野中洋志, 奥村克純, 田口 寛: Poly(ADP-ribose)polymerase がアポトーシスに及ぼす影響について. 日本農芸化学会 1997 年度大会, 97 年 4 月.
35. 松田さおり, 香田 淳, 篁谷和弘, 中尾光善, 奥村克純, 田口 寛: ヒト・インプリント領域 PW/AS に見出された新たな複製タイミングドメイン. 日本農芸化学会 1997 年度大会, 東京都, 97 年 4 月.
36. 篁谷和弘, 松田さおり, 中尾光善, 奥村克純, 田口 寛: インプリンティングを受けるゲノム領域に特異的な核内構造. 日本農芸化学会 1997 年度大会, 東京都, 97 年 4 月.

D. 集団遺伝学研究

D-a. 集団遺伝学部門

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

今年度は助手伊奈康夫が外国出張したため本部門で研究を行ったのは主として教授太田(原田) 朋子と助手高野敏行の二人である. 10 月には University of California, Davis 校の J. H. Gillespie 教授が学術振興会の交換教授として本部門に滞在し共同研究を行った.

教授・太田(原田) 朋子は, DNA 塩基配列の比較による理論の検証を行うとともに, 蛋白質の進化に関する理論モデルの集団遺伝学的研究を行った. これはアミノ酸の間の相互作用を取り入れたモデルで新しい試みであり, Network and Evolution of Molecular Information のシンポジウムで発表した. また組織適合抗原の多様性の集団生物学について, Stanford 大学の P. Parham 教授と共同研究を行った.

助手・高野敏行は, ショウジョウバエの剛毛形成を指標とした遺伝子機能進化の解析を行った. その結果は, 日本遺伝学会第 68 回大会において発表した. また, ショウジョウバエの神経形成等に関与する *achaete-scute complex* の 4 つの転写因子についてキロショウジョウバエの近縁種でその塩基配列を決定し, 進化パターンの比較を行った.

助手・伊奈康夫は, 5 月 8 日から 12 月 27 日の間, 文部省在外研究員として, ペンシルバニア州立大学・分子進化遺伝学研究所で研究を行った.

(1) 哺乳類遺伝子の同義置換率の分散と同義および非同義置換率の相関：太田朋子，伊奈康夫

以前に解析した 49 の哺乳類の遺伝子のデータをもとに同義置換率の分散および同義と非同義置換率の相関係数を計算した。相関係数の推定値は中立説の単純なモデルで期待されるより高いことがわかった。また同義置換率の分散は一般に考えられていたより大きく、標準偏差を平均で割った値は 0.2-0.3 となった。一方非同義置換ではこの値が 0.7-0.9 であった。詳細は文献 1 に発表した。

(2) MHC クラス I 分子の抗原提示の集団生物学：P. Parham, 太田朋子

主要組織適合抗原 (MHC) 分子の機能はペプチドと結合して T 細胞に提示することである。MHC 分子の高度な多型の機構は十分には解明されていない。分子レベルの研究と集団遺伝学による解析とを関連させつつ研究を進める必要がある。北米および南米インディアンの MHC クラス I 分子 (HLA) の多型を調べた結果、南米集団では遺伝子変換によって新たな対立遺伝子が多く生じターンオーバーが起こっていることがわかった。一方北米集団ではターンオーバーは起こっていない。遺伝子変換は新しい対立遺伝子を作るのに有効であるが、どのような条件下でターンオーバーが起こるのかについては今後の研究が必要である。詳細は文献 2 に発表した。

(3) 中立説およびほぼ中立説について：太田朋子，J. H. Gillespie

中立説およびほぼ中立説発達の歴史の概略をまとめた。DNA 塩基配列を比較研究する時代に入り、同義置換と非同義置換のパターンが異なることがわかった。この違いは非同義置換に働く自然淘汰を検出するのに有効である。哺乳類の遺伝子を比較した結果はほぼ中立説を支持するものであった。しかし理論は完璧ではなくさらなる改良が必要である。特に蛋白質内のアミノ酸の間の相互作用を取り入れたモデルの解析が必要である。また環境ゆらぎ説との関係について、弱い淘汰のモデルと環境ゆらぎとをあわせ解析する必要がある。詳細は文献 3 と 4 に発表した。

(4) 剛毛形成を指標とした遺伝子機能進化の解析：高野敏行

ショウジョウバエの剛毛形成を指標として近縁種間で進む遺伝子変化を種間雑種の形態異常として検出する系を用いて解析を行った。モデル生物であるキロショウジョウバエとその近縁 3 種では全く同じパターンで胸部の剛毛 (Macrochaetae) が観察される。ところが、キロショウジョウバエと *D. simulans* との雑種ではこれらの胸部剛毛が失われる傾向がある。一方で、*D. simulans* により近縁な *D. mauritiana* や *D. sechellia* とキロショウジョウバエとの雑種では剛毛は失われない。また、*D. simulans* の系統によってもほとんど剛毛を失わないものから多くの剛毛を失うものまで、大きな変異が存在することを明らかにしてきた。

SMC (Sensory mother Cell) の発現マーカーである *neuralized* のエンハンサー・トラップ系統を用いて、三齢幼虫後期における SMC の出現、及び Puparium 形成 1 時間後の Prepupae での SMC の細胞分裂には顕著な異常はない。剛毛は単一の SMC が 2 回分裂し、シャフト、ソケット、ニューロンおよびシース細胞を分化させることで生ずる。種

間雑種における剛毛の消失ではシャフトもソケットに分化した2重シャフトの表現型は観察されない。また、ニューロンを認識するマウス抗体を用いて2重ニューロンといった表現型もとらないことも確認している。しかし、神経タイプのセクター遺伝子の一つである *cut* 遺伝子の発現を Puparium 形成 15 時間後の Pupae で調べると剛毛を生ずる位置の多くで発現が観察されない。これらの知見から間雑種の剛毛消失は表皮/神経、シャフト/ニューロンといった細胞運命の選択の間違いではなく、SMC が現われた後の神経細胞としての運命の維持ないしは細胞分化の初期に障害が生じたためであると考えられる。

遺伝学的解析から、*D. simulans* の X 染色体上に剛毛消失を起こす劣性の因子が存在することを明らかにしている。49 の欠失染色体系統によって X 染色体全体の約 65% の領域のスクリーニングを行い、2 つの候補となる領域を見出している。また、X 染色体上に SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism) 多型等の 9 個の分子マーカーを約 10cM おきに構築し、*D. simulans* の剛毛を多く失う系統 (S) とほとんど正常な雑種を生じる系統 (T) を用いて、QTL マッピングを行った。その結果、*forked* 遺伝子近傍に S と T, 2 系統間の差の約 3/4 の相加的効果をもった有意な領域を見出した。この領域はこれまでの欠失染色体によるスクリーニングには含まれていない。したがって、欠失染色体によるスクリーニングで見出された 2 つの領域には *forked* 近傍の遺伝子と共役的に働くなど遺伝的に相互作用をもつが、種間変異の実体は *forked* 近傍に存在すると解釈される。

(5) *achaete-scute complex* の分子進化パターンの比較: 高野敏行

achaete-scute complex (ASC) は *achaete*, *scute*, *asense*, *l'sc* 遺伝子等 basic-helix-loop-helix タイプの転写因子より成っていて、中枢・抹消神経系の形成等に重要な働きをしていることが知られている。キイロショウジョウバエの近縁種である *D. yakuba* のこれら 4 つの遺伝子の塩基配列を決定し同義・非同義座位における進化速度を推定した。その結果、同義座位当たりの置換数は 0.17–0.24 ではば一定であるが、非同義座位については *achaete* 遺伝子に他の遺伝子の約 2 倍程度の非同義置換が観察された。遺伝子の長さは *achaete* 遺伝子が最も短く、自然選択圧が単純に遺伝子の長さに依存しているわけではない。*achaete*, *scute* 遺伝子間には少なくとも部分的に機能的な Redundancy が観察されるが、進化的には両者に働く機能的制約には大きな違いがあることを示唆する。

(6) Kimura の方法で推定したアミノ酸置換数の分散と共分散: 伊奈康夫

アミノ酸置換の過程は確率的なので、アミノ酸置換数の分散と共分散を考慮することは非常に重要である。Kimura の方法で推定したアミノ酸置換数の分散と共分散を求める式を提案した。ブートストラップ法により、その式が正確であることを示した。その式は、最小進化系統樹の作成や相対速度テストなどの分子進化学の研究に有用である。詳細は、文献 6 に発表した。

(7) 同義置換と非同義置換の相関と同義置換数のパラッキ: 伊奈康夫

同義置換と非同義置換の相関を研究するため、塩基置換の 2 つのモデルを考察した。1 つ目のモデルでは、突然変異率と塩基の変異に対する機能的制約は互いに独立であると仮

定した。2つ目のモデルでは、これらのパラメータはお互いに相関があると仮定した。これら2つのモデルにおいて、解析的な方法とコンピュータ・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を調べた。同義サイトと非同義サイトの塩基の変異に対する機能的制約は、推定誤差が小さくない限り、同義置換数の推定値と非同義置換の推定値の相関にあまり影響を及ぼさない。一方、突然変異率のパラツキは、同義置換数の推定値と非同義置換の推定値の相関に大きく影響を及ぼす。詳細は、文献7に発表した。

(8) 同義置換と非同義置換のパターン：分子進化のメカニズムの指標：伊奈康夫

同義置換数と非同義置換数を比較することは分子進化のメカニズムを理解するのに有用である。同義置換数と非同義置換数を推定する6つの方法の統計的性質を調べた。調べた6つの方法は、Miyata-Yasunaga (MY) 法、Nei-Gojobori (NG) 法、Li-Wu-Luo (LWL) 法、Pamilo-Bianchi-Li (PBL) 法、2つのIna (Ina) 法である。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、PBL法とIna法で求めた同義置換数と非同義置換数の推定値のほうが、MY法、NG法、LWL法で求めた同義置換数と非同義置換数の推定値より正確である。塩基組成値の片寄りが強く、系統的に遠縁な配列を比較する場合には、調べた6つの方法は同義置換数を過小推定する。同義・非同義という分類は、DNA多型データの解析にも有用である。詳細は、文献8に発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ohta T. and Ina Y.: Variation in synonymous substitution rates among mammalian genes and the correlation between synonymous and nonsynonymous divergences. *J. Mol. Evol.*, **41**, 717-720, 1995.
2. Parham P. and Ohta T.: Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules. *Science*, **272**, 67-74, 1996.
3. Ohta T. and Gillespie J. H.: Development of neutral and nearly neutral theories—Theoretical Population Biology, **49**, 128-142, 1996.
4. Ohta T.: The current significance and standing of neutral and nearly neutral theories. *BioEssays*, **18**, 673-677, 1996.
5. Takano T. S.: Genetic study of species differences as observed as loss of bristles in interspecific hybrids of *Drosophila*. In "Current topics on molecular evolution" (M. Nei and N. Takahata eds.), pp. 255-260, Institute of Molecular Evolutionary Genetics, The Pennsylvania State University, USA, and The Graduate School for Advanced Studies, Hayama, Japan, 1996.
6. Ina Y.: Variance and covariance of the number of amino acid substitutions estimated by Kimura's method. *Genes Genet. Syst.*, **71**, 43-46, 1996.
7. Ina Y.: Correlation between synonymous and nonsynonymous substitutions and variation in synonymous substitution numbers. In "Current topics of

molecular evolution" (M. Nei and N. Takahata eds.), pp. 105-113, Institute of Molecular Evolutionary Genetics, The Pennsylvania State University, Pennsylvania, USA, and The Graduate University for Advanced Studies, Hayama, Japan, 1996.

8. Ina Y.: Pattern of synonymous and nonsynonymous substitutions: An indicator of mechanisms of molecular evolution. *J. Genet.*, **75**, 91-115, 1996.

(2) 発表講演

1. 太田朋子: 遺伝子進化の機構. 生命フォーラム, 東京, 1月.
2. Ohta T.: Role of random genetic drift in the evolution of interactive systems. 国際シンポジウム, 情報の流れとしての生命, 東京, 4月.
3. 太田朋子: 集団遺伝学と遺伝子の進化. 帯広畜産大学講演会, 帯広, 6月.
4. 高野敏行: ショウジョウバエ種間変異のスクリーニング: 種間雑種の剛毛形成異常. 日本遺伝学会第68回大会, 名古屋, 10月.
5. Ina Y.: Variation in synonymous substitution rates and correlation between synonymous and nonsynonymous substitution rates. The IMEG (Institute of Molecular Evolutionary Genetics) Seminar, The Pennsylvania State University, Pennsylvania (USA), September.

D-b. 進化遺伝研究部門

異なる視点から研究される傾向にあった進化の諸分野を, 総合的視点で研究することをめざしている. 実験的研究と理論的研究を並行させ, 遺伝子塩基配列レベルの進化と染色体レベルの進化を関係づけ, さらに分子進化と表現型や機能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, 天前豊明が携わり, これに総研大の大学院生・中村保一(かずさDNA研究所の研究員となるために, 3月に退学), 浜田 玲, 山形哲司, 太田聡史, 野上正弘, 北野誉が加わり, 九州大学博士課程院生・大野みずきが特別研究学生として9月まで加わった. また, 日本学術振興会特別研究員(PD)の渡辺裕二(フランスの分子細胞発生学研究所へ留学中)と隅山健太が在籍している. 渡辺良久, 宮内洋子, 北 きよみ, 畠山靖子, 川本たつ子, 市川恵子, 杉村絵里が研究の補助業務を行い, 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. 9月~11月にかけて, 農林水産省農業環境技術研究所の澤田宏之研究員が滞在し, 斎藤と共同研究を行った.

本年度の研究は, 文部省科学研究費補助金基盤研究(A)(1)「高等動物染色体の遺伝子発現期における核内配置と構造の高精度解析技術開発」(代表者池村), 基盤研究(B)(2)「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」(代表者池村), 重点領域研究(1)「ヒトゲノムGC含量ドメイン構造の解析と遺伝子高密度領域の探索」(代表者池

村), 研究成果公開促進費「遺伝暗号(コドン)データベース」(代表者池村), 基盤研究(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), 基盤研究(A)「遺伝子系統樹・種系統樹データベースの開発」(代表者斎藤), 基盤研究(B)「血液型関連遺伝子の集団遺伝学的解析」(代表者斎藤), 重点領域研究(分子進化学の新しい展開)「新しい系統樹作成法の開発とその応用」(代表者斎藤), 特別研究員奨励費「霊長類免疫グロブリンCa遺伝子ヒンジ領域における正淘汰進化の研究」(代表者隅山)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, 吉川研一・名古屋大学大学院人間情報学研究所教授を代表に「DNAにおける一次構造と高次の折り畳み構造の相関に関する研究」, 小島英理・東京工業大学生命理工学部講師を代表に「CAPとIRES競合翻訳系の特性評価」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, 実験的ならびに理論的研究を行った。また, 共同利用研究会「脳神経系を構築する遺伝子システムの進化」(代表者斎藤)を12月5日~6日に開催した。

(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とその近傍領域のGC含量区分境界の構造解析: 山形哲司, 野上正弘, 深川竜郎, 安藤麻子¹, 猪子英俊¹, 菅谷公彦², 池村淑道(¹東海大医学部, ²放医研ゲノム)

高等脊椎動物のゲノムDNAはGC含量のMb(メガベース)レベルでの巨大な区分的構造よりなり, その構造が染色体バンド領域と関係することを明らかにしてきた。染色体バンドならびにGC含量巨大モザイク構造の機能上の意味と, それらが形成された進化機構を知る目的で, バンド境界と考えられるGC含量巨大モザイク境界の構造解析を行なっている。これまでに, ヒト染色体6p21.3領域に位置するMHC(HLA)クラスIIとIII領域の境界にシャープなGC含量の変移点を見出し, 高精度分染バンドの境界である可能性を指摘してきた。GC含量変移点の共通構造を明らかにする目的で, MHCクラスIとII及び周辺の非MHC領域でのGC含量の変化を解析した。着目領域を含むYACをコスミドにサブクローニングし, 連続クローンの作製とそのGC含量の測定を行った結果, クラスIとテロメア側非MHC領域との境界, ならびにクラスIIとセントロメア側非MHC領域との境界が, GC含量の変移点であることが判明した。プロメタフェーズ様染色体を用いたFISHにより, クラスIに隣接する低GC含量側の非MHC領域マーカーD6S131が6p21.3と6p22.1の境界に近接することが明らかになり, ここでもGC含量の変移点とバンド境界の相関が示された。DNA複製タイミングとの関係を解析するのに適した領域である。

ヒトMHC(HLA)領域と周辺のGC含量分布の測定により, MHCクラスII-III-Iのそ

それぞれの機能領域と GC 含量ドメインとが対応することが判明し、3 箇所の GC 含量変移点の存在が明らかになった。これらの機能区分に対応した GC 含量変移点について、共通構造が存在する可能性を知る目的で、各 GC 含量変移点領域の塩基配列の解析を進めている。既に 2 箇所の GC 含量変移点では塩基配列の解析を完了しており、両方の GC 含量変移点において、Alu 配列の高密度クラスターに隣接してポリプリン/ポリピリミジン配列が存在すること、ならびに共通の特徴的な配列の存在を確認した。結果の一部を文献 3 (Sugaya *et al.*, 1997) に発表した。

(2) ヒト MHC 領域の DNA 複製タイミングの解析: 天前豊明, 渡辺良久, 池村淑道

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 (SE) と後半 (SL) の 2 期に行われる。染色体構造で見た場合、G バンド領域は SL に、R バンド領域は SE 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、実際にどのような塩基配列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 バンド側で開始した DNA 複製は、隣の G バンドとの境界で休止し、G バンド側の複製フォークの到着を待っていると考えられる。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点が存在することを意味する。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 領域について、特にクラス II と III の境界に存在した GC 含量変移点 (バンド境界の候補) 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 に位置する 15 箇所について新生鎖のモル数を定量し、複製タイミングを測定した。その結果、HLA-DRA 遺伝子から PABL を含む低 GC 含量のクラス II 領域側は、S 期開始後 3-4 時間目に複製されるのに対し、AGER 遺伝子から TNX 遺伝子を含む高 GC 含量のクラス III 領域側は 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。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。特に Alu 配列が高密度に存在する 16kb の領域において、約 1 時間の差がみられ、複製フォークの進行が停止している可能性が考えられた。興味深いことに、この領域の新生鎖は他の領域と比較して回収率が低く、核内構造に強く結合していることが示唆された。そこで、Scaffold-Associated Region (SAR) の位置を決定したところ、2 カ所の SAR が複製タイミングの変化する領域に存在することが判明した。また性染色体は、PABL と相同性の高い pseudoautosomal boundary (PAB) を境界として pseudoautosomal region (PAR) と sex-specific region に分かれるが、両者の間の複製タイミングの違い並びに X 染色体不活化と複製タイミングの関係についても解析を進めている (Fukagawa *et al.*, 1996 を参照)。結果の詳細は論文 (Tennzen *et al.*) に投稿中である。

(3) ヒト染色体 DNA の間期核内配置を決めるシグナルの探索: 大野みずき^{1,2}, 天前豊明, 深川竜郎, 佐々木裕之², 池村淑道 (¹遺伝研特別研究学生, ²九大医学部)

高等動物染色体の高度に組織化された間期核内配置を決定する情報は、基本的には塩基

配列に担われるが、その配列情報の実体と配置決定の分子機構は未知に残されている。セントロメアおよびテロメアが、染色体の核内配置に重要な役割をはたすことは明らかであるが、我々は、染色体のバンド境界もランドマークをなす重要な部位と想定している。4 Mb のヒト MHC (HLA) 領域内に、S 期の複製タイミングのスイッチ点としてバンド境界を特定しており、SAR の存在および複数の特徴的な配列類を見いだした。染色体 DNA の間期核内配置を決める分子機構としては、DNA 配列に特異的に親和性を示す核内構造の存在が想定される。生理条件下でこのような活性を示す分子レベルでの構造体としては、単鎖及び 3 重鎖のような非ワトソン・クリック型構造を形成する DNA 部位や、RNA や、配列特異性のある DNA 結合タンパク質、及びこれらの複合体が考えられる。セントロメアとテロメアにはこれらの構造を形成する配列が知られているが、バンド境界領域にも、これらの活性と関係することが知られている配列類が存在していた。生理条件下で、配列特異的に DNA に高親和性を示す核内構造体を探索する目的で、バンド境界領域に見出されたトリ及びテトラヌクレオチドの反復配列および PABL (pseudoautosomal boundary-like sequence), ならびにテロメアと α サテライト反復配列を蛍光プローブとして、ヒトの培養生細胞への lipofection による導入実験と、未変性間期核に対する *in situ* 結合実験を行った。いずれの方法でも、配列特異的に特徴的な foci 状の結合像が得られた。テロメアの反復配列が、未変性間期核のテロメア部位に結合した理由は、テロメアの末端領域の単鎖や non-B 型構造への結合と考えられる。最近、セントロメア α サテライトの (poly-purine/polypyrimidine)-rich な配列が、非ワトソン・クリック型 G-A 対合で安定な non-B 構造を形成する能力を持つことが報告されている。未変性間期核のテロメア部位に α サテライトプローブが安定な結合を起こすことと関係すると想定している。PABL プローブはテロメア近傍に強い結合を示したが、RNase 処理核ではこの結合シグナルは消失する。PABL 由来の RNA (Fukagawa *et al.*, 1996) がテロメア近傍に局在することを示しており、テロメアが従来考えられていたよりも複雑な構造体よりなる可能性が示唆される。バンド境界領域に見出されたトリヌクレオチドリピート配列である (CTG/CAG) n や (GAA/TTC) n は、non-B 型形成能を持つこと、疾患と関係してリピート数を増大することが知られているが、これらのリピートも配列特異的に、foci 状の結合像を与える。加温洗浄、単鎖特異的ヌクレアーゼや RNase による処理を組み合わせることで、これら DNA プローブに高親和性を示す核内構造体の実体を明らかにすることを試みている。上記のトリヌクレオチドリピートの結合は、単鎖特異的ヌクレアーゼに感受性であるので、non-B 型 DNA から構成される構造が重要と考えている。間期核内には、non-B 型構造 (triplex, hairpin-loop, H-form 等) が foci 状に存在しており、場合によっては RNA や配列特異的なタンパク質とも複合体をなし、配列特異的に高親和性を示す部位を形成し、染色体上で離れた位置にある DNA 間での特異的な結合を可能にし、間期核内で染色体 DNA の高度な組織化を実現しているとのモデルを考えている。

(4) ヒト MHC 領域に存在する新遺伝子の探索と構造解析: ヒト NOTCH4 遺伝子の構造解析: 菅谷公彦¹, 安藤麻子², 猪子英俊², 三田和英¹, 池村淑道 (¹放医研ゲノム, ²東海

大医学部)

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 種類の新規遺伝子を見だし、これまでに AGER 遺伝子・PBX2 遺伝子の完全構造を報告してきた。これらの遺伝子よりセントロメア側で、GC 含量が大きく変化する部位の近傍に新規の Notch 様遺伝子 (NOTCH4) を見だした。genomic クローンと cDNA クローンをを用いて NOTCH4 遺伝子の全構造を決定したところ、遺伝子の先頭部分にはポリロイシンをコードする (CTG) のトリヌクレオチドリピートが存在していた。(CTG) n リピートは疾患と関係してリピート数を伸長することが知られている。異なった HLA ハプロタイプを用いたスクリーニングにより、NOTCH4 の (CTG) n リピートが人類集団で顕著な多型性を示すことが判明したが、疾患との関係は不明である。予想されるアミノ酸配列を解析して、Notch ファミリーの系統関係や構造の特徴が明らかになった。詳細は文献 3 (Sugaya *et al.*, 1997) に発表している。

(5) ゲノム広範囲領域の重複過程の分子進化的研究: 菅谷公彦¹, 安藤麻子², 猪子英俊², 笠原正典³, 池村淑道 (¹放医研ゲノム, ²東海大医学部, ³北大医学部)

ヒト第 6 染色体上の MHC (HLA) の class II と III 領域の境界部位の構造解析を行う過程で、NOTCH4・PBX2・TNX 等の新遺伝子の存在を明らかにしてきた。興味深いことに、これらと相同性の高い遺伝子類である NOTCH1・NOTCH2・NOTCH3 や PBX1・PBX3 及び HXB (TN-C の遺伝子)・TNR 等が、第 1・第 9・第 19 染色体上の比較的限定された領域に存在することが明らかになってきた。このような現象は、MHC とその近傍領域に存在する他の 15 種類以上の遺伝子についても成立しており、ゲノムの広範囲領域 (数 Mb かそれ以上) の重複の進化過程を解析可能にしている。Hox 遺伝子群の研究結果を基礎に提唱されている、高等脊椎動物ゲノム成立過程におけるゲノムの 4 倍化仮説との関係が興味深い。NOTCH4・PBX2・TNX 等の遺伝子の完全塩基配列を決定しているため、重複時期の推定が可能であり、MHC 領域の成立した分子進化過程についての知見も得られた。詳細は文献 1 (Kasahara *et al.*, 1996) と文献 3 (Sugaya *et al.*, 1997) に発表している。

(6) 遺伝子コドン選択パターンの研究: 金谷重彦¹, 工藤喜弘¹, 中村保一², 池村淑道 (¹山形大工学部, ²かずさ DNA 研究所)

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。現在、110,000 遺伝子のコドン使用を集録しているが、詳細は Nucl. Acids Res. (Nakamura *et al.*, 1996, 1997, in press) に紹介した。これと並行して、金谷と工藤と共同で、コドン選択パターンの多変量解析によりタンパク質生産量を推定する方法を開発し、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遺伝子としての真偽についての評価、並びにタンパク質生産量の推定値を発表した。併せて、この方法がサルモネラ菌・ヘモフィルスインフルエンザ菌・枯草菌・らん藻のゲノム解析にも適用

可能であることを明らかにした。詳細は文献6 (Kanaya *et al.*, 1996) に発表している。

(7) 遺伝子ターゲティングによる細胞外マトリックス・テネイシン X の機能解析: 松本健一, 山本博士¹, 北 きよみ, 竹田直樹², 吉田利道³, 今中-吉田恭子³, 白吉安昭¹, 坂倉照好³, 相沢慎一², 池村淑道, 中辻憲夫¹ (¹発生工学研究室, ²熊本大・医, ³三重大・医)

細胞外マトリックス・テネイシン X(TN-X) の生体内での機能解明のために遺伝子ターゲティング法を用いて, TN-X 欠損マウスの作成を試みた。TN-X 遺伝子の翻訳開始コドンを含む 5' 領域を Neo 耐性遺伝子に置換したターゲティング・ベクター作成後, 相同組換えが起きた 2 個の ES 細胞クローンを得た。次にこれらの ES 細胞を 8 細胞期胚にインジェクションしキメラマウスの作成をおこなったが, 寄与率の高いキメラマウスは得られなかった。キメラ胎子の段階での胚性致死の可能性を考え胎子期 13 日目から 16 日目の胎子を調べたところ, ES 細胞の寄与が高いと思われるキメラ胎子の多くには, 全身性の明らかな浮腫が生じていた。より詳細な形態についての解析を行なったところ, 心臓の心外膜が肥厚し, 冠状毛細血管の形成が不完全であった。心機能不全のために浮腫を生じたと考えられる。胎子期において心外膜は TN-X の発現の高い部位であり, 異常の場所と一致する。心臓冠状毛細血管は心外膜細胞が心筋層内にもぐりこみ分化したもので, TN-X はこの過程に関与するものと推測される。心臓以外の異常としては肝実質の壊死が観察された。これはキメラ胎子において肝臓毛細血管が十分に形成されず, そのためその血管が支配している肝実質の領域に十分な栄養が与えられなかったために引き起こされたと推測される。肝臓における毛細血管の形成における TN-X の関与も示唆される。

(8) 遺伝子系統樹の作成法: 斎藤成也

遺伝子系統樹の場合, 遺伝子重複と種分化の関係が常に問題となる。遺伝子重複の時点と種分化の時点と誤って推定することがありえる。この場合, 種分岐の年代を過大に見積もることになる。遺伝子重複を生じた遺伝子のあいだで遺伝子変換が生じていると, たとえ遺伝子重複が種分化以前に生じていても, 同じ種内のゲノム中の 2 相同遺伝子は, 遺伝子変換などによって配列が似通ってくることがある(いわゆる協調進化)。種間や集団間で遺伝子交流のある場合には, 系統樹そのものの存在があやしくなる。なぜならば, いったん分岐した 2 集団が, 最近になって遺伝子の交流を行なえば, 見かけ上の近縁性が高まるからである。この場合, 時間の方向性が明確に存在する有根系統樹ではなく, 方向性がない無根系統樹を描くことがある。遺伝子組換が起こると, 系統樹ではなく, ネットワークができる。もっともこれは, ABO 式血液型遺伝子のように, もともの対立遺伝子のあいだに塩基配列の違いがなければ検出することができない。これらの生物学的な問題および系統樹の数学的な性質を論じた後, さまざまな遺伝子系統樹の作成法(近隣結合法, UPGMA, 最大節約法, 最尤法など)について説明した総説(文献 13)を著した。

(9) マウスとその近縁種における p53 遺伝子の進化: 木南 凌¹, 斎藤成也, 城石俊彦² (¹新潟大学医学部生化学第一教室, ²哺乳類保存研究室)

Mus 属のさまざまな種において, p53 偽遺伝子の分布を PCR 法を用いて調べたところ, いくつかの種で偽遺伝子を持つ個体が発見された。それらの種では偽遺伝子を持つか

持たないかの状態が多型となっている。およそ 0.3 kb の塩基配列を決定して系統樹解析をしたところ、この偽遺伝子は単一の起源を持ち、約 1000 万年前に出現したと推定された。したがって、偽遺伝子を持つか持たないかという遺伝的多型は、さまざまなマウスの種分化を通じて保たれてきたことになる。また p53 機能遺伝子の進化速度は 2.5×10^{-9} (塩基サイトあたり年あたり) と推定された。詳細は文献 14 を参照されたい。

(10) 人類集団における ABO 式血液型遺伝子の変異: 小笠原建一¹, 斎藤成也, 徳永勝士² (1 東京都赤十字血液センター, 2 東京大学大学院医学系研究科国際保健学専攻)

日本人集団における ABO 式血液型遺伝子の変異を SSCP 法, PCR 法, 塩基配列決定法を用いて検索した。その結果, 従来の血清学的方法で識別される A 型, B 型, O 型対立遺伝子のなかに, それぞれ 4 種類, 3 種類, 6 種類の亜型を発見した。それらの系統ネットワークを作成したところ, 遺伝子内組み換えあるいは遺伝子変換の結果と思われるパターンが発見された。さらに大規模なスクリーニングを行なったところ, 明瞭にふたつの対立遺伝子の組み換え体と考えられる配列を発見した。また, 特殊な血液型である A2, Ax, Ael, cis-AB, Bx, and Bel の部分塩基配列も決定した。詳細は文献 15 と 18 を参照されたい。

(11) 人類進化における遺伝子系統樹と集団系統樹の比較: 斎藤成也

現生人類の起源とその進化を研究するために, 分子データを用いて遺伝子系統樹や集団系統樹を作成することが広く行なわれているが, 我々の研究室で行なった研究をもとに, いくつかの問題について論じた。最初に HTLV-I の塩基配列をもとにした遺伝子系統樹解析を, 次に現生人と弥生人のミトコンドリア DNA の塩基配列をもとにした遺伝子系統樹・集団系統樹解析を説明した。また, 核 DNA にコードされている遺伝子の遺伝子系統樹と集団系統樹の解析も論じた。最後に, 進化学研究において, 有限性の認識が重要であることを論じた。詳細は文献 16 を参照されたい。

(12) 哺乳類における POU 遺伝子進化の特異性: 隅山健太, 植田信太郎¹, 斎藤成也 (1 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻)

クラス IPOU 転写因子遺伝子は神経系において重要な役割を果たしている。遺伝子全長にわたるアミノ酸配列の比較から, 特にほ乳類のクラス IPOU 遺伝子の特徴的な性質が明らかになった。アラニン, グリシン, プロリンのリピートがほ乳類の Brain-1 遺伝子に存在するのに対して, これらのリピートのほとんどは哺乳類以外のホモログには存在しない。ほ乳類の Brain-2 遺伝子はアラニン, グリシン, プロリン, グルタミンのリピートを持つがこれらは哺乳類以外のホモログには存在しない。ほ乳類の Scip 遺伝子はアラニン, グリシン, プロリン, ヒスチジンのリピートを持つが, 哺乳類以外のホモログはこれらのリピートを完全に欠いている。対照的に, ほ乳類の Brain-4 遺伝子は哺乳類以外のホモログと同様にアミノ酸リピートを持たない。こうした特徴的なアミノ酸リピートを持つ遺伝子はもう一つ別の性質, 高い GC 含量を示す。われわれは GC 含量とアミノ酸リピートの割合の間に正の相関を見いだした。これらのアミノ酸は比較的高い GC 含量のコドンによってコードされている。これらの結果から, GC 圧がこの単一のアミノ酸から成るリ

ピートの出現を促進したことが示唆される。詳細は文献 17 を参照されたい。

研究業績

(1) 原著論文

1. Kasahara M., Hayashi M., Tanaka K., Inoko H., Sugaya K., Ikemura T. and Ishibashi T.: Chromosomal localization of the proteasome Z subunit gene reveals an ancient chromosomal duplication involving the major histocompatibility complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, **93**, 9096–9101, 1996.
2. 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.
3. Sugaya K., Sasanuma S., Nohata J., Kimura T., Fukagawa T., Nakamura Y., Ando A., Inoko H., Ikemura T. and Mita K.: Gene organization of human NOTCH4 and (CTG)_n polymorphism in this human counterpart gene of mouse proto-oncogene Int3. *Gene* (in press).
4. Tenzen T., Yamagata T., Fukagawa T., Sugaya K., Ando A., Inoko H., Gojobori T., Fujiyama A., Okumura K. and Ikemura T.: Precise switching of DNA replication timing in the GC content transition area in the human MHC. Submitted.
5. Nakamura Y., Gojobori T. and Ikemura T.: Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases. *Nucl. Acids Res.* (in press), 1997.
6. Kanaya S., Kudo Y., Nakamura Y. and Ikemura T.: Detection of genes in *Escherichia coli* sequences determined by genome projects and prediction of protein production levels based on multivariate diversity in codon usage. *CABIOS*, **12**, 213–225, 1996.
7. Ando A., Kikuti Y., Shigenari A., Kawata H., Okamoto N., Shiina T., Chen L., Ikemura T., Abe K., Kimura M. and Inoko H.: cDNA cloning of the human homologues of the mouse Ke4 and Ke6 genes at the centromeric end of the human MHC region. *Genomics*, **35**, 600–602, 1996.
8. Nakamura Y., Wada K., Wada Y., Doi H., Kanaya S., Gojobori T. and Ikemura T.: Codon usage tabulated from international DNA sequence databases. *Nucl. Acids Res.*, **24**, 214–215, 1996.
9. Sakai T., Furukawa Y., Chiquet-Ehrismann R., Nakamura M., Kitagawa S., Ikemura T. and Matsumoto K.: Tenascin-X expression in tumor cells and fibroblasts: glucocorticoids as negative regulators in fibroblasts. *J. Cell Sci.*

- 109, 2069–2077, 1996.
10. Pi K., Angata M., Ikemura T., Yanagisawa Y. and Tanaka Y.: Analysis of a tRNA gene-like sequence(t-element) with TTA at the anticodon position in mitochondrial DNA of *Dictyostelium discoideum*. *J. Plant Res.*, **109**, 1–6, 1996.
 11. Hasegawa K., Yoshida T., Matsumoto K., Katsuta K., Waga S. and Sakakura T.: Differential expression of tenascin-C and tenascin-X in human astrocytomas. *Acta Neuropathol.*, in press.
 12. Omoto K., Hirai M., Harihara S., Jin F., Misawa S., Washio K., Tokunaga K., Saitou N., Yamazaki K., Du R., Hao L., Yuan Y., Luo Z., Xu J., Hu J., Wei X., Li S., Zhao H., Zhang Z., Niu K., Du C. and Lu B. (1996) Population genetic studies on national minorities in China. In Akazawa T. and Szathmary E. (eds.), *Proceedings of the First Conference on the Dispersal of Prehistoric Mongoloids*, Oxford University Press, Oxford, pp. 135–145.
 13. Saitou N. (1996) Methods for reconstructing phylogenetic relationships of genes. In Doolittle R. (ed.), *Methods in Enzymology*, Vol. 266, pp. 427–449 Academic Press, Inc., Orlando.
 14. Ohtsuka H., Oyanagi M., Mafune Y., Miyashita N., Shiroishi T., Moriwaki K., Kominami R. and Saitou N. (1996) The presence/absence polymorphism and evolution of p53 pseudogene within the genus *Mus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 5, No. 3, pp. 548–556.
 15. Ogasawara K., Bannai M., Saitou N., Yabe R., Nakata K., Takenaka M., Fujisawa K., Uchikawa M., Ishikawa Y., Juji T. and Tokunaga K. (1996) Extensive polymorphism of ABO blood group gene: 1. Three major lineages of the alleles for the common ABO phenotypes. *Human Genetics*, Vol. 97, pp. 777–783.
 16. Saitou N. (1996) Contrasting gene trees and population trees on the evolution of modern humans. In Boyce A. J. and Mascie-Taylor C.G.N. (eds.), *Society for the Study of Human Biology Symposium Series: Molecular Biology and Human Diversity*, pp. 265–282, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 265–282.
 17. Sumiyama K., Washio-Watanabe K., Saitou N., Hayakawa T. and Ueda S. (1996) Evolution of class III POU genes: amplification of characteristic amino acid residues by G+C pressure in mammals. *Journal of Molecular Evolution*, Vol. 43, No. 3, pp. 170–178.
 18. Ogasawara K., Yabe R., Uchikawa M., Saitou N., Bannai M., Nakata K., Takenaka M., Fujisawa K., Juji T. and Tokunaga K. (1996) Molecular genetic analysis of the variant phenotypes of ABO blood group system. *Blood*, Vol. 88, No. 7, pp. 2732–2737.

(2) その他

1. Kanaya K., Suzuki S., Kudo Y. and Ikemura T.: Systematization of species-specific diversity of genes in codon usage: comparison of the diversity among bacteria and prediction of the protein production levels in cells. *Genome Informatics* 1996, 61-71, 1996.
2. 深川竜郎, 大野みずき, 池村淑道: ヒト染色体バンドの意味するもの: 蛋白質核酸酵素, **41**, 2277-2287, 1996.
3. 斎藤成也: 遺伝子から見た東ユーラシア人. *遺伝*, **50**(1), 41-46, 1996.
4. 斎藤成也: 第5章: ヒトさまざま一遺伝子でたどる地球上の人間模様一. 片山一道編著, 『人類史をたどる一自然人類学入門一』, 144-155, 1996, 朝倉書店, 東京.
5. 斎藤成也: 第6章: 遺伝子でたどる人間への道一突然変異から意識の進化まで一. 片山一道編著, 『人類史をたどる一自然人類学入門一』, 156-188, 1996, 朝倉書店, 東京.

(3) 発表講演

1. Tenzen T., Ohno M., Yamagata T., Fukagawa T., Sugaya K. and Ikemura T.: Borders of isochores and of chromosome bands; precise switching of DNA replication timing during S phase in GC% transition region of human MHC. International Society of Molecular Evolution, "Junk DNA; The role and the evolution of non-coding sequences" Costa Rica, January.
2. Ikemura T., Fukagawa T., Nakamura Y., Yamagata T., Hamada A., Okumura K., Ando A., Inoko H., Sugaya K. and Tenzen T.: Compartmentalization of mammalian genetic systems and evolutionary processes of the formation; with special reference to long-range G+C% mosaic structures in the human genome. The 4th JRDC International Symposium. Tokyo, March.
3. Ikemura T., Fukagawa T., Yamagata T., Ohno M., Nogami M., Okumura K., Ando A., Inoko H., Gojobori, T. and Tenzen T.: Long-range G+C% mosaic structures of the human genome; with special reference to borders of the mosaic domains. International Symposium on Network and Evolution of Molecular Information. Tokyo, April.
4. Inoko H., Mizuki N., Shiina T., Ando A., Kimura M. Kikuchi YY, Kawata H., Sugaya K., Fukagawa T., Matsumoto K., Nagata T., Taketo M., Okumura K., Kasahara M. and Ikemura T.: Gene organization of the MHC system. International Symposium on Network and Evolution of Molecular Information. Tokyo, April.
5. Matsumoto K., Yamamoto H., Takeda N., Yoshida T., Imanaka-Yoshida K., Shirayoshi Y., Sakakura T., Aizawa S., Ikemura T. and Nakatsuji N.: Tenascin-

X is essential for the development of epicardium and coronary vessels. International Symposium on Molecular Mechanisms of Myofibril Assembly, Chiba, November.

6. Imanaka-Yoshida K., Matsumoto K., Yoshida T. and Sakakura T.: Expression of tenascin-C and tenascin-X during the mouse heart development. 6th International Congress on Cell Biology & 36th American Society for Cell Biology Annual Meeting, San Francisco, December.
7. Kanaya K., Suzuki S., Kudo Y. and Ikemura T.: Systematization of species-specific diversity of genes in codon usage: comparison of the diversity among bacteria and prediction of the protein production levels in cells. The seventh workshop of genome informatics, Tokyo, December.
8. 天前豊明, 山形哲司, 菅谷公彦, 深川竜郎, 安藤麻子, 猪子英俊, 奥村克純, 池村淑道: ヒト MHC に同定した染色体バンド境界領域における DNA 複製タイミングの解析. The 12th Workshop on DNA Replication and Chromosome Partition, 和歌山, 11 月.
9. 天前豊明, 山形哲司, 藤山秋佐夫, 安藤麻子, 猪子英俊, 五條堀 孝, 池村淑道: ヒト染色体バンド境界に正確に同定した DNA 複製終結領域. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会, 北海道, 8 月.
10. 大野みずき, 野上正弘, 深川竜郎, 浜田 玲, 佐々木裕之, 池村淑道: Pseudoautosomal boundary-like (PABL) 配列からの転写産物の間期核内配置: 多色 FISH による解析. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会, 北海道, 8 月.
11. 山形哲司, 山形哲司, 野上正弘, 安藤麻子, 奥村克純, 猪子英俊, 五條堀 孝, 池村淑道: ヒト MHC (HLA) 領域に観察される巨大 G+C%ドメインの構造解析. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会, 北海道, 8 月.
12. 山形哲司, 野上正弘, 菅谷公彦, 安藤麻子, 奥村克純, 猪子英俊, 五條堀 孝, 池村淑道: ヒト MHC (HLA) 領域に観察される巨大 G+C%ドメインとドメイン境界構造の解析. 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
13. 大野みずき, 野上正弘, 深川竜郎, 浜田 玲, 渡辺良久, 佐々木裕之, 池村淑道: 多色 FISH によるヒト間期核内 RNA の検出: 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋.
14. 天前豊明, 山形哲司, 深川竜郎, 菅谷公彦, 池村淑道: ヒト巨大 G+C%区分構造境界領域において見出された DNA 複製タイミング転換点の同定. 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
15. 松本健一, 山本博士, 白吉安昭, 竹田直樹, 相沢慎一, 池村淑道, 中辻憲夫: 遺伝子ターゲティングによる細胞外マトリックス・テネイシン X の機能解析. 第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会・合同年会, 札幌, 8 月.
16. 長谷川浩一, 吉田利道, 松本健一, 坂倉照好: ヒト神経膠腫の血管新生におけるテ

ネインシファミリーの役割. 第55回日本癌学会総会, 横浜, 10月.

17. 斎藤成也: 新しい系統樹作成法の開発とその応用. 重点領域班会議「分子進化学の新展開」, 統計数理研究所, 東京, 1月.
18. 斎藤成也: ABO式血液型遺伝子の進化. 分子生物学フォーラム, 秋田大学医学部, 1月.
19. 斎藤成也: ABO血液型遺伝子の進化. 東京都立大学理学部生物学科セミナー, 2月.
20. Saitou N.: DDBJ/EMBL/GenBank International DNA database and a "Tsunami" of biological information. Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, Taipei, March.
21. Saitou N.: Introduction to molecular phylogeny—a basic descriptor of evolution. Institute of Zoology, Academia Sinica, Taipei, March.
22. Saitou N.: A population genetic study of Kaoshan people of Taiwan. Institute of Genetics, National Yan-Ming University, Taipei, March.
23. Saitou N.: Molecular evolution of ABO blood group genes in humans and non-human primates. National Taiwan University Medical School, Taipei, March.
24. Saitou N.: Evolution of ABO blood group genes. International Symposium on Networks and Evolution of Molecular Information, Tokyo, April.
25. Oota S., Saitou N. and Kunifuji S.: Inference of the phylogenetic relationship among motor proteins using a newly developed program for the maximum likelihood method. International symposium on Network and Evolution of Molecular Information, Tokyo, April.
26. Saitou N. and Yamamoto F.: Evolution of ABO blood group genes in humans and non-human primates. The Fourth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE4), Tucson, June.
27. Oota S., Saitou N. and Kunifuji S.: Inference of the phylogenetic relationship among motor proteins using a newly developed program for the maximum likelihood method. The Fourth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE4), Tucson, June.
28. Sumiyama K., Ueda S., Ferrell R. and Saitou N.: Allelic genealogy of ABO blood group locus in chimpanzee. The Fourth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE4), Tucson, June.
29. 斎藤成也: 遺伝子系統樹とその推定. 生物物理若手の会第36回夏の学校(八王子セミナーハウス), 7月.
30. Sumiyama K. and Ueda S.: A high sequence variation in immunoglobulin C alpha gene hinge region in macaques. International Symposium Evolution of

Asian Primates. Inuyama, August.

31. Saitou N: Evolution of ABO blood group genes. The Fifth International Congress of Systematic and Evolutionary Biology (ICSEBV), Budapest, August.
32. 太田聡史, 斎藤成也, 國藤 進: 最尤法系統樹推定プログラムによるモータータンパク質間の進化的関係の推定. 19回日本分子生物学会・69回日本生化学会大会合同年回(札幌), 8月.
33. 斎藤成也: 系統ネットワークの理論と応用. シンポジウム「分子系統進化学の新しい視点」, 日本遺伝学会第68回大会(名古屋), 10月.
34. 太田聡史, 斎藤成也: モータータンパク質間の進化的関係の推定. 日本遺伝学会第68回大会(名古屋), 10月.
35. 隅山健太, 植田信太郎: 旧世界猿の免疫グロブリンCa遺伝子ヒンジ領域における正淘汰進化の可能性. 日本遺伝学会第68回大会(名古屋), 10月.
36. 斎藤成也: 人種よさらば, 民族よさらば. シンポジウム「いま人種・民族を問う」, 日本人類学会・日本民族学会第50回連合大会(佐賀), 10月.
37. 斎藤成也: ゲノムは生命進化の賜物—歴史性の視点からゲノムを考える—. シンポジウム「情報生物学の夜明け Part 2: ゲノム情報から展開される新しい生物学」, 生物物理学会年次会(つくば), 11月.
38. 斎藤成也: 遺伝子系統樹から我々をはなにを絞り出せるのか. 日本計量生物学会 第4回計量生物セミナー(富士教育研修所), 11月.

D-c. 理論遺伝研究部門

(1) 生命体科学: 高畑尚之

高畑は, 平成8年4月1日から平成9年1月10日まで招へいたデューク大学の Marcy K. Uyenoyama 教授と自家不和合性遺伝子の起源と進化に関する共同研究を推進すると共に, 総合研究大学院大学の颯田葉子助教授と主要組織適合性抗原遺伝子(MHC)の多型性に及ぼす遺伝子内組換えの効果に関する研究を行った. また人類及びその祖先系統の進化に関する理論的研究を進め, 霊長類の主要な分岐年代と祖先集団の遺伝的多様性の程度の推定, 現代人の起源に関する仮説である多地域起源説のモデル解析を行った. 更にマックスプランク研究所の Jan Klein 教授との共同研究としてガラパゴス諸島におけるダーウィフィンチのクラスII MHC 遺伝子の多型の解析から種分化のモードを推論するとともに, シベリア集団のクラスII MHC ハプロタイプの解析を行いハプロタイプの多型性から人類の移動パターンを推測することを試みている. また北海道大学の笠原正典助教授との共同研究では, MHC 領域に相同な染色体領域を見出し各々が脊椎動物の出現時期に起きた2回の染色体(あるいはゲノム)重複の結果であることを示し, MHC 分子の起源について論じた.

(2) 視細胞の機能を決定する視物質のドメインに関する研究: 深田吉孝, 小島大輔¹, 大

浦智紀¹, 七田芳則¹, 久富 修², 徳永史生², 吉澤 透³ (1京都在学大学院理学研究科生物学専攻, 2大阪大学大学院理学研究科宇宙地球, 3大阪産業大学工学部情報システム工学科)

桿体と錐体という2種類の視細胞は、それぞれ薄明視と昼間視という異なる生理機能を司っている。視物質の一連の光退色中間体のなかで、G蛋白質と共役し得る生理活性中間体はメタII中間体と呼ばれるが、視細胞の機能的特徴は各視物質のメタII中間体の性質でかなり説明できる。例えば、桿体と錐体の視物質のメタII中間体の寿命は大きく異なり、両細胞の光感度の違いに大きく貢献している。そこで、視物質の中でメタII中間体崩壊の時定数を数十倍も変化させるアミノ酸配列(ドメイン)を明らかにするために、オオヤモリの光受容蛋白質P467とウシロドプシンから成る数種のキメラ蛋白質を作成した。オオヤモリの光受容蛋白質P467のメタII中間体の崩壊は著しく速く、典型的な錐体タイプの特性を示す。そこで、ウシロドプシンの7本の α ヘリックス(I~VII)をオオヤモリP467の α ヘリックスに置き換えた数種のキメラ蛋白質を作成し、それらの光反応過程を解析した。その結果、ロドプシンの α ヘリックスI~IIIをオオヤモリP467の対応するヘリックスに置き換えると、メタII中間体の崩壊が極端に速くなることが判明した。つまり、メタII中間体の崩壊が速いという錐体光受容蛋白質の重要な特性は、ヘリックスI, IIおよびIIIのアミノ酸配列によって支配されていると考えられた。今後、この領域のどのアミノ酸残基が重要な役割を果たしているのかを明らかにする必要がある。詳細は文献7に発表した。

(3) 視細胞のG蛋白質トランスデューシンにおける脂質修飾の意義: 深田吉孝, 松田孝彦¹, 庄野 修¹, 荒木正介², 高尾敏文³, 下西康嗣³, 田中秀和⁴, 三木直正⁴ (1京都在学大学院理学系研究科生物化学専攻, 2京都府立医科大学学生物学教室, 3大阪大学蛋白質研究所, 4大阪大学医学部第1薬理学教室)

我々はすでに、桿体のG蛋白質トランスデューシン α サブユニット($T\alpha$)のN末端グリシンが4種類の脂肪酸によって不均一にアシル化されていること、および γ サブユニット($T\gamma$)のC末端システインがメチル化・ファルネシル化されていることを見出し、『修飾脂質は細胞膜アンカーとしての役割と共に、分子内スイッチとしてG蛋白質の機能調節に重要な役割を果たす』という考えを提唱してきた。

ここで、 $T\alpha$ に結合している4種類の脂肪酸には飽和と不飽和のものがあ、スイッチとしての構造は大きく異なると推定される。これら修飾脂質の特性をさらに詳しく調べるためには、それぞれの脂質によって修飾された蛋白質を互いに単離して調べる必要がある。同時に、不均一な脂肪酸修飾の存在は、修飾構造の異なる蛋白質が一つの細胞に共存するか否かという興味深い問題も投げかけている。これらの重要な課題への一つのアプローチとして、 $T\alpha$ のN末端脂肪酸構造を識別する一群のモノクローナル抗体を作成した。得られた数十種類の抗体は、脂肪酸に対する反応性・特異性の違いによって6種類に分類された。このうちLA4と名付けた抗体は、C12:0- $T\alpha$ のみと結合し、C14:0、C14:1、C14:2- $T\alpha$ とは反応しなかった。この抗体はまた、トランスデューシンと同様の

N末端脂肪酸修飾を有するリカバリンとは全く反応しないことから、 $T\alpha$ のN末端アミノ酸配列をも同時に識別していることがわかった。そこで、この抗体を用いて、ウシ網膜切片を免疫染色したところ、全ての桿体に一様に陽性像が認められ、 $C12:0-T\alpha$ が特定の視細胞に局在することはないと考えられた。つまり、4種類の $T\alpha$ は一つの桿体視細胞に共存していると推定された。なお、このモノクローナル抗体をアフィニティー担体に用いて $C12:0-T\alpha$ のみを単離する試みは、現在まだ成功していない。詳細は文献9に発表した。

一方、 $T\alpha$ から解離した $T\beta\gamma$ は γ のC末端ファルネシル基を介して細胞膜に結合していると考えられている。視細胞のMEKAと呼ばれる蛋白質は生理機能がよくわかっていないが、 $T\beta\gamma$ と複合体を形成することにより $T\beta\gamma$ を細胞膜から引き抜く作用をもつ。そのため、MEKAは $T\gamma$ のC末端ファルネシル基をマスクするような形で $T\beta\gamma$ と複合体を形成し、その結果MEKA/ $T\beta\gamma$ 複合体が細胞膜から細胞質へと移行するのではないかと考えられていた。ところが、MEKAは $T\gamma$ のC末端修飾(例えばメチル化の有無)とは無関係に $T\beta\gamma$ と会合し、さらに、脂質修飾されていない変異 $T\beta\gamma$ をバキュロウィルス-昆虫細胞の蛋白質発現系で作成したところ、これもネイティブな $T\beta\gamma$ と全く同じようにMEKAと複合体を形成した。一方、MEKAが $T\beta\gamma$ と相互作用するN末端領域のみ(GST融合蛋白質)では、ネイティブな $T\beta\gamma$ の疎水性を十分に減少させることができなかった。以上の結果は、MEKAのN末端領域が $T\gamma$ のC末端ファルネシル基と結合することにより $T\beta\gamma$ を細胞膜から引き抜くという考えでは説明できない。むしろ、 $T\gamma$ のファルネシル基が細胞膜アンカーとして働いているのか否かという基本的な点について再検討が必要であると思われる。詳細は文献11に発表した。

(4) 視細胞のカルシウム結合蛋白質リカバリンの機能解析: 深田吉孝, 真田佳門¹, 清水史子¹, 亀山仁彦², 芳賀和子², 芳賀達也² (1東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻, ²東京大学医学部脳研究施設)

視細胞に存在する Ca^{2+} 結合蛋白質S-モデュリン/リカバリンは、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇に伴ってロドプシンのリン酸化反応を抑制し、視細胞の明暗順応に重要な役割を担うと考えられている。また、リカバリンのN末端グリシン残基には、 $T\alpha$ と同様に4種類の脂肪酸($C12:0$, $C14:2$, $C14:1$, $C14:0$)のいずれかが結合している。ここでは、リカバリンの作用機構を解析すると同時に、修飾脂肪酸の役割を調べた。まず、ウシ網膜から精製したロドプシンキナーゼとリカバリンを用いた再構成系においても、ロドプシンのリン酸化反応は高 Ca^{2+} 濃度($1.7\mu M$)において抑制されることから、リカバリンの標的蛋白質はロドプシンあるいはロドプシンキナーゼのいずれかであると推定された。ここで、G蛋白質共役受容体キナーゼの一種である β アドレナリン受容体キナーゼ(β ARK)も*in vitro*ではロドプシンのリン酸化するので、 β ARKによるロドプシンのリン酸化反応に及ぼす Ca^{2+} /リカバリンの効果を調べた。その結果、 β ARKによるロドプシンのリン酸化反応は Ca^{2+} 結合型リカバリンにより抑制されなかった。逆に、ロドプシンキナーゼによる β アドレナリン受容体(β AR)のリン酸化反応は、 Ca^{2+} 結合型リカバリンにより抑制された。加えて、 β ARKによる β ARのリン酸化反応には、 Ca^{2+} /リカバリンは影響を及ぼさなかつ

た。つまり、ロドプシンキナーゼを用いて受容体をリン酸化した場合にのみ、リカバリンの抑制効果が観察できた。興味深いことに、リカバリンはN末端脂肪酸を介してCa²⁺濃度依存的に細胞膜と結合する。この細胞膜移行の役割を検討した結果、Ca²⁺結合型リカバリンとロドプシンキナーゼとの複合体が細胞膜と会合すると複合体が安定化し、ロドプシンキナーゼの活性が強く抑制されることが判明した。つまり、リカバリンのN末端脂肪酸修飾は、リカバリンを細胞膜につなぎとめるだけでなく、複合体の形成およびロドプシンキナーゼ活性の抑制に大きく貢献していると考えられる。詳細は文献10に発表した。

(5) 脳における光受容に関する研究: 深田吉孝, 岡野俊行¹, 真田佳門¹, 吉川朋子¹, 高中陽子¹ (¹東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻)

ニワトリ松果体の光受容細胞は、光信号を細胞内で変換し、内蔵する生物時計(概日時計)の位相を外界の明暗周期に同調させている。時計の光位相シフト機構を明らかにすることは、概日時計の発振メカニズム解明への有力なアプローチと考えられる。その第一歩として、松果体の光受容蛋白質ピノプシンを同定し、現在その下流のシグナル変換システムを解析している。また、ある種の動物では視床下部などの脳深部に光受容体が存在し、長日・短日を識別して季節性の繁殖応答を引き起こすと考えられている。この光受容体の同定を試みている。これらの研究成果は、まだ論文として公表していない。

研究業績

(1) 原著論文

1. Takahata N.: Neutral theory of molecular evolution. *Curr. Opin. Genet. Devel.*, **6**, 767-772, 1996.
2. Kondo R., Takahata N. and Horai S.: Nucleotide substitutions in the hominoid mitochondrial DNA. *Current Topics on Molecular Evolution* (eds. by Nei M. and Takahata N. eds.), pp. 45-51, Institute of Molecular Evolutionary Genetics, The Pennsylvania State University, USA and The Graduate University for Advanced Studies, Japan, 1996
3. Satta Y., O'Huigin C., Takahata N. and Klein J.: Intensity of overdominant selection at the major histocompatibility complex loci. *Current Topics on Molecular Evolution* (Nei M. and Takahata N. eds.), pp. 179-187, Institute of Molecular Evolutionary Genetics, The Pennsylvania State University, USA and The Graduate University for Advanced Studies, Japan, 1996
4. Takahata N. and Klein J.: Multiregional or uniregional origin of modern humans: What do genetic data indicate? *The Origins and Past of Modern Humans—Toward a Reconciliation* (eds. by Omoto K., and Hanihara K.), World Scientific Publishing Company PTE LTD, Singapore, in press.
5. Vincek V., O'Huigin C., Satta Y., Takahata N., Boag P. T., Grant P. R., Grant B. R. and Klein J.: How large was the founding populations of Darwin's finches?

- Proc. Roy. Soc., **264**, 111-118, 1997.
6. Kasahara M., Nakaya J., Satta Y. and Takahata N.: Chromosomal duplication and the emergence of the adaptive immune system. *Trends in Genetics*, **13**, 90-92, 1997.
 7. Kojima D., Oura T., Hisatomi O., Tokunaga F., Fukada Y., Yoshizawa T. and Shichida Y.: Molecular properties of chimerical mutants of Gecko blue and bovine rhodopsin. *Biochemistry*, **35**, 2625-2629, 1996.
 8. Ohguro H., Kitamura K., Konari K., Sohma H., Fukada Y. and Akino T.: The differences in the expression of visual pigments and transducin in photoreceptor cell differentiation. *Tohoku J. Exp. Med.*, **178**, 233-240, 1996.
 9. Shouno O., Kokame K., Araki M., Takao T., Shimonishi Y., Murata M., Yoshizawa T. and Fukada Y.: Preparation and characterization of monoclonal antibodies specific for lauroylated isoform of bovine transducin α -subunit: Immunohistochemical analysis of bovine retinas. *J. Neurochem.*, **66**, 2188-2196, 1996.
 10. Sanada K., Shimizu F., Kameyama K., Haga K., Haga T. and Fukada Y.: Calcium-bound recoverin targets rhodopsin kinase to membranes to inhibit rhodopsin phosphorylation. *FEBS Lett.*, **384**, 227-230, 1996.
 11. Tanaka H., Kuo C.-H., Matsuda T., Fukada Y., Hayashi F., Ding Y., Irie Y. and Miki N.: MEKA/Phosducin attenuates hydrophobicity of transducin $\beta\gamma$ subunits without binding to farnesyl moiety. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **223**, 587-591, 1996.
 12. Nishimura S., Sasaki J., Kandori H., Matsuda T., Fukada Y. and Maeda A.: Structural changes in the peptide backbone in complex formation between activated rhodopsin and transducin studied by FTIR spectroscopy. *Biochemistry*, **35**, 13267-13271, 1996.
 13. Okano T., Yamazaki K., Kasahara T. and Fukada Y.: Molecular cloning of heterotrimeric G-protein α -subunits in chicken pineal gland. *J. Mol. Evol.*, in press.
 14. Hirunagi K., Ebihara S., Okano T., Takanaka Y. and Fukada Y.: Immunoelectron microscopic investigation for the subcellular localization of pinopsin in the pineal organ of the chicken. *Cell Tissue Res.*, in press.
- (2) その他
1. Nei M. and Takahata N. (eds.): *Current Topics on Molecular Evolution*, Institute of Molecular Evolutionary Genetics, The Pennsylvania State University, USA and The Graduate University for Advanced Studies, Japan, 1996.

2. 高畑尚之: DNA 多型と人類進化. DNA 多型, 第 4 巻, 1-6, 1996.
 3. 高畑尚之: 人類の起源論争. 岩波科学, 第 66 巻, 第 5 号, 344-352, 1996.
 4. 高畑尚之: 「湘南レクチャー」について. 大学と学生, 第 374 号, 29-32, 1996.
 5. 高畑尚之: 書評「続・大いなる仮説」. 遺伝, 印刷中.
 6. 深田吉孝, 真田佳門: 光受容体の構造と機能調節. 「実験医学」増刊号『GTP 結合蛋白質』(宇井理生・上代淑人監修), 14(2), 63-67, 羊土社, 東京, 1996.
 7. 真田佳門, 深田吉孝: シグナル伝達蛋白質における脂質修飾の役割. 「膜」特集号『膜脂質シグナリングの最新動向』(野澤義則編集), 21(3), 184-190, 1996.
 8. 深田吉孝, 岡野俊行: ピノプシンによる光シグナル伝達と生物時計. 分子医学シリーズ『細胞内シグナル伝達のしくみ』(宇井理生編, 矢崎義雄・村松正実監修), 28-39, 羊土社, 東京, 1996.
 9. 真田佳門, 深田吉孝: 三量体 G 蛋白質の脂質による修飾と機能調節. 「実験医学」増刊号『脂質研究の新展開〜シグナリングにおける新しい機能』(竹縄忠臣監修), 14(14), 193-199, 羊土社, 東京, 1996.
- (3) 発表講演
1. 高畑尚之: 塩基置換過程の確率モデル. シンポジウム「生物学に現われる確率モデル」, 静岡, 1 月.
 2. 高畑尚之: 分子進化の中立説. シンポジウム「生命科学からみた 20 世紀」, 京都, 3 月.
 3. Takahata N.: Genetic considerations on the origin of modern humans. IIAS Workshop “The Origin and Past of Modern Humans—Toward a Reconciliation”, Kyoto, March.
 4. 高畑尚之: DNA にプログラムされた人間の側面. シンポジウム「遺伝子・脳・文化—これからの人間を考える」, 箱根, 4 月.
 5. 高畑 尚之: からだを守るしくみ—祖先からの遺伝的文化的遺産—. 湘南国際村地域交流イベント・交流セミナー, 葉山, 5 月.
 6. Takahata N. and Satta Y.: Coalescence and the history of the human lineage. The 4th International Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Tucson (Arizona), June.
 7. Takahata N.: *HLA* polymorphism revisited. Seminar in the Department of Immunogenetics, Tuebingen (Germany), August.
 8. Takahata N.: Population genetic problems in human evolution. Intensive programme “Mathematics in Biological Sciences. Applications in Anthropology” Komotini (Greece), August.
 9. 高畑尚之: 多地域進化説と現代人の遺伝的多様性. 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.

10. 颯田葉子, 高畑尚之: 平衡選択と組換えが *HLA* 遺伝子座の多型に及ぼす効果. 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
11. 伊達敦子, 颯田葉子, 高畑尚之, 石和貞男: ショウジョウバエの抗菌タンパク質セクロピン多重遺伝子族に関する集団遺伝学的研究. 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
12. 深田吉孝: 動物における光受容と G 蛋白質. 文部省科研費総合研究 B シンポジウム「細胞情報変換の分子可視化解析」, 東京, 1 月.
13. 深田吉孝: ニワトリ松果体の光受容体ピノプシンと情報伝達経路. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「サーカディアンリズムの分子機構〜現状と展望〜」, 大阪, 3 月.
14. 深田吉孝: G タンパク質の脂質による修飾と機能調節. ASR シンポジウム「脂質研究の新展開」, 東京, 4 月.
15. Fukada Y.: Pinopsin and photon-signal transduction in chicken pinealocytes. Human Frontier Science Program Joint Meeting 1996, Okazaki, April.
16. Fukada Y.: Pinopsin and photoreceptors in vertebrate pineal and retina. The DDBJ 10th Anniversary/The International Symposium "Network and Evolution of Molecular Information," Tokyo, April.
17. 浅野富子, 森下理香, 松田孝彦, 橋本祐一, 岡野俊行, 深田吉孝, 加藤兼房: G 蛋白質 γ サブユニット $\gamma 12$ の一次構造と性質. 日本生化学会中部支部例会, 名古屋, 5 月.
18. Fukada Y.: Pinopsin, a new pineal photoreceptor molecule. Human Frontier Science Program Conference "Circadian Light Reception and Regulation," Lyon, France, May.
19. Kandori H., Nishimura S., Sasaki J., Matsuda T., Fukada Y. and Maeda A.: Structural changes of rhodopsin upon photoisomerization and complex-formation with transducin. 7th International Conference on Retinal Proteins, Zichron Yaacov, Israel, June.
20. 深田吉孝: 光受容体とサーカディアンリズム: 生体に潜む時計の謎. 生化学若い研究者の会・平成 8 年度夏のシンポジウム「生命の不思議に挑む分子生物学」, 東京, 6 月.
21. 岡野俊行, 高中陽子, 深田吉孝, 飯郷雅之: ニワトリ松果体におけるピノプシン遺伝子発現の概日リズム. 日本比較生理生化学会第 7 回大会, 大阪, 7 月.
22. 吉川朋子, 山崎一恭, 笠原和起, 岡野俊行, 深田吉孝, 大石 正: ニワトリ松果体に存在する光受容体ピノプシンと共役する G タンパク質の検索. 日本比較生理生化学会第 7 回大会, 大阪, 7 月.
23. 深田吉孝, 岡野俊行, 高中陽子, 吉川朋子, 仲村厚志: 松果体の概日時計へ時刻情報を入力する光シグナル変換系. 平成 8 年度生理研視覚研究会「網膜の分化と視覚機能発現機構」, 岡崎, 8 月.

24. 岡野俊行, 高中陽子, 仲村厚志, 山崎一恭, 深田吉孝, 蛭灘親順: 松果体の光受容体ピノプシンの性状解析と時計情報伝達機構. 第69回日本生化学会大会, 札幌, 8月.
25. 真田佳門, 清水史子, 深田吉孝: ロドプシンのリン酸化反応を制御する Ca^{2+} 結合蛋白質リカバリンの作用機構. 第69回日本生化学会大会, 札幌, 8月.
26. Fukada Y., Okano T., Takanaka Y. and Yamazaki K.: Pinopsin and its phototransduction signaling in chicken pineal. 第69回日本生化学会大会シンポジウム, 札幌, 8月.
27. 深田吉孝: 脳の中の第三の目～生物時計へ時刻情報を入力する光センサー～. 電力館科学ゼミナール, 東京, 9月.
28. 深田吉孝: 概日時計の位相を調節する松果体の光シグナル変換系～生化学的アプローチ. 日本動物学会第67回大会シンポジウム「生物の多様性～比較生物学の現状と将来」, 札幌, 9月.
29. 橋本修志, 今井啓雄, 水上 卓, 岡田哲二, 今元 泰, 松田孝彦, 深田吉孝, 寺北明久, 七田芳則: ロドプシン中間体によるトランスデューシン活性化機構の解析. 日本動物学会第67回大会, 札幌, 9月.
30. 吉川朋子, 大石 正, 岡野俊行, 深田吉孝: カエル視床下部における光受容体ピノプシンの局在. 日本動物学会第67回大会, 札幌, 9月.
31. Okano T. and Fukada Y.: Structure and localization of photoreceptive pigment in chicken pineal gland. XII International Congress of Eye Research, Symposium "Transduction Proteins," Yokohama, 9月-10月.
32. Sanada Y., Shimizu F., Haga T., Yoshizawa T., Takao T., Shimonishi Y. and Fukada Y.: Role of *N*-fatty acyl group of recoverin in rhodopsin phosphorylation. XII International Congress of Eye Research, Yokohama, 9月-10月.
33. 深田吉孝: G タンパクの脂質による修飾機構と生物学的意義. 理化学研究所国際フロンティアフォーラム「生体膜脂質研究の再生～新たな脂質生物学を目指して～」, 和光, 10月.
34. 渡辺基一, 深田吉孝, 光岡 薫, 村田和義, 藤吉好則: 視細胞 G 蛋白質の投影構造と膜への配向. 日本生物物理学会第34回年会, つくば, 11月.
35. 七田芳則, 橋本修志, 今井啓雄, 水上 卓, 岡田哲二, 今元 泰, 松田孝彦, 深田吉孝: トランスデューシンと相互作用するロドプシン中間体. 日本生物物理学会第34回年会, つくば, 11月.
36. 深田吉孝, 岡野俊行, 真田佳門, 吉川朋子, 高中陽子, 仲村厚志, 清水史子, 笠原和起: 明暗情報を時刻情報として利用する光受容体. 日本生物物理学会第34回年会シンポジウム「生体の時間秩序」, つくば, 11月.
37. 深田吉孝: ロドプシンとピノプシン. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「蛋白質の膜内挙動と機能発現～その研究法の現状と今後の展望～」, 大阪, 11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、シグナル伝達系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、遺伝子変異や染色体改変に基づくがん遺伝子活性化の機序、細胞増殖・分化と腫瘍発生の分子遺伝機構などについて研究を進めている。さらに、人類進化の立場から日本人種の遺伝的特徴はなにかを、ミトコンドリア DNA の塩基配列多型の上から研究している。

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「遺伝子高次機能の多面的総合的研究」（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」（代表者・長谷川政美）（宝来）、総合研究大学院大学共同研究「精神活動・行動に関する遺伝子の関与」（今村）、同グループ研究「生命体科学」（宝来）などの文部省科学研究費補助金、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) 脳の高次機能ならびにゲノム刷り込みの機構に関する分子遺伝学的研究：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）

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、摂食行動の異常とそれに基づく肥満、高脂血症など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、ヒトの摂食や生殖行動、内分泌系、代謝、血圧調節など、生命の恒常性維持に関わる脳神経制御系遺伝子がこの領域に存在すると考えられる。また、PWS 領域では父親に由来する染色体上の対立遺伝子のみが選択的に発現し、母親に由来する遺伝子はゲノム・インプリン

ト(刷り込み)の機構によって生理的に不活化されていることが、本症候群の発現にとって重要な要因とされている。

この研究は、PWS症候群の原因遺伝子を取り出し、それらの構造と機能を解析することにより、ヒトの高次脳機能にかかわる遺伝子系とゲノムインプリントの機構の解明に資することを目的としている。そこで、健常者と患者のリンパ球細胞株からcDNAライブラリーを作成し、クローン・サブトラクション法を用い、患者細胞で“down regulate”されている遺伝子を解析した結果、リボソームタンパク質、転写調節因子、カゼインキナーゼ II (β 鎖)、タンパク質合成調節因子、細胞接着分子レセプター(インテグリン遺伝子族)、などのcDNA断片を多数、選択した。これらのうち、小核リボ核酸タンパク質(SNRPN)遺伝子は、ヒト胎児・脳組織細胞で強く発現し、患者の細胞では発現がみられない。また、マウスのSNRPN遺伝子は7番染色体にマップされたことから、ヒトの遺伝子もマウスの染色体領域と相同性を示す15番染色体(PWS)領域に存在する可能性が考えられ、結果は予測されたとおりであった。患者の細胞を調べた結果、ヒトのSNRPN遺伝子はマウスと同様、インプリントのしくみにより母由来の遺伝子が生理的に不活化されていることを明らかにした。そこで、患者細胞ではmRNAのスプライス異常により、脳神経細胞の発生過程、シナプス形成、記憶、学習などに関わる遺伝子(群)の機能欠損が考えられ、さらに脳高次機能にかかわる遺伝子の多くがインプリント遺伝子(SNRPN)の支配下にある、変更スプライス(alternative splicing)のしくみにより神経組織特異的に発現調節されること、などが考えられる。

(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 衡¹, 長谷川知子² (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。

(3) 伴性重症免疫不全症患者由来のB細胞におけるインターロイキンIL-4並びにIL-13の細胞内情報伝達機構: 出原賢治, 平家俊男¹, 大塚 毅², 山岡邦宏, 眞弓光文¹, 仁保喜之², 原田登之³, 今村 孝 (京都大学医学部小児科, ²九州大学医学部第一内科, ³結核

研究所第一研究部)

伴性重症免疫不全症患者由来の B 細胞におけるインターロイキン IL-4, IL-13 の細胞内情報伝達機構を解析した。IL-4 と IL-13 は B 細胞に対して IgE 産生を誘導する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-4 α 鎖と IL-2, IL-7, IL-9, IL-15 レセプターにより共有されている IL-2R γ 鎖 (γ c) の少なくとも 2 本鎖より構成されている。IL-13R に IL-4 α 鎖は関与しているが、 γ c は関与していないと考えられている。また最近伴性重症免疫不全症 (XSCID) 患者では γ c 遺伝子に異常が存在することが判明した。この研究では二人の伴性重症免疫不全症 (XSCID) 患者由来の EB ウイルスで形質変換した B 細胞を用いて、IL-4 と IL-13 により誘導されるチロシンキナーゼである Jak 分子と転写因子である STAT 分子の活性化を解析した。これらの B 細胞では IL-4 の刺激により Jak3 のチロシンリン酸化と STAT6 の活性化が起こらないか、正常 B 細胞に比べて著明に減弱していた。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。しかし、Jak3 は正常 B 細胞においてさえ、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 の情報伝達経路において γ c は Jak3 と STAT6 の活性化に必須であり、IL-13 は γ c を使用しないが、XSCID 患者の B 細胞において傷害されていない別の経路を介して STAT6 を活性化していると考えられた。

(4) 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 キナーゼとの結合: 出原賢治, Ricardo A. Feldman¹, Peter Greer², 原田登之³ (¹Department of Microbiology and Immunology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, ²Deptment of Pathology and Biochemistry, Cancer Research Laboratories, Queen's University, ³結核研究所第一研究部)

以前我々は IL-4 がチロシンキナーゼ (FES) のチロシンリン酸化と FES とインターロイキン 4 レセプター IL-4 α 鎖との会合を誘導することを見出した。またこれとは別に IL-4 が IL-4 α 鎖とホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ (P13K) との会合を誘導することも見出していた。この研究では、T 細胞株において IL-4 の刺激により FES と P13K が会合することを見出した。また COS7 細胞を使った実験系で、FES と P13K の SH2 部分が結合することも確認した。COS7 細胞を使った P13K 活性の解析により FES は部分的に IL-4 α 鎖と P13K との会合に関与していることを証明した。これらの事より、FES/P13K 経路が IL-4 の多面的な生物活性において何らかの役割を果たしていることが示唆された。

(5) Two Hybrid 法を用いたインターロイキン 4 レセプター結合蛋白質の同定: 出原賢治, 住本英樹¹, 布井博幸², 大塚 毅³, 山岡邦宏, 竹重公一朗¹, 仁保喜之³, 原田登之⁴, 今村 孝 (¹九州大学医学部第二生化学, ²東京大学医科学研究所細菌感染研究部, ³九州大学医学部第一内科, ⁴結核研究所第一研究部)

Two Hybrid 法を用いてインターロイキン 4 レセプターに結合する蛋白質の同定を試みた。IL-4 レセプター (IL-4R) は、IL-4 α 鎖と IL-2R γ 鎖 (γ c) の少なくとも 2 本鎖より構成されており、我々は以前に IL-4 α 鎖上の IL-4 による IgE 産生誘導作用、増殖作用に必

要な部位を同定した。この部位に結合する蛋白質を同定するために、この約 40 アミノ酸残基よりなる部位をプローブにして Two Hybrid 法にて結合蛋白質を解析したところ、NADPH オキシダーゼのコンポーネントの一つである p47^{phox} が同定された。実際の血液細胞においてもこの p47^{phox} が IL-4R と結合することが確認された。この p47^{phox} が欠損すると慢性肉芽腫症という疾患を引き起こすことが知られているが、この慢性肉芽腫症患者において IL-4 による CD23 の発現は正常者と変化がなかった。現在それ以外の細胞内情報伝達機構に異常があるかどうか解析中である。

(6) ヒト単球におけるリポポリサッカライドによる STAT5 の活性化: 山岡邦宏¹, 出原賢治, 大塚 毅¹, 新納宏昭¹, 仁保喜之¹, 今村 孝 (九州大学医学部第一内科)

ヒト単球におけるリポポリサッカライド (LPS) による STAT5 の活性化について解析した。LPS によりその発現が誘導されることが知られている COX2 遺伝子のプロモーター領域に STAT 分子の結合部位が存在することから、ヒト単球において LPS により何らかの STAT 分子が活性化されると考えてゲルシフトアッセイにて解析したところ、STAT5 が LPS により活性化されることが判明した。この活性化は抗 GM-CSF 抗体により消失することより、LPS により誘導された GM-CSF 産生による間接的なものと考えられた。またこの活性化はステロイド、IL-10 により抑制された。これらの事より、LPS による単球活性化機構において STAT5 が何らかの役割を果たしていると考えられた。詳細については現在投稿準備中である。

(7) 東アジアにおけるミトコンドリア DNA 多型からみた日本人の成立: 宝来 聰, Fucharoen G.¹, Park K-S.², 針原伸二³, 尾本恵市⁴, Pan I-H.⁵ (1コンケン大学・タイ, 2誠信女子大学・韓国, 3東京大学, 4国際日本文化研究センター, 5台湾大学医学院)

本土日本人、アイヌ、琉球人、韓国人、中国人を含む東アジアの 5 人類集団について、ミトコンドリア DNA の D ループ領域の塩基配列を分析した。293 人の東アジア人について、482 bp の塩基配列を比較したところ、207 の異なる配列のタイプが見られた。これらのうち 189 タイプは、それぞれの集団に特有のものであり、残りの 18 タイプは集団間に共通して見られた。共通のタイプのうち 8 タイプは本土日本人と韓国人とに共通して見られ、比較した中での最大数であった。系統樹分析によって、東アジア人は少なくとも 18 個の単系統クラスターに分類されるが、5 集団からの系統は各クラスター中に完全に混じりあっていた。各クラスターの中で最大数の個体が由来した集団を基にして、18 のうち 14 のクラスターに関してはその特異性を割りあてることが可能であった。注目すべきは、琉球人やアイヌでは大陸由来の特異性をもつ割合は 20% 以下であるのに対し、本土日本人の 50% が、中国人や韓国人が多数を占める大陸由来の特異性をもっていることである。アフリカ人、ヨーロッパ人およびアメリカ先住民を含む現代人全体の系統分析からも、本土日本人と韓国人は遺伝的に最も近い関係にあることが明らかになった。これらの結果は、現代日本人の起源についての縄文・弥生混血説と合い入れるものである。さらに本土日本人の遺伝子プールの約 65% は、弥生時代以後に大陸からもたらされた遺伝子に由来していることが示唆された。詳細は文献 3 に発表した。

(8) ミトコンドリア DNA からみた現代人の起源と拡散: 宝来 聰, 小谷真吾¹, 中沢港¹, 大塚柳太郎¹ (¹東京大学医学部)

昨年までに、すべての現代人は約 14 万 3 千年前のアフリカに存在した祖先集団に由来することを明らかにしてきた。その後何波にも渡る脱アフリカが繰り返され、現在みられる地球上のヒトの分布の原型ができたと考えられる。これまでも種々の人類集団に関して、ミトコンドリア DNA の D ループ領域の塩基配列の決定と分析をおこなってきたが、今回は約 5 万年前にオセアニアに移住した集団の子孫であるパプアニューギニアの先住民(ギデラ族 66 個体)の塩基配列を決定した。アフリカ人、ヨーロッパ人、アジア人、アメリカ先住民、ギデラ族を合わせた計 271 人の現代人の配列の系統分析をおこなった。その結果、ギデラ族は二人を除いて分岐順序にしたがって名付けた五個のクラスター (C1 から C5) のなかに入った。注目されたのは C1 に含まれるギデラ族の系統である。C1 クラスターは系統樹の根から直接派生する数人のアフリカ人の次に分岐する系統である。このことは C1 に含まれるギデラ族の祖先は、かなり早い時期に脱アフリカを行ったことを示唆している。ギデラ族のすべて系統がが系統樹の上で合体するのは、系統樹の最も深い枝の長さ (14 万 3 千年に相当) の 87% に相当する点であり、この点の分岐は 12 万 4 千年前となった。また C1, C2, C3 のクラスターは、他の人類集団からの混じり込みのなく純粋にギデラ族のみから構成されている。一方 C4 や C5 では、クラスターの内部に他の人類集団からの系統が混じり込んでいた。ここからは、C1 から C3 の系統の祖先集団と、C4 や C5 の系統の祖先集団は別々の移住集団であったといえる。また C2 クラスターでギデラ族の系統が合体するのは、系統樹の最長の枝の 30% (4 万 3 千年) に相当するので、C2 に含まれる各系統の多様化は専らパプアニューギニアの中で起こったことが示唆された。詳細は文献 4 に発表した。

(9) ミトコンドリア DNA からみたマカカ属霊長類の系統進化: 早坂謙二, 藤井邦彦, 宝来 聰

13 種類のマカク、ヒヒ、バタスなどを含む 20 個体の霊長類に関して、ミトコンドリア DNA の 896bp の相同領域の塩基配列を決定した。すでに報告のある 4 種のマカクとヒトの配列をあわせて系統関係を分析した。その結果マカカ属は単系統を形成するが、大きく以下の 5 グループに分類された。(1) バーバリーマカク、(2) スラエシマカク、(3) ニホンザル、アカゲザル、タイワンザル、カニクイザル、ベニガオザル、(4) トクモンキー、ブタオザル、シシオザル、(5) アッサムモンキー、ボンネットモンキーである。しかしこの分析からは、チベットモンキーの系統的位位置づけに関しては、この種が 4 あるいは 5 のいずれのグループに属するかがはっきりしなかった。系統樹からは、バーバリーマカクがアジア産のマカクにさきがけて分岐したことが明かとなった。その後 4 グループのアジアのマカクが比較的短時間の間に分岐した。さらに各グループ内では、多くの種がグループの分岐後に相次いで分岐したことが明かとなった。バーバリーマカクとアジア産のマカクの分岐年代を 300 万年前としたとき、アジアのマカクの各グループの分岐は 210-250 万年前、グループ内での種分化の始まりは 140-220 万年前であった。また 3 個体のアカゲザルの塩

基多様度の値は大きく、系統樹でも単系統を形成しなかった。すなわち1個体はニホンザルやタイワンザルとクラスターを形成し、他の2個体は別のクラスターを形成した。このことより、これら3種の分岐以前(約70万年前)に存在したミトコンドリアDNAの多型がアカゲザルで保持されているか、あるいはこれらの3種間でイントログレッションがおこったことが示唆された。詳細は文献5に発表した。

(10) ミトコンドリアゲノムの欠失部の境界領域の同定: 後藤雄一¹, 西野一三¹, 埜中征哉¹, 宝来 聰 (1国立精神神経センター・神経研究所)

ミトコンドリア脳筋症のいくつかの病型や種々の老化組織では、ミトコンドリアDNAの欠失が観察されることが知られている。この欠失の同定には、サザンブロット法が有効であるが、欠失部位のマッピングには数多くのプライマーの組み合わせによるPCR法の活用が必要である。我々は、ミトコンドリアDNAの重鎖と軽鎖の複製開始点の近傍位置に2種類のプライマーを設定したlong PCR法を応用し、欠失の同定とその部位のマッピングを迅速におこなう方法を開発した。このプライマーで増幅される正常のミトコンドリアDNAのサイズは11.2 kbであるが、欠失により生じた短いDNA断片は効率よく増幅され、電気泳動法で簡単に検出できた。このPCR産物を制限酵素Xba I, Bam HI, Hind IIIの三重消化をおこない、その切断パターンより欠失部位のマッピングが可能である。このマッピングの結果より、新たにシーケンス用のプライマーを設定し、塩基配列を決定することによって、欠失の境界領域を正確に決めることができた。詳細は文献6に発表した。

(11) ミトコンドリア脳筋症におけるミトコンドリアtRNAスレオニン遺伝子の変異: 西野一三¹, 後藤雄一¹, 埜中征哉¹, 竹下研三², 宝来 聰 (1国立精神神経センター・神経研究所, ²鳥取大学医学部)

ミトコンドリア脳筋症において、新たな変異を同定した。この患者は、筋力低下、難聴、精神遅滞、発作等の複合した臨床像を示し、筋生検の所見はRagged-red-fiberと部分的なcytochrome c oxidase欠損を示した。この患者のミトコンドリアDNAの全塩基配列を決定したところ、あらたな塩基置換が5カ所で観察された。このうち3カ所は、同義置換であったが、1カ所はcytochrome b遺伝子上のミスセンス変異(塩基座位15422: A→G)であり、残りの1カ所はtRNAスレオニン遺伝子の変異(塩基座位15915: G→A)であった。15422変異および15915変異に関して、ミスマッチプライマーをもちいたPCR法で175人の正常対照を検索した。15422変異は正常人の一人でホモプラスミーとして観察されたが、15915変異は正常人では一例も観察されなかった。この患者においては、15915変異は、筋肉、皮膚および血液においてはヘテロプラスミーの状態で見られた。またこの変異は進化上非常によく保存されているtRNAスレオニン遺伝子のアンチコドン・ステムに起こっていた。これらの所見は15915変異がミトコンドリア脳筋症に関連する新たな点変異であることが示唆された。詳細は文献7に発表した。

(12) MELAS型ミトコンドリア脳筋症における3260変異: 西野一三¹, 後藤雄一¹, 桢中征哉¹, 宝来 聡

母性遺伝する心筋型の筋症はミトコンドリア病の一亜型であり, これまでにヨーロッパ人の二家系でミトコンドリア tRNA ロイシン (UUR) 遺伝子上の塩基座位 3260 での A から G への点変異が報告されている。我々は, MELAS 型のミトコンドリア脳筋症でミオクロヌステんかんを伴う日本人の家系で, 3260 変異を見出した。ミトコンドリア DNA の 22 種類の tRNA 遺伝子をふくむ 13 の領域の塩基配列を決定したところ, 塩基座位 3260 にのみ置換がみられた。ミスマッチプライマーをもちいた PCR 法と制限酵素 Xmn I による分析では, 発端患者以外にその母親と兄弟でも, 3260 変異はヘテロプラスミーの状態で見られた。変異型ゲノムの割合は, 母親の血液で 29%, 患者の筋肉で 87%, 同血液で 51%, 二人の兄弟の血液ではそれぞれ 32%, 44% であった。日本人の MELAS 型脳筋症と病型の異なる心筋型の筋症で同じ変異が見つかったことは注目された。ミトコンドリア DNA の tRNA ロイシン (UUR) 遺伝子上には, これまでに 4 種類の変異が発見されており, すべて MELAS 型と関連したものである。一方ミトコンドリア脳筋症では心筋症を併発する例も少なくなく, 3260 変異は MELAS 型と心筋型の 2 つの病型の発現に関連していることが示唆された。詳細は文献 8 に発表した。

(13) 低分子量 GTP 結合蛋白質の翻訳御修飾機構に関する研究: 檀上稲穂¹, 藤山秋佐夫 (東京大学医科学研究所)

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 (α, β, γ) で構成されており, 膜を介するシグナル伝達において中心的な機能を果たしている。近年になり, これ以外に, 単一ペプチドからなる低分子量 GTP 結合蛋白質が数多く存在することが知られるようになった。ras スーパーファミリーはその代表的なものであり, ras, rap, rho, rab, sas, sec, ypt など, 既に 40 種類をこえる分子種の存在が確認されている。これらの GTP 結合蛋白質は, 細胞内で行われる各種のシグナル伝達 (形質膜シグナル伝達や分泌, 細胞内輸送に関するシグナル伝達など) に関与し, 細胞の増殖・機能制御に重要な役割を果たしている。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。本年度までの研究により, 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, 基質認識に関与する領域が 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ており (文献 11.), 引き続き *in vivo* における解析を進めている。

(14) 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, #9~#12 を除くヒトの染色体特異的ライブラリの作成を世界で初めて完成させた。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である。(論文

準備中)

(15) 単離染色体を用いる 2次元マッピング法の開発: 藤山秋佐夫, 浅川順一¹, 瀧本光弘²
(¹放射線影響研究所, ²新潟大学医学部)

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。現在, 文献 10. で報告した *NotI* 部位の染色体ごとの 2次元スポットマップの情報量を拡充しつつあり, #1, X, #11 染色体についてのマッピング作業と遺伝子機能との関連を中心とした研究を進めている。

(16) 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。

(17) ヒトゲノム画像データベースの構築に関する研究: 藤山秋佐夫, 檀上稲穂¹, 大山彰², 阿久津達也¹ (¹東京大学医科学研究所, ²三井情報開発)

上記研究課題(15)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月に完成しており, 現在は改良作業を進めている。

研究業績

(1) 原著論文

1. 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.
2. Izuhara K., Feldman R. A., Greer P. and Harada N.: Interleukin-4 induces association of the *c-fes* proto-oncogene product with phosphatidylinositol-3 kinase. *Blood*, **10**, 3910-3918, 1996.
3. Horai S., Murayama K., Hayasaka K., Matsubayashi S., Hattori Y., Fucharoen G., Harihara S., Park K-S., Omoto K. and Pan I-H.: mtDNA polymorphism in East Asian populations, with special reference to the peopling of Japan. *Am. J. Hum. Genet.*, **59**, 579-590, 1996.
4. Horai S., Odani S., Nakazawa N. and Otsuka R.: The origin and dispersal of modern humans as viewed from mitochondrial DNA. In: *Ethnoepidemiology on Cancer*. K. Tajima & S. Sonoda (eds.), Gann Monograph on Cancer Research No. 44, Japan Scientific Societies Press, pp. 97-105, 1996.
5. Hayasaka K., Fujii K. and Horai S.: Molecular phylogeny of macaques: implications of nucleotide sequences from an 896 base pair region of mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.*, **13**, 1044-1053, 1996.

6. Goto Y., Nishino I., Horai S. and Nonaka I.: Detection of DNA fragments encompassing the deletion junction of mitochondrial genome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **222**, 215-219, 1996.
7. Nishino I., Seki A., Maegaki Y., Takeshita K., Horai S., Nonaka I. and Goto Y.: A novel mutation in the mitochondrial tRNA^{Thr} gene associated with a mitochondrial encephalomyopathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **225**, 180-185, 1996.
8. Nishino I., Komatsu M., Kodama S., Horai S., Nonaka I. and Goto Y.: The 3260 mutation in mitochondrial DNA can cause mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS). *Muscle & Nerve*, **19**, 1603-1604, 1996.
9. 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 & E. Szathmary (eds.), Oxford University Press, pp. 270-283, 1996.
10. Yoshikawa H., de la Monte S., Nagai, H., Wands J.R., Matsubara K. and Fujiyama, A.: Chromosome Assignment of Human Genomic NotI Restriction Fragments in a Two-Dimensional Electrophoresis Profile. (1996) *Genomics*, **31**, 28-35.
11. Danjoh I. and Fujiyama A.: Enzymatic Characterization of Fission Yeast Farnesyl Transferase; Recognition of the -CAAL motif at the C-terminus. (1996) *European J. Biochem.*, **236**, 847-851.

(2) その他

1. 今村 孝: 貧血, ヘモグロビン異常症. *Current Therapy*, **4**, 32-35, 1996.
2. 眞弓光文, 恩 瑛, 片村憲司, 平家俊男, 出原賢治, 柳原行義: X染色体連鎖重症複合免疫不全症 B細胞のシグナル伝達機構の解析. 厚生省特定疾患原発性免疫不全症候群調査研究班平成7年度研究報告書, 80-82, 1996.
3. 宝来 聰: 人類遺伝学. 「大航海」特集「考古学は世界を変える」, **8**, 72-78, 1996.
4. 宝来 聰: ヒトの起源と現代人の起源. 「蛋白質, 核酸, 酵素」特集「PCR法最新線」, **41(5)**: 321-326, 1996.
5. 宝来 聰: 遺伝子からみた現代人の起源. 「学士会会報」, No. 811, 126-133, 1996.
6. 宝来 聰: 現代人の起源を探る. 「科学技術ジャーナル」特集「歴史と科学」, No. 50, 22-23, 1996.
7. 宝来 聰: ミトコンドリア DNA. 「最新内科学大系」第11巻「ミトコンドリア病, リソソーム病」(井村裕夫・尾形悦郎・高久史麿・垂井清一郎編), 中山書店, pp. 18-28, 1996.

8. 藤山秋佐夫 (分担執筆), 豊島久真男ら編: ゲノム解析 (分子医学シリーズ第1巻), メディカルビュー社, 東京, 1996.
 9. 藤山秋佐夫: 染色体操作技術特集に寄せて, 組織培養, 22, 5-6, 1996.
 10. 藤山秋佐夫: ヒト染色体のソーティング, 組織培養, 22, 47-51, 1996
 11. 藤山秋佐夫 (分担執筆), 藤山秋佐夫・松原謙一監修: ヒトゲノム戦略, ネオ生物学シリーズ第1巻, 共立出版社, 東京, 1996.
 12. 藤山秋佐夫 (分担執筆) 井村祐夫ら編: ヒトゲノム計画の現状, 新内科学体系2「科学としての内科学」, 51-58, 中山書店, 東京, 1996.
 13. 藤山秋佐夫: ゲノムプロジェクトの新展開, 学術月報, 49, 31-36, 1996.
 14. 藤山秋佐夫: ヒト・ゲノム研究の進展, 学術月報, 49, 31-37, 1996.
 15. 檀上稲穂 (訳), 藤山秋佐夫 (監訳): ゲノム解析ベーシック (PRINCIPLES OF GENOME ANALYSIS), シュプリンガーフェアラーク東京, 東京, 1996.
- (3) 発表講演
1. Imamura T.: cDNA selection: Efficient PCR approach for the selection of cDNAs encoded in chromosome 18 DNA fragments. The Fourth International Workshop on Human Chromosome 18. Harvard University, Boston, October 6-8, 1996.
 2. 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. 日本血液学会, 宇都宮, 4月.
 3. 出原賢治, 住本英樹, 布井博幸, 大塚 毅, 山岡邦宏, 有信洋二郎, 竹重公一朗, 今村 孝, 仁保喜之, 原田登之: インターロイキン 4 レセプター α 鎖と p47^{phox} との会合. 日本アレルギー学会, 宇都宮, 10月.
 4. 出原賢治: 伴性重症複合免疫不全症患者における IL-4 のシグナル伝達. 日本臨床血液学会, 大宮, 11月.
 5. 出原賢治, 住本英樹, 布井博幸, 大塚 毅, 山岡邦宏, 有信洋二郎, 竹重公一朗, 今村 孝, 仁保喜之, 原田登之: インターロイキン 4 レセプター α 鎖と p47^{phox} との会合. 日本免疫学会, 横浜, 11月.
 6. 宝来 聰: 人類の起源と拡散. 分子進化学の新視点—生物の地域分布と系統進化—「分子進化の新展開」第2回公開シンポジウム, 東京, 1月.
 7. 宝来 聰: DNA で探る現代人の起源から日本人の成り立ちまで. 総合研究大学院大学グループ研究「生命体科学」公開シンポジウム, 葉山, 1月.
 8. 宝来 聰: DNA からみた現代人の起源と拡散. 愛知県身障者コロニー研究所・特別講演, 愛知, 1月.
 9. 宝来 聰: 現代人の起源と拡散. 司法研修所「判事補 6年間実務研究」特別講演, 和光, 1月.
 10. 宝来 聰: 現代人の起源と日本人の起源. 琉球大学医学部講演会, 那覇, 2月.

11. 宝来 聰: DNA からみた人類の進化. 東京大学医学部・人類遺伝セミナー, 東京, 3月.
12. Horai S.: Mitochondrial DNA polymorphism in East Asian populations, with special reference to the peopling of Japan. IIAS International Workshop "The Origin and Past of Modern Humans: Towards Reconciliation", Kyoto, March.
13. Horai S.: The origin and dispersal of modern humans as viewed from mitochondrial DNA. Intrenatinal Symposium on "Network and Evolution of Molecular Information", Tokyo, April.
14. 宝来 聰: アメリカ先住民のミトコンドリア DNA 多型. 国際学術調査南米合同班会議, 東京, 7月.
15. Horai S.: Dispersal of modern humans to Asia as viewed from mitochondrial DNA. Special seminar at Department of Biochemistry, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand, July.
16. Horai S., Tsugane K., Fujita Y., Fucharoen G., Fucharoen S., Sudoyo H. and Marzuki S.: Mitochondrial DNA polymorphism in Southeast Asian Populations with special reference to the Peopling of Asia. PUS-ICMR Symposium on "Health in Southern Thailand, Genetics and Thalassemia", Songkhla, Thailand, July.
17. Horai S.: Peopling to the Pacific region inferred from mitochondrial DNA. Seminar at Hangaroa Hospital, Easter Island, Chile, September.
18. Horai S.: mtDNA polymorphism and the peopling of Japan. International Research Center for Japanese Studies, International Symposium XI on "Interdisciplinary Perspective on the Origins of the Japanese", Kyoto, September.
19. 宝来 聰, Park K-S., 針原伸二, 尾本恵市, Pan I-H.: ミトコンドリア DNA 多型からみた日本人の成立—東アジア 5 人類集団の比較解析, 第 50 回日本人類学会・日本民族学会連合大会, 佐賀, 10月.
20. 宝来 聰, Fucharoen G., Park K-S., 針原伸二, 尾本恵市, Pan I-H.: 東アジアにおけるミトコンドリア DNA 多型からみた日本人の成立. 日本人類遺伝学会第 41 回大会, 札幌, 10月.
21. 宝来 聰: 遺伝子からみた人類の起源. 日本医科大学・特別講義, 東京, 10月.
22. 宝来 聰: 日本人の起源. 縄文講座「三内丸山人はどこからきたか」, 青森, 11月.
23. 宝来 聰: ミトコンドリア DNA からみた日本人の成り立ち. 日文研共同研究「日本人の地域性」, 京都, 11月.
24. Fujiyama A., Maejima H., Endo M., Takimoto M. and Danjoh I.: Construction of Human Chromosome-Specific Cosmid and Fosmid Libraries. HGM '96, Heidelberg, March.
25. Danjoh I. and Fujiyama, A.: Development of a method to screen conditionally

- expressed genes; I identification and analysis of genes that regulate the response of cells to extra allular signals. HGM96, Heidelberg, March
26. Yoshikawa H., de la Monte S., Nagai H., Wands J.R., Matsubara K. and Fujiyama A.: Chromosome Assignment of Human Genomic NotI Restriction Fragments in a Two-Dimensional Electrophoresis Profile. HGM '96, Heidelberg, March.
 27. Fujiyama A.: Human Genome Analysis Using Sorted Chromosomes. 2nd Franco-Japanese workshop on genomes, Paris, March.
 28. Yoshikawa H., de la Monte S., Nagai H., Wands J.R., Matsubara K. and Fujiyama A.: Chromosome Assignment of Human Genomic NotI Restriction Fragments in a Two-Dimensional Electrophoresis Profile. Cold Spring Harbor Meeting on genome sequencing and mapping, Cold Spring Harbor, May.
 29. Fujiyama A., Maejima H., Endo M., Takimoto M. and Danjoh I.: Construction of Human Chromosome-Specific Libraries. Cold Spring Harbor Meeting on genome sequencing and mapping, Cold Spring Harbor, May.
 30. 天前豊明, 山形哲司, 藤山秋佐夫, 安藤麻子, 猪子英俊, 五條堀 孝, 池村淑道: ヒト染色体バンド境界に正確に同定した DNA 複製終結領域. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8 月
 31. 大山 彰, 金家京 徹, 阿久津達也, 藤山秋佐夫: ゲノム DNA 解析のための 2 次元電気泳動画像処理システム. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8 月.
 32. Ohyama A., Kanaya K., Akutsu T. and Fujiyama A.: An Image Analysis System for Two-Dimensional Gel Electrophoresis. Genome Informatics 1996, Tokyo, December.

E-b. 育種遺伝研究部門

育種遺伝研究部門は、植物の遺伝的改変すなわち植物育種の基礎的研究を目標としており、実際には野生イネおよび栽培イネを用いて、進化と適応および遺伝子の発現調節の機構解明に取り組んできた。昨年に続き本年も人事面で大きな変化があった。教授森島（沖野）啓子と助手平野博之が中心になって研究を進めてきたが、平野は東京大学大学院農学生命科学研究科の助教授に採用され5月1日転出した。代わって、過去2年間外国人研究員として研究に参加していた才宏偉が4月1日付で助手に採用された。昨年同様、秋本正博（北大・農学研究科）が特別研究学生として研究に参加したほか、妹尾治子技官をはじめ多数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、文部省科研費の基盤研究B「イネの進化・適応に関わる遺伝子ネットワークの解析」（代表・森島）、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）、基盤研究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「熱帯アジアにお

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), 基盤研究 A「科学研究者の環境に関する調査研究—男女比較を中心に」(代表・原ひろ子, 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。

当研究所の共同研究としては以下の6件を実施した。「イネ属植物の種分化に関する研究—特にバンコックの深水地帯に分布する変異集団について—(北大・阿部純)」, 「ミトコンドリアゲノムからみたイネ属植物の進化遺伝学的研究(山形大・阿部利徳)」, 「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)」, 「細胞核内の染色体配置を決定するゲノム構造および機能上の要因解析」(農業生物資源研究所・倉田のり), 「分子遺伝学的手法によるイネ科植物の進化の解析」(東大・平井篤志), 「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2件の研究会集「ポリジーン体系の育種戦略(北大・島本義也)」, 「植物の栄養生理と分子遺伝学(東大・茅野充男)」を当部門がお世話した。

本年の国外における活動としては, 1月にタイ国チェンライで開催された国際シンポジウム「アジアにおける生物多様性」に森島が招待され講演した。また森島は10月上旬に韓国慶州で開かれた日韓生物科学シンポジウムに出席発表, 下旬には才助手と共に中国南部における野生イネの調査研究を実施, 11月にはフィリピンの国際イネ研究所のプロジェクトコンサルタントとして招聘され出張した。才はこの機会を利用して, 現在進行中のイネ QTL 解析に関する研究打合わせのため北京農業大学に短期滞在した。

イネ遺伝学研究者の国際的機関誌 Rice Genetics Newsletter の編集委員長を森島が務めることになり, 本年は Vol. 12 を発行した。

(1) 植物の交配様式と自殖弱勢・他殖弱勢: 森島啓子

植物の交配様式と次代個体の適応度との関係は作物の進化や野生植物の適応を考える上で重要な問題である。一般に自殖種子の適応度が他殖種子の適応度の50%より大きければ自殖性に, 小さければ他殖性に集団は移行すると考えられている。本研究では他殖率を異にする野生イネ *Oryza rufipogon* 3 集団の計25個体の間でダイアレルクロスを行い, 両親の近縁度と本来の交配様式が雑種の適応度に関係するかを明らかにしようとした。

1) 自殖性・一年生集団では, 自然集団からの採集種子およびそれに由来する個体の自殖種子は正常に発芽・生育するが, 集団内個体間交配の F_1 種子は発芽率および発芽後の生存率が著しく低かった。不発芽の種子を組織学的に調べたところ, 胚と胚乳の発育が異常であり, 雑種致死と考えられた。

2) 他殖性・多年生集団では, 採集種子は発芽率が低い, 一回自殖すると発芽率は向上する。これは劣性有害遺伝子の発現(自殖弱勢)と自殖によるその淘汰の結果と説明できる。

3) F_1 の栄養生長量は, 雑種強勢を示す組合わせが多いのが一般的だが, 半他殖性集団の集団内個体間交配の F_1 では雑種弱勢を示す組合わせも見出された。雑種致死や雑種弱

勢は、通常はであろうことのない異なる地域の系統間や品種間交配で報告されている。上に述べたような自殖性集団内の他殖弱勢とも云える雑種致死や、半他殖性集団における雑種強勢と雑種弱勢の共存がもし一般的な現象であれば、これらは自殖性の進化や半他殖性成立の要因として働いている可能性が考えられる。

(2) イネの栽培化に関わる量的形質遺伝子座 (QTL) の解析: 才 宏偉・森島啓子

野生イネと栽培イネとの間の本質的な差である自然繁殖能力の有無や種子生産効率などは全て量的形質である。量的形質の遺伝解析は、従来は統計遺伝学的手法による以外、方法がなかった。しかしイネにおいても、ゲノムプロジェクトの研究の進展の結果微細遺伝地図が作成され、分離集団における多数の分子マーカーとの連鎖分析から量的形質遺伝子座 (QTL) を検出しゲノム上に位置づけることが可能になった。私達は栽培化に伴って生じた遺伝的变化の実体を明らかにする目的で、栽培イネ (108, 台湾のインド型) と野生イネ (W1944, 中国の *O. rufipogon*) の交雑に由来する Recombinant Inbred (F₇) 118 系統を用い、各種の量的形質と 85 の RFLP およびアイソザイムのマーカーの変異を調査した。RFLP 分析は日本のイネゲノムチームと Cornell 大学から提供されたプローブを用い、ECL の方法で行った。

解析の対象としたのは種子休眠性、脱粒性、再生力、穂首抽出長、穂数、穂長、粒長巾比、出穂期など 29 の形質である。解析ソフト qGENE を使って分析したところ、次の結果が得られた。全ての形質においてそれぞれ 2~44 のマーカーが 5% レベルの有意性を示した。個々の QTL の説明力は低く、かつ異なる染色体に広く分布していることから、栽培化とは小さな効果を持つ突然変異が徐々に蓄積していったゆるやかな過程であると考えられた。これらのマーカーの中には、互いに発育的に相関していると思われる複数の形質に共通しているものも見出され、多面発現をする QTL の存在が示唆された。また、染色体上の特定の領域に、栽培化の過程で共通の関係にあったと考えられる複数の形質の QTL がクラスターを作っている傾向が認められた。これは "Adaptive gene block" の存在を示唆する。

(3) アジア野生イネの地理的分化: 才 宏偉・森島啓子

アジアの野生イネ *Oryza rufipogon* は多年生型と一年生型に分化しているが、多年生型の方が分布が広く、より原始的な型と考えられている。多年生型系統を中心に調査した昨年に続き、本年は熱帯大陸部で特に分化が顕著な一年生型系統を主として調査した。南および東南アジアの 7 カ国から収集した一年生型 73 系統に同じ地域の多年生型 32 系統を加えて、20 遺伝子座のアイソザイム変異を分析した。Est-1¹ など少数の場合を除いては一年生型と多年生型の間大きな遺伝子頻度の差は見出されなかった。また Est-5³, Sdh-1³, Pgi-1³, Pgi-1⁴ はインド西海岸の系統にのみ高い頻度で検出でき、他の地域では稀であった。

昨年と合わせて 183 系統のデータを多変量解析したところ、中国とインド西海岸の系統群はそれぞれ特異的なグループとして分化していること、その他の地域は全体として一群であるがラオス・ヴェトナムの系統は他地域とやや異なることなどが明らかとなっ

た。従来得られた結果を総合して、表現型レベルでは多年生型対一年生型の変異が、一方アイソザイム・RFLPなど中立的遺伝子のレベルでは地理的変異が主要なもので、アジアの野生イネではこの2つの方向の分化が重層的に生じていると考えられる。(文献3参照)

(4) 中南米に分布する野生イネ *Oryza glumaepatula* の生態型分化: 秋本正博・島本義也¹・森島啓子 (1)応用遺伝研究部門)

Oryza glumaepatula は中南米に広く分布する2倍体野生イネで、栽培イネと同じゲノムを持つため、育種上有用な遺伝資源として注目されている。しかし、この種の生活史特性に関する情報は乏しく、また、他大陸の近縁種との進化的関係も明らかではない。本研究では中・南米より採集された *O. glumaepatula* 40系統について、その生態的、形態的特性の調査を行い、種内変異を明らかにしようとした。また、この種とゲノムを共有する野生種、アフリカの *O. barthii* 38系統、オーストラリアの *O. meridionalis* 22系統およびアジアの *O. rufipogon* 13系統も加えて、11酵素20遺伝子座におけるアロザイム多型を調査し、*O. glumaepatula* と他大陸の野生イネとの類縁関係を検討した。

1) *O. glumaepatula* は大きく次の3つの生態型に分けられた。

中米・南米北部型: 草丈は80-120 cm、多年生の指標である再生力は *O. rufipogon* の多年生型と同程度。穎長に対する葯長の比が0.5-0.7で *O. rufipogon* の多年生型(他種)と同程度。

アマゾン河流域型: 草丈は130-160 cm。葯長相対比が0.4前後で、*O. rufipogon* の一年生型(自殖的)と多年生型の中間。稈の一部が折れやすい特性を持っており、増水期には植物体が地面より離れ、水上を浮遊する。

パンタナール型: 草丈と再生力はアマゾン河流域型と同程度。葯長の相対比は0.3-0.4と *O. rufipogon* の一年生型と同程度。穎長が11-12 mmと長いが、種子長は5 mm程度で、穎と種子粒の間に空洞がある。

2) 表現形質が大きく分化しているにも関わらず、アロザイム多型を指標とした場合、3つの生態型間の遺伝的な分化程度は低いことが確認された。また、*O. glumaepatula* は他大陸の近縁野生種とは異なるアイソザイム遺伝子型を持つことがわかった。細胞質ゲノムの種内・種間変異を調査中である。

(5) 野生イネ (*Oryza rufipogon*) の自生地保全に関する基礎的研究: 秋本正博・島本義也¹・森島啓子 (1)応用遺伝研究部門)

近年急速に進行している野生植物の自生地破壊に対し、遺伝資源保存の立場からもそれらの種の自生地保全の必要性が強く認識されるようになった。自生地保全の具体策を考える場合、実際の自然集団の遺伝的構造やその動態を把握することが必要であるが、それに関する知見は極めて不足している。アジアに分布する野生イネ *Oryza rufipogon* に関して、遺伝的多様性の減少が各地で急速に進行している。本研究では、タイ国アユタヤに自生する多年生型 *O. rufipogon* の一集団を対象とし、過去10年の間に起こった集団の遺伝構造の変化を、遺伝資源の破壊につながると考えられる2つの要因、1) 人間活動による自然集団の破壊、および生息地環境の悪化、2) 栽培イネとの自然交雑による“遺伝的汚染”、

に着目して考察することを目的とした。実験に用いたのはハイウェイと水田にはさまれた約150×70 mの低湿地に生育している集団である。この場所は、1970年代後半より森島らのグループにより定点調査が行われており、当時は野生イネが優占していたが、最近ガソリンスタンドが建設され、それに伴う埋め立てと水質悪化により、野生イネの個体数が減少した。この集団より1985年と1994年に採集された種子サンプルを用いて10酵素15遺伝子座のアロザイム多型性を調査し、遺伝子多様度その他のパラメータを計算して両年を比較した。

集団全体の遺伝子多様度は、1985年には0.278、1994年には0.249であった。多様度を集団間・集団内の要因に分割したところ、分集団化が進んでいることを示唆する結果を得た。分集団内部では遺伝的に単型化する傾向を示した。これは環境破壊による個体数の減少、および少数個体による近親交配が起こったためと考えられる。野生イネ集団は *Pgi-1²* を高頻度で持つのに対し、インド型栽培イネは *Pgi-1¹* を持つ。この野生イネ集団において、*Pgi-1¹* は、水田近傍の個体に認められた。栽培イネと野生イネが隣接する場所では両者の間の自然交雑によって栽培イネの遺伝子が他殖性野生イネへ移入されていることがわかる。これは野生イネの持つ本来の形質が損なわれつつあることを示す。(文献2参照)

研究業績

(1) 原著論文

1. Akimoto M., Shimamoto Y. and Morishima H.: Completely sterile populations of wild rice found in the suburbs of Bangkok. RGN 13, 63-66, 1996.
2. Akimoto M., Shimamoto Y. and Morishima H.: A case study of genetic erosion of wild rice in Thailand. RGN 13, 61-63, 1996.
3. Cai H. W., Wang X. K. and Morishima H.: Geographical differentiation of annual type of *O. rufipogon*. RGN 13, 68-70, 1996.
4. Hirano H.-Y., Eiguchi M. and Sano Y.: A point mutation, G to T, causes the differentiation of the *Wx^b* allele from *Wx^a* allele, which is specific to Japonica rice. RGN 13, 148-150, 1996.
5. Morishima H. and Chitrakon S.: Genetic erosion in rice species. In "Biodiversity in Asia", Ministry of Sci., Tech. & Env., Thailand, pp. 113-116, 1996.
6. Sato Y. I., Chitrakon S., Charoendham P., Shimamoto Y. and Morishima H.: Set-up of a permanent observation site of wild rice in Thailand. RGN 13, 66-68, 1996.
7. Suh H. S., Cho Y. C., Chung T. Y. and Morishima H.: Genetic basis of variation in weedy rice collected from Republic of Korea. Int. Rice Res. Note, 21(1), 7-8, 1996.
8. Yonezawa K., Ishii T., Nomura T. and Morishima H.: Effectiveness of some management procedures for seed regeneration of plant genetic resources

accessions. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **43**, 517-524, 1996.

(2) その他

1. 森島啓子 野生イネー水に対する多様な適応. 井上 健 (編):「植物の生き残り作戦」平凡社, pp. 64-75, 1996.

(3) 発表講演

1. 赤木宏守, 藤村達人, 森島啓子: マイクロサテライト多型を利用した栽培イネの分別の試み. 日本育種学会第 89 回講演会, 川崎, 4 月.
2. 秋本正博, 宮林登志江, 島本義也, 森島啓子: 生息地環境の異なる野生イネの個体再生力の比較. 日本育種学会第 89 回講演会, 川崎, 4 月.
3. 秋本正博, 島本義也, 森島啓子: タイ国における野生イネ遺伝資源破壊の一事例. 日本育種学会第 90 回講演会, 仙台, 9 月.
4. 平野博之, 永口 貢, 松本美和子, 佐野芳雄: トランジェント・アッセイ系によるイネ Wx 遺伝子の発現制御の解析— Wx^a と Wx^b の発現量の差の原因となる配列の同定. 日本育種学会第 89 回講演会, 川崎, 4 月.
5. 平野博之, 永口 貢: イネ Wx 遺伝子座に存在する 2 つの対立遺伝子 (Wx^a , Wx^b) 発現制御の解析. 日本植物生理学会 1996 年度年会, 鹿児島.
6. Kohn J., 森島啓子: 野生イネの一年生・多年生を支配する遺伝子の解析. 日本育種学会第 89 回講演会, 川崎, 4 月.
7. 森島啓子: 野生イネ自然集団における雑種強勢・自殖弱勢・他殖弱勢. 日本育種学会第 90 回講演会, 仙台, 9 月.
8. Morishima H.: Analysis of genes responsible for rice evolution by molecular markers. '96 Korea-Japan Joint Symposium on Application of Gene Technology for the Study of Biological Sciences, Kyohngju, Korea, Oct.
9. Morishima H.: Conservation and genetic characterization of plant genetic resources. 1996 MAFF Workshop on Genetic Resources, Tsukuba, Oct.
10. Morishima H.: Analysis of QTLs underlying the evolutionary changes in rice species. IRRI Seminar, IRRI, Philippines, Nov.
11. Morishima H.: Genetic erosion in rice species. Biodiversity in Asia. Conference on Prospects of Cooperation on Biodiversity Activities, Chiang Rai, Thailand, Jan.
12. 才 宏偉, 王 象坤, 森島啓子: アジア普通野生イネのアイソザイム変異. 日本育種学会第 89 回講演会, 川崎, 4 月.
13. 才 宏偉, 森島啓子: イネの栽培化に関する形質の QTL 解析. 日本育種学会第 90 回講演会, 仙台, 9 月.
14. 才 宏偉: イネの量的形質 (QTL) の分析. 中国農業大学, 植物遺伝育種系特別セミ

ナー, 中国農大, 北京, 11月.

15. 柳田大介, 徐学洙, 森島啓子: 韓国雑草稻の直播適性評価 1. 苗立関連形質. 日本育種学会第90回講演会, 仙台, 9月.

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多型とその品種群の特徴: 島本義也
ペレニアルライグラス (*Lolium perenne*) の世界各地域で育成された128品種を供試して, RFLPによりミトコンドリアDNAの品種間の多型を調査した. 3種類の制限酵素と4種類のプローブを用いたRFLP像に多型が観察された. 12組み合わせの中, 8組み合わせにおいて断片長の頻度に基づいた遺伝子多様度(Ht)は10%以上であった. *nad9* と *coxIII* がハイブリした *Bam*HI 断片長は非常に多型的(Htが60%以上)で, 両者は同じサイズの断片長を80%以上の割合でもっているため, 両遺伝子は密接に連鎖しているものと思われる. RFLP像の組み合わせにより, 品種を群別した. 10品種は, 各々が特異的なミトコンドリアゲノム型(RFLP像の組み合わせ)をもっていたが, 他の118品種は8つの群に分れた. アメリカで育成された品種は, 主に2つの群に特徴づけられたが, 両群間の遺伝的距離が大きく, 2つの母系があると思われる. また, 一つの群は倍数体品種によって形成されており, 特定の母系が素材として使われていることが示唆された. 他は, ヨーロッパの諸国で育成された品種であった.

2. 野生ダイズ自然集団における他殖率の変異: 島本義也

野生ダイズ (*Glycine soja*) は, 栽培ダイズの祖先種として知られ, 東アジアに広く分布している. 野生ダイズは多くの閉鎖花をつけ, 自殖を主とするが, 自殖性植物としては集団の遺伝子多様度が高いことが知られている. 野生ダイズの自然集団の他殖率を推定するために, 秋田県雄物川の上流域の河川敷に設定した4集団について, 15アイソザイム遺伝子座の遺伝子型を同定した. 10遺伝子座で多型が観察され, 遺伝子多様度は0.348と比較的高く, 3.6%の個体が異型接合体であった. MLTプログラム(Ritland, 1990)により推定した複数座を基に他殖率は, 9%から19%, 平均13%であった. 4集団とも, 単一座から推定された他殖率は複数座による値より数%低く, 兄弟交配が生じている事が示唆された.

最も高い他殖率が推定された集団で訪花昆虫を調査した. 昆虫が最も活動する午前11時から午後1時までの2時間に56頭を採取した. 主にニホンミツバチであった. 雄物川集団では, 高頻度で媒介昆虫が観察され, 他殖の機会が大きいと考えられる. しかし, 不和合性機構は持たず, 花器の構造および雌薬と雄薬が開花前に成熟することに起因する自殖の機会も多い. したがって, 野生ダイズの自生集団では, 開花前において訪花昆虫による他殖が行われる結果, 遺伝子流動が起こって, 自殖性植物よりは高い遺伝子多様度が維持されているものと思われる. 詳細は, 文献1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¹ (九州大学遺伝情報実験施設)

この研究は、哺乳類の父親由来・母親由来の遺伝子に発現レベルの差異を与えるゲノムインプリンティング機構についての分子遺伝学的解明を目指している。具体的なテーマとして、インプリンティングのしくみが哺乳類で進化したことの生物学的意義、配偶子形成過程におけるインプリントの賦与機構、インプリントに基づく遺伝子発現調節機構などの諸点を明らかにするため、マウス第7染色体上にある *Ins2/Igf2/H19* 遺伝子クラスターを主なモデル系として以下の研究を行った。

(1) ヒト・マウスのいくつかのインプリンティング領域で得られている知見から、インプリンティングが染色体ドメインレベルで生ずる現象であることを明らかにし、ドメインレベルの転写調節を解析するモデル系となる可能性を検討した (総説 1)。 (2) *Ins2/Igf2/H19* クラスターをカバーする YAC クローンを分離し、コスミドのサブライブラリーを作成した。これに基づき物理地図の作成を進めている。 (3) *Igf2* 遺伝子を含む 28 kb の領域の完全な塩基配列を決定し報告した (原著論文 3)。 (4) *H19* 遺伝子の下流約 40 kb に位置する *L23mrp* 遺伝子を単離した。この遺伝子がインプリンティングを受けないこと、上流の 3 つの遺伝子のインプリンティングに関わる *H19* エンハンサーによる制御を受けないことを示し、インプリンティングドメインの境界が存在する可能性を指摘した (投稿準備中)。 (5) この境界を含むと考えられる *H19-L23mrp* 間の約 30 kb の塩基配列の大半を決定した。 (6) *Igf2* の 3 つのプロモーターが一括して制御されることを示し、ここでもドメインレベルの調節が作用する点を指摘した (投稿準備中)。 (7) 遺伝子のマーカーとなる CpG アイランドを同定する簡便な方法を開発し、実際にこの方法で新規の遺伝子を発見できることを示した (投稿準備中)。この方法を新たなインプリンティング遺伝子同定に応用する予定である。 (8) *H19* の上流にあり、この遺伝子の父親由来・母親由来の対立遺伝子を区別するマーク付け (インプリント) として作用すると考えられる DNA メチル化の違いが、雌雄配偶子の形成過程のどの時期に成立するのかを明らかにした。また前世代のインプリントを消去する時期も特定した (投稿準備中)。 (9) 理研林崎グループとの共同研究により、マウス第9染色体上にある新たなインプリンティング遺伝子 *Grfl* 同定し報告した (原著論文 2)。 (10) 多くのインプリンティング遺伝子に共通に見られる現象として、培養線維芽細胞における静止期特異的発現上昇を発見した (投稿中)。インプリンティングの進化・機構を探る手がかりとなる可能性がある。

研究業績

(1) 原著論文

1. Fujita R., Ohara M., Okazaki K. and Shimamoto Y.: The extent of natural cross pollination in wild soybean (*Glycine soja*). J. Heredity, 88, 74-78, 1997.
2. Plass C., Shibata H., Kalcheva I., Mullins L., Kotelevtseva N., Mullins J., Kato R., Sasaki H., Hirotsune S., Okazaki Y., Held W. A., Hayashizaki Y. and Chapman

- V. M.: Identification of *Grf1* on mouse chromosome 9 as an imprinted gene by RLGS-M. *Nature Genet.*, **14**, 106-109, 1996.
2. Sasaki H., Shimozaki K., Zubair M., Aoki N., Ohta K., Hatano N., Moore T., Feil R., Constancia M., Reik W. and Rotwein P.: Nucleotide sequence of a 28-kb mouse genomic region comprising the imprinted *Igf2* gene. *DNA Res.*, **3**, 331-335, 1996.
- (2) その他
1. Nakao M. and Sasaki H.: Genomic imprinting: significance in development and diseases and the molecular mechanisms (review). *J. Biochem.*, **120**, 467-473, 1996.
- (3) 発表講演
1. 島本義也・佐藤美幸・富永陽子: ベレニアルライグラス品種のミトコンドリアゲノム型による分類とその特徴. 平成8年度日本草地学会, 岐阜, 3月.
 2. 島本義也・福士泰史・阿部 純・高 忠・許 東河・蓋 鈞鎰: 中国に自生するツルマメの細胞質ゲノムの多型. 日本育種学会第89回講演会, 東京, 4月.
 3. Shimamoto Y., Fukusi Y., Ohara M. and Abe J.: Genetic diversities of chloroplast and mitochondria genomes of the wild soybean, *Glycine soja*, in China. The 6th biennial conference on molecular and cellular biology of the soybean. Columbia, August.
 4. 島本義也・藤田 玲・大原 雅: 野生ダイズ自然集団における他殖率の変異. 日本育種学会第90回講演会, 仙台, 9月.
 5. 佐々木裕之, 波多野直哉, モハマドズバイル: インプリンティングを受けるマウス *Igf2* 遺伝子の発現制御機構. 日本発生生物学会第29回大会, 京都, 5月.
 6. 武田裕彦, 佐々木裕之, 巖 佐庸: ゲノムインプリンティングの数理モデル: 差次的増殖因子発現の論理. 日本発生生物学会第29回大会, 京都, 5月.
 7. 植田孝之, 丹羽勝利, 野口基子, 河野友宏, 高木信夫, 松田洋一, 藤本弘一, 城石俊彦, 森脇和郎, 芝田英生, 林崎良英, 佐々木裕之: *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. 日本発生生物学会第29回大会, 京都, 5月.
 8. 大野みずき, 野上正弘, 深川竜郎, 浜田 玲, 佐々木裕之, 池村淑道: pseudoautosomal boundary-like (PABL) 配列からの転写産物の間期核内配置: 多色 FISH による解析. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会, 札幌, 8月.
 9. Zubair M., Surani A., 佐々木裕之: インプリンティングドメインに隣接する *L23 mrp* 遺伝子の解析. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会・

- 合同年会, 札幌, 8月.
10. 植田孝之, 丹羽勝利, 野口基子, 河野友宏, 高木信夫, 松田洋一, 藤本弘一, 城石俊彦, 森脇和郎, 芝田英生, 林崎良英, 佐々木裕之: *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69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会, 札幌, 8月.
 11. 加藤玲子, 佐々木裕之: ゲノム DNA およびクロン化 DNA 中の CpG アイランドの簡便な検出法. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会, 札幌, 8月.
 12. 林田敏郎, Eversole-Cire P., Jones P., 佐々木裕之: インプリンティング遺伝子群の静止期特異的発現上昇. 第69回日本生化学会大会・第19回日本分子生物学会年会・合同年会, 札幌, 8月.
 13. 佐々木裕之: ゲノムインプリンティングと CpG アイランド. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「DNA のメチル化とその影響する形質」, 大阪, 9月.
 14. 佐々木裕之, Zubair M.: マウスインプリンティング領域の下流にある *L23mrp* 遺伝子の構造と発現調節機構. 日本人類遺伝学会第41回大会, 札幌, 10月.
 11. 佐々木裕之: ゲノム刷り込みと染色体ドメイン単位の遺伝子制御. 第6回別府ハーバー国際シンポジウム, 別府, 11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。動植物・微生物の遺伝学的系統を用いた研究と系統の開発・保存事業を行うセンターとしての発展を目指している。各研究室の教官構成に関してこれまでになく充実した体制を実現することができた。すなわち, 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, 植物保存研究室が倉田のり助教授と伊藤幸博助手, 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, 野生マウス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, 平成6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る, 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8年4月から、榎屋啓志氏が、非常勤研究員（中核研究機関研究員）として研究に参加した。また、中外製薬（株）創薬開発研究所の福田達也氏が受託研究員として研究に参加した。昨年に引き続き総合大学院大学遺伝学専攻としての教育・研究活動も進められ、石島淳子、磯部拓の2名が大学院に在籍し、佐藤 肇（東北大学大学院医学研究科）、上田佳宏（福山大学大学院工学研究科）、清水邦彦（日本大学大学院松戸歯学研究科）が特別研究生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（金沢がん研）、山口泰典（福山大学）、宮下信泉（香川医大）、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）、野口基子（静岡大学）の8名が参加した。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。城石助教授、小出助手、榎屋研究員は、10月6日から10月11日まで仏国パリ市で開催された第10回国際マウス・ゲノム・カンファレンスに参加し研究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。さらに、この後、城石助教授は、10月16日まで独国ミュンヘン市のGSF哺乳動物遺伝研究所を訪問し研究成果を発表し情報交換を行った。

マウス系統の維持分譲事業としては、「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8年12月現在、82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」と今年度より認められた「マウス胚凍結による系統維持事業費」により、薩川美代子と水品洋一の2名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214系統、40,500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、68系統、15,355個の受精卵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

(a) Y染色体特異的な塩基配列DYH1によるマウス亜種分化：上田佳宏、嵯峨井知子、森脇和郎¹、城石俊彦（¹総合研究大学院大学）

染色体の組換えが生じないY染色体上の遺伝子を指標にして野生マウスの亜種分化を検討していくことは、マウスの野生集団における各遺伝子の変異の推移を連続的に分析し得るという点で有用である。塩基配列DYH1は、ヒトKRAS2遺伝子の一部と相同性を有するマウスY染色体に特異的な516bpの塩基配列である。塩基配列DYH1の機能の有無等は未だ不明だが、この塩基配列を指標として、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、PCR分析法を用いてマウス各亜種についてのDYH1配列の有無を調べた。この結果、この配列は西ヨーロッパ産の*domesticus* 亜種や東南アジア産の *casta-*

neus 亜種には存在せず、東ヨーロッパから朝鮮半島、日本に至るユーラシア大陸に広く分布する *musculus* 亜種の Y 染色体上に存在することがわかった。この多型分布は、他の Y 染色体特異的な塩基配列 *Sry* や *Zfy-2* の多型分析と比較しても、全く異なり極めて特異的であることがわかった。DYH1 や他の塩基配列の分布様式と野生マウス亜種進化との関連性や、性分化に関連している遺伝子群との関連性についても今後詳細に検討していく予定である。

(2) マウス減数分裂期相同染色体間組換え機構

(a) MHC クラス II 領域における Pb ホットスポットの構造解析: 磯部 拓, 吉野正康¹, Fischer Lindahl K.¹, 小出 剛, 水野健一², 森脇和郎³, 城石俊彦 (¹Howard Hughes Med. Inst. Univ. Texas, ²理化学研究所, ³総合研究大学院大学)

マウス主要適合抗原複合体 (MHC) のクラス II 領域は、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調べられている。そこでは組換えは任意に起こるのではなく、ある特定の領域 (ホットスポット) 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、それらは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* 遺伝子近辺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* 遺伝子近辺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* 遺伝子近辺にあるホットスポットの塩基配列を決定することは、ホットスポットの原因究明に新たな知見を与えると思われる。

これまで、当研究室で、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に交配したところ、*Pb* 遺伝子近傍にあるホットスポットでの組換え体を 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での組換え切断点の領域は 15 kb まで縮まっている。今回、その 15 kb の DNA 断片に関して、制限酵素地図を詳細に作製した。それを基に、組換え切断点の分子マッピングを行い切断点を含む領域を 2.4 kb 以内の DNA 断片に狭めることができた。現在、この領域の塩基配列の決定を行っている。さらに、CAS4 ハプロタイプを持つマウスと wm7 以外のハプロタイプを持つマウスとの組換え体を解析した。その結果、組換え切断点は、2.4 kb の DNA 断片を含む比較的広い範囲に分布していることが分かった。

(3) マウス形態形成の遺伝的解析

(a) マウス中軸骨格異常を示す *Tail-short* (*Ts*) 遺伝子の探索: 清水邦彦, 小出 剛, 三田晃彦, 内田紀久枝, 若菜茂晴¹, 吉川欣亮², 米川博通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 (CMPD1) がマップされている領域と相同性 (Synteny) を持つ。このことから、*Ts* は CMPD1 の発症機序を知る上での重要なモデル系になると期待されてきた。我々は、マウスの *Ts* とヒトでの CMPD1 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 D11Mit256 に挟まれた 0.16cM の領域内に存在することが明らかとなった。マウスゲノムでは、1cM が約 2Mb に対応することから *Ts* 遺伝子の位置は約 320 kb の DNA 領域に限定されたことになる。最近になって、CMPD1 は、性決定遺伝子である SRY 遺伝子と共通の DNA ドメインを有する *Sox9* が原因遺伝子であることが報告された。本研究において、*Ts* と *Sox9* の間に複数の組み換えが見られたことから、*Sox9* が *Ts* の原因遺伝子でないことが示された。従って、ヒトにおいてもマウスに対応する領域に未知の骨形成に関与する遺伝子が存在し、かつその遺伝子の異常が原因となる疾患が存在する可能性が考えられた。ヒト疾患である Meckel syndrome (OMIM2400) (MES) が最近になって 17q21-q24 にマップされた。この位置は、マウス *Ts* 突然遺伝子と Synteny を示す領域であり MES がヒトの *Ts* 相同遺伝子の異常によって生ずる疾患である可能性がある。

本研究の結果作成された高密度連鎖地図の情報を基に、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 クローンをすでに1つ得ていたが、本年度 Reserch Genetics 社より新たな YAC ライブラリーが作成され、さらに6つの YAC クローンがスクリーニングでき、合計7種類のポジティブクローンを同定した。現在、これらの YAC クローンの末端マーカーを作成し、さらに詳細な *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探索する cDNA 選択法などの手法を用いて候補遺伝子のクローニングを進めている。

(b) *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, 三田旻彦, 内田紀久枝, 城石俊彦

Ts ヘテロ個体に特徴的な表現型としては、約 24 h の発生遅延、骨形成異常 (多指症含む)、頭部神経管形成異常 (脳脱, 二分脊椎, 口蓋裂など) などを起こし、まれに臍ヘルニアを伴う。これらのうち重度なものについては、出生後致死になると考えられる。*Ts* ヘテロの表現型が、他の多くの突然変異マウス同様、その遺伝的背景により変化することは確認されているが、今回、我々は、日本産野生マウス由来の近交系である MSM 系統との F₁ に、C57BL/J 系統を交配して ((TSJ/Le-*Ts*+/+ × MSM)F₁ × C57BL/6J) 得られた *Ts* ヘテロ個体に対して解剖学的な観察を行った。その結果、この遺伝的背景では骨形成異常が全体的に抑制される一方で、特定の型の形態異常が生じるようになることがわかった。第一に、第7頸椎に肋骨様の構造ができ、胸椎化することである。さらに、第10胸椎が *Ts* ヘテロ個体については11番目となり、それに伴い胸椎数が1つ増加する。これら2つの主

な変異は、ほとんど全ての *Ts* ヘテロ個体について観察される。それに加え、特に注目すべきことは、第7頸椎の胸椎化については、右と比較し、左側の方が胸椎化の傾向が強く、左右軸に対して非対称的なことであった。*Ts* ヘテロ個体には、少ないが指前側多指等の手指の異常(約9%)があり、それについても、後肢についてはそのほとんどが右側(異常全体の96%)に発症している。また、*Ts* の上腕骨長についても左右非対称の報告があり、*Ts* 遺伝子が左右の対称性に何らかの役割を果たしていることは確かと思われる。

このような *Ts* の表現型は、頸椎の胸椎化については、典型的な“後方化”現象と考えることができる。胸椎数の増加についても、胸椎の前方側から第10胸椎を含む後方側の広い領域で椎骨の“前方化”が起こっており結果的に胸椎数の増加を引き起こしているとも考えることが可能である。*Ts* のホメオティック変異が、*Hox* 遺伝子の発現領域の変化に基づくものであるのなら、*Ts* 遺伝子の本来の機能としては、複数の *Hox* 遺伝子の発現を前後軸のかなり広範にわたって制御しているものと予想される。現在、*Ts* ヘテロ個体で、実際に *Hox* の発現領域が変化しているのか、又、観察されるホメオティック変異との関連性について解析を進めている。

(c) *Ts* の表現型に関わる遺伝子(群)の探索: 石島淳子, 三田旻彦, 内田紀久枝, 城石俊彦

Tail-short (Ts) の表現型は遺伝的背景により大きく変化することが特徴的である。このことは、*Ts* 遺伝子が発生上重要な役割を持つ遺伝子であり、かつその機能に関与する遺伝子群が、系統間で多型的であることを示唆している。現在、遺伝的背景の差が *Ts* 遺伝子の表現型に与える影響を比較し、その分子的基盤について遺伝学的に明らかにするため以下の研究を行っている。

1) マウス近交系間に保持されている *Ts* 遺伝子の多型性について: *Ts* のヘテロ個体と、幾つかの実験用近交系マウス(A/J, C3HSW/SnJ, CBA/J, AKR/J, BALB/cAnN, C57BL/6J, CBA/2J, SJL/J)との交配を試みた。連鎖解析により明らかとなった、*Ts* 遺伝子の近傍に位置するマイクロサテライトマーカーを利用して遺伝子型を判定すると、A/J, C3HSW/SnJ, CBA/J, AKR/Jとの交配では、*Ts* の対立遺伝子上にそれらの近交型由来の染色体がある場合のみ、致死となる結果が得られた。このうちA/J, C3HSW/SnJ, CBA/Jについては、約70年前の同一のストックを起源としている。A/Jとの交配で得られる胚体について観察を行うと、*Ts* ヘテロの胚体は囊胚形成初期より異常が顕著であり判別が可能である。特に胚体遠位側の中胚葉形成が少なく、胚体は約12.5dpcまでに致死となる。この結果から *Ts* 遺伝子はマウスの初期発生上重要な役割を持つ遺伝子であり、さらにその対立遺伝子は実験用近交系マウス間でも多型的であると考えられる。今後は、マウス初期発生において *Ts* 遺伝子と相互作用する遺伝子群を調べ、実際に *Ts* 遺伝子が発生どの段階で機能しているのかを明らかにする。

2) *Ts* 修飾遺伝子(群)の探索: *Ts* ヘテロ個体とMSM系統とのF₁に、C57BL/J系統を交配した *Ts* ヘテロ個体((TSJ/Le-*Ts*/+×MSM)F₁×C57BL/6J)では、曲尾の他は外見上の異常はあまり示さない。その一方で、C57BL/6J系統とのF₁に戻し交配すると

((TSJ/Le-Ts/+×C57BL/6J)F1×C57BL/6J), 得られた *Ts* ヘテロ個体は, なんらかの頭部神経管形成異常(脳脱, 二分頸椎, 口蓋裂)を生じ致死となる. このことは, *Ts* 遺伝子の表現型に影響を及ぼす *Ts* 修飾遺伝子(群)が, C57BL/6J と MSM 系統との間で多型的であることを示している. 現在, *Ts* 遺伝子を修飾していると考えられる遺伝子(群)の, 染色体上の位置を探索するとともに, *Ts* の神経管形成異常の機構について解析を行っている.

(d) *Rim4* 修飾遺伝子のマッピング: 榎屋啓志, 嵯峨井知子, 城石俊彦

複雑な体制を成す生物の形態形成は様々な組織, 細胞間の相互作用を通して行われる. そこにはそれぞれの細胞で働く多くの遺伝子の複雑なネットワークがある. 形態形成についての遺伝学的ネットワークの研究は主にショウジョウバエを材料として発展してきた. ショウジョウバエでは突然変異系統において第二の突然変異を誘発し, その表現型を抑制するもの(サプレッサー)を選択することが可能である. マウスでは, 多くの実験用近交系統が確立されており, その遺伝的背景の相違により, しばしば特定の突然変異の表現型に変化をもたらすことがある. ある突然変異に対して, 特定の系統の遺伝的背景が表現型の抑制などの明らかな表現型の変化を示す場合, 突然変異と相互作用を持つ遺伝子の解析が可能となる. 近年になって, 癌, 糖尿病, 肥満など複数の遺伝子によって支配されている遺伝的形質での遺伝子マッピングの試みが多く行われるようになってきた.

我々は, すでに軸前側多指症を示す6つの突然変異体 (*Recombination induced mutant 4 (Rim4)*, *Hemimelic extra-toe (Hx)*, *Extra-toes^l (X^l)*, *luxate (lx)*, *Strong's luxoid (lst)*, *X-linked polydactyly (Xpl)*) の多指症が肢芽前線部での異所的な *Sonic hedgehog (Shh)* 遺伝子の発現に起因する肢芽前後軸形成異常であること, 肢芽前線部で *Shh* 発現を抑制する遺伝的カスケードが存在することを明らかにしている.

Rim4 ヘテロの表現型である軸前側多指症の発現率は, NZB 系統との F1 ではほぼ 100% であるが, MSM 系統との交配では 0% となる. 本研究では, この表現型発現率の遺伝的背景による変化に注目し, MSM ハプロタイプ内に局在する *Rim4* 表現型の抑制に関与する遺伝子 (*Rim4* 修飾遺伝子) のマッピングを試みた. (MSM×NZB) F1×C57BL/10/*J-Rim4*/+ の交配で得られた 381 個体内, 多指症を示した 57 個体を対象にして, X 染色体以外の全ての染色体上の SSLP マーカーについて MSM, NZB のいずれの多型を示すかを検討した. その結果, 現在のところ二つの候補となる遺伝子座を特定している. 一つは *D2Mit13*, *D2Mit126*, *D2Mit130* 近傍で, MSM 型のアレルの出現率は 22.8%, ロッド得点は 3.9 を示した. もう一つは *D15Mit2* 近傍で MSM 型のアレルの出現率は 31.6%, ロッド得点は 1.6 を示した. *D2Mit13*, *D15Mit3* での正常個体を含めた任意抽出の子孫における MSM 型のアレルの出現率はそれぞれほぼ 50% であり, これらの結果が対立遺伝子伝達比の偏り (Transmission Ratio Distortion (TRD)) などによる二次的な原因に依るものでないことを示している. 最近になって *Rim4* と酷似する表現型を示す軸前側多指症突然変異である *lst* が *D2Mit130* に強く連鎖することが報告された. このことは *Rim4* 遺伝子が *lst* 遺伝子と相互作用をもつこと, 肢芽前後軸形成において, *lst* 遺伝子が *Rim4* 遺

伝子の下流で機能することを示唆している。 *lst* ヘテロの多指症を MSM ハプロタイプが抑制する結果も得られており、このことを支持している。現在、 *lst* 修飾遺伝子のマッピングのための交配を行っている。

(e) 四肢形態変異マウス *Hx* の遺伝学的解析: 嵯峨井知子, 樹屋啓志, 城石俊彦

Hemimelic extra toes (Hx) 変異マウスは B10.D2 系統に生じた突然変異で、軸前側多指症に加え、後肢脛骨、前肢橈骨の形成異常を示す。 *Hx* 遺伝子は第 5 染色体上にマップされており、合肢症を示す *Hammer toe (Hm)* 遺伝子座に極めて近接していることが知られている。また、この領域と相同なヒトの 7q36 領域には複雑な多、合指症に関与する遺伝子がマップされ、ヒトとマウスのこの領域には四肢のパターン形成に関係する遺伝子が含まれることが示唆されている。さらに、 *Hx* を含む複数の軸前側多肢症変異体で *shh* および *Fgf-4* が肢芽前端部に異所的に発現していることが報告されている (Masuya *et al.* Genes & Dev., 9, 1645-1653, 1995) が、 *shh* と *Hx* あるいは *Hm* 遺伝子座が近接していることから、 *shh* 遺伝子が *Hx* の候補遺伝子の一つに上げられている。私達は、 *Hx* 変異体を通じて四肢形態形成に関与する遺伝子を同定する目的で *Hx* 遺伝子の詳細な染色体マッピングを行なっている。また交配相手により表現型が異なるため、修飾遺伝子の関与についての解析も行なっている。

(4) 新しい実験用マウス系統の開発と特性研究

(a) マウス・コンソミック系統の作成: 城石俊彦, 三田旻彦, 高田京子, 内田紀久枝, 若菜茂晴¹, 米川博通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)

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 (Consomic) 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。コンソミック系統の作成は、供与 (ドナー) 系統の特定の染色体を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昨年度から開始した。これまで、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。

現在までのところ、多くの系統が戻し交配の第5世代まで到達している。さらに世代を進めて、コンソミック系統を完成する計画である。

(b) 日本産愛玩マウスに由来する新しい近交系統 (JF1) の研究への利用にむけて: 小出剛, 内田紀久枝, 三田旻彦, 嵯峨井知子, 城石俊彦, 森脇和郎¹ (総合研究大学院大学)

日本では古くから鼠が愛玩用に飼育され、毛色、体格や行動に関する様々な変異体が存在していた。そのような様子は江戸時代に作られた浮世絵や根つけに施された装飾に見られ、また変異体の飼育や交配の方法などを記した珍玩鼠育草という本も銭屋長兵衛なる人物により1789年に出版されている。こうした愛玩用鼠はヨーロッパから日本を訪れた人々の興味をひくこととなりヨーロッパへ持ち帰られた。それら日本産愛玩用鼠の子孫は1940年頃まで欧米に存在し、一部の研究者により研究に利用されていたことが古い論文をみるにより分かる。しかし広く欧米で飼育されていたと思われる日本産愛玩用鼠も、その後研究論文からは姿を消し絶滅したと考えられていた。今日世界中の研究者に広く用いられている実験用マウス系統は遺伝的には主にヨーロッパ産野生マウス (*Mus musculus domesticus*) に由来しており、日本産愛玩用鼠についてはヨーロッパ産マウスに交配されたことにより、一部の遺伝子が遺伝的にヨーロッパ産マウスに導入されたと考えられている。

その後、デンマークにおいて Japanese Mouse として飼育されているマウスが現存していることがわかり、Aarhus 大学の T. J. Nielsen 博士の御助力により1987年にそのマウスが本研究所に導入された。その Japanese Mouse は先に述べた珍玩鼠育草の中の図にも示されている鼠と同様の特徴を持ち、全体が白地で一部に黒の斑点を示す所謂ぶちの毛色を有するものであった。以後 Japanese Mouse の兄妹交配がすすめられ1996年現在までに28世代が経過し、近交系マウス JF1 が樹立された。このマウスは元の名の示すとおり日本産野生マウス *M. m. molossinus* としての様々な特徴を維持している。例えば、体長が *Mus musculus* 種の他の亜種に比較して短く、さらに体長に対し尾長が短いことが形態的な特徴であり、JF1 はこれらの特徴を維持している。また、マイクロサテライトマーカーの多型を他の実験用近交系統である C57BL/6 や DBA/2 などのものと比較すると、多型性は約80%と高く、ヨーロッパ産のマウスに起源を発するとされる一般的近交系統とは大きく異なっている。その一方で、日本産野生マウスから樹立された近交系統 MSM と比較すると、マイクロサテライトマーカーの多型性は約40%で、JF1 は *M. m. molossinus* と遺伝的に近いことが示された。さらに、JF1 は MHC のクラス I に K^f ハプロタイプを有し、日本産野生マウスに対する複数の抗 K^f モノクローナル抗体を用いた解析から、JF1 にみられる K^f ハプロタイプは日本に広く分布する野生マウスのもので同一で、中国では一部の地域でしかみられないものであった。これらのデータから JF1 は形態学的にも遺伝学的にも日本産野生マウス *M. m. molossinus* に近いことが示された。

JF1 はその毛色に特徴があり、この毛色に関わる遺伝子を明らかにするために、高密度連鎖解析を行った。その結果、白黒ぶちの毛色の原因遺伝子は *piebald* (*s*) 遺伝子座に連鎖していることが示された。*s* 遺伝子は *endothelin receptor type B* (*ednrb*) をコードして

おり、その遺伝子の発現が抑制されることによりぶちの毛色をもたらす。また、古典的な突然変異体である s アレルはその構造遺伝子内にアミノ酸の変化をもたらす突然変異を持たないものの、実験用系統である C57BL/6 系統のものと比較すると構造遺伝子内に 2 塩基の置換が存在していることが既にわかっている。そこで JF1 の *ednrb* 遺伝子を RT-PCR 法により増幅し、その塩基配列を解析した。その結果 JF1 の *ednrb* 遺伝子は古典的な s アレルと同一の塩基配列をもつことがわかった。これらの結果から現在の一部の実験用系統が有し、古典的な毛色突然変異として知られる *piebald* (s) アレルは、古く日本産愛玩用鼠に由来することが示唆された。

今回の研究から、日本産愛玩用鼠から新しく樹立された近交系統 JF1 は遺伝的に *M. m. molossinus* に近く、*M. m. domesticus* から樹立された一般的な実験用系統とは遠く離れていることが示された。JF1 は飼育繁殖や取扱いが容易で、しかも実験用系統に対しマイクロサテライトマーカーの多型性に富むことから、遺伝的マッピングなどのマウスを用いた遺伝的解析に有用な系統であることがわかった。さらに強調すべきは、JF1 は既に存在している実験用系統には見られない独特の様々な遺伝的性質を保有している可能性を秘めていることである。実際、いくつかの形態異常を伴う突然変異の発現に影響を及ぼす修飾遺伝子群が JF1 には存在することがわかってきている。また愛玩用鼠として長く選択的交配を繰り返された結果、JF1 の行動は穏やかであり、遺伝的に近縁の *M. m. molossinus* 由来の近交系統 MSM とはその行動において大きく異なっていることがわかっている。今後、様々な研究分野で、JF1 が新しい多くの情報をもたらしてくれることを期待する。

(5) マウスゲノム解析

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

多因子疾患である I 型糖尿病のモデルマウス NOD/Shi においては、major 遺伝子で MHC に連鎖している *Idd1* の他に、各種系統との交配実験の結果から 15 個の minor な糖尿病感受性遺伝子がマウスのゲノム上にマップされている。このうち分子レベルで詳細に解析されたのは *Idd1* のみである。我々は糖尿病の様々な病態に関与すると考えられるいわゆる minor な糖尿病感受性遺伝子の解析を進めるため、第 3 染色体にマップされた *Idd3* および第 11 染色体上の *Idd4* について、この領域に日本産野生マウス MSM 由来の染色体領域を導入したコンジェニックマウス NOD/Shi-*Idd3*^{nod/msm} および NOD/Shi-*Idd4*^{nod/msm} を作出して解析をおこなってきた。その結果、コンジェニックマウス NOD/Shi-*Idd4*^{nod/msm} は、NOD/Shi に比べ糖尿および Insulinitis は抑制されなかったが、*Idd4* の MSM 由来の遺伝子座をホモにもつ NOD/Shi-*Idd4*^{/msm/msm} を作出しところ、NOD/Shi に比べ早期 (15 Wks~20 Wks) に糖尿病を発症した。すなわち、MSM 系統は NOD 系統に比して早期に糖尿病発症させる recessive な *Idd4* 遺伝子を持つことが推察された。さらに、*Idd4* を詳細にマッピングするため、Acrb-Mpo 間約 10 cM における recombinant 個体を得て、MSM アレルがホモとなる個体を作製し、早期の糖尿発症率が NOD のアレ

ルに比して高くなることを指標に解析したところ、*Idd4* は *Acrb-D11Nds1* 間約 4cM 以内にマップしていることが明らかになった。一方、NOD/Shi を背景に MSM 由来の *Idd3* および *Idd4* の両遺伝子座をもつダブル・コンジェニックマウスを作出したところ、MSM 由来の *Idd-3* 遺伝子により糖尿および Insulinitis が抑制された。この症状を指標に *Idd3* 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 NOD/shi. および NOD/Shi-*Idd3*^{msm/msm} の IL-2 の機能解析をするため両系統からリンパ球を採取し、CD3+ 刺激後 IL-2 依存性マウス細胞株 HT-2 に対する取り込みを指標に、上清を ELISA 法で測定した。その結果、コンジェニックマウス NOD/Shi-*Idd3*^{msm/msm} の IL-2 の産生能は NOD/shi より高いことが明らかになった。今後、発生工学的手法により NOD/Shi マウスにおける IL-2 と糖尿病発症との関連について検討していく予定である。

(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 III: 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 (東京都臨床医学研究所循環器病研究部, ²東北大学医学部眼科教室, ³総合大学院大学, ⁴実験動物中央研究所 DNA 解析室)

H-2.wm7 ハプロタイプに由来する H-2 内組換え体に複数生じた自然突然変異 (Recombination induced mutant; RIM) の一つ、*rim2* 変異体について解析を行なっている。これまでに *rim2* 遺伝子が第 13 染色体上に位置する *pearl* (*pe*) の対立遺伝子であること、*pearl* や多数の毛色変異体と同様に血小板の機能障害を示し、ヒトの storage pool 病 (SPD) のモデル動物になりうることなどを報告した。症状の多様性から SPD には複数の原因遺伝子が関与している可能性が考えられる。このため、これまでに SPD モデル動物とされている毛色変異マウスについて遺伝子のポジショナルクローニングが行なわれ、細胞内小胞輸送に関係すると考えられる候補遺伝子が同定されている。私達は *rim2* および *pearl* 遺伝子のポジショナルクローニングを行なう目的で *rim2* 遺伝子領域について YAC contig の作成を行なってきた。初めに *rim2* の表現型と組換えを起こさない二つのマイクロサテライトマーカーでライブラリーのスクリーニングを行い、各々のマーカーを含むキメラでない二つの YAC クローンを得た。これらは互いに末端の重なりがなかったため両クローンの両末端フラグメントを分離し、それらを STS マーカーとして再度ライブラリーのスクリーニングを行なった。その結果、両クローンの間をつなぐクローンおよび、表現型と最小の組換え値を示す両側のマーカーを含むクローンを得た。この結果、最大で 1.5 Mb と推測される YAC contig によって *rim2* 遺伝子領域をカバーすることができた。今後は contig に含まれる YAC クローンの中から *rim2* 遺伝子を含むクローンを同定するため、YACDNA を用いた遺伝子導入実験による *rim2* 表現型の相補性実験を行なう計画である。

(c) *Rim3* 遺伝子のマッピングおよび組織学的検討: 佐藤 肇, 小出 剛, 樹屋啓志, 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 突然変異体の一つであり, 無毛, 角膜混濁の表現型を示す. この *Rim3* 変異遺伝子をマッピングするために cross I; (C57BL/10-*Rim3*/+×MSM)×C57BL/10 および cross II; (C57BL/10-*Rim3*/+×JF1)×C57BL/10 の交配実験を行った. その結果, この変異遺伝子は第 11 番染色体上に cross I では cen ...*Mit145*-0.22cM-*Rim3*-0.07 cM-*Mit14, 124, 197*... また cross II では cen ...*Mit145*-0.30cM-*Rim3, Mit14, 197*-0.15 cM-*Mit124*... のオーダーでマッピングされた. この遺伝子座の近傍にはケラチン type1 遺伝子 (*Krt1*) が位置し, 少なくとも 11 種類の遺伝子が存在することが予想されており, その分布は比較的詳細に知られている. *Rim3* が角膜で発現しているケラチン 12, 表皮で発現しているケラチン 10, 14, 17 遺伝子の変異でないことは連鎖解析より明らかになった. また, 第 11 番染色体上のこの遺伝子座付近には *Rim3* と似た表現型を示す突然変異体 *Bare skin (Bsk)*, *Rex denuded (Re <den >)* が報告されている. そこで *Rim3* と *Re <den >* に対して角膜および皮膚の組織学的解析を施行したところ, 角膜においてはケラチン様物質の過形成, 上皮の過重層, 実質の肥厚および実質への炎症性細胞の浸潤と新生血管の進入, 皮膚においては表皮の過重層, 毛包数の減少が同様に認められた. 今後は YAC, BAC を用いて *Rim3* の物理的地図を作成するとともに候補遺伝子を探索していく予定である.

(d) マウスケラチン type1 遺伝子 (*Krt1*) 群のゲノム解析: 佐藤 肇, 小出 剛, 城石俊彦

マウスケラチン type1 遺伝子 (*Krt1*) は第 11 番染色体のセントロメアから 58.0 cM の位置に存在することが報告されている. これは, ヒトのケラチン type1 遺伝子 (KRT1) が存在する 17q12-q21 の相同領域 (Synteny) に相当する. ケラチン type1 遺伝子 (*Krt1*) は少なくとも *Krt1-9* から *Krt1-19* まで存在することが予想されヒトの場合 *KRT10, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19* が既にクローニングされている. このケラチン type1 遺伝子の中でさらにクラスターが形成されていて, ヒトの場合 *KRT15, 19* と *KRT14, 16, 17* のクラスターが *KRT19-15-17-16-14* の順番でしかもヒトゲノムの 55 kb の領域に構成されていることが最近報告された. 一方, マウスの場合 *Krt1-10, 12, 13, 15, 19, 14* (一部分), *17* (一部分) が既にクローニングされているがクラスターやその相対的な位置および物理的距離の報告は今までのところない. そこでマウスケラチン type1 遺伝子 (*Krt1*) クラスターの構成を調べるために *Rim3* 遺伝子のマッピングに使用した (C57BL/10-*Rim3*/+×MSM) ×C57BL/10 および (C57BL/10-*Rim3*/+×JF1)×C57BL/10 を用いた連鎖解析を行った. この結果, *Krt1-10, 12* と *Krt1-15, 19, 14, 17* がクラスターを形成していることが示唆された. 今後はこれらのケラチン type1 遺伝子 (*Krt1*) を含んだ YAC などを使って物理的地図を作成し, この遺伝子領域のゲノム構造を調べる予定である.

研究業績

(1) 原著論文

1. Reuss F. U., Frankel W. N., Moriwaki K., Shiroishi T. and Coffin J. M.: Genetics of intracisternal-A-particle-related envelope-encoding proviral elements in mice. *J. Virol.*, **70**, 6450-6454, 1996.
2. Ohtsuka H., Oyanagi M., Mafune Y., Miyashita N., Shiroishi T., Moriwaki K., Kominami R. and Saitou N.: The presence/absence polymorphism and evolution of the p653 pseudogene in the genus *Mus*. *Phylogenet. Evol.*, **5**, 548-556, 1996.
3. Kanai Y., Kanai-Azuma M., Noce T., Saido T. C., Shiroishi T., Hayashi Y. and Yazaki K.: Identification of two Sox17 messenger RNA isoforms, with and without the high mobility group box region, and their differential expression in mouse spermatogenesis. *J. Cell Biol.*, **133**, 1-15, 1996.
4. Mizuno K., Koide T., Sagai T., Moriwaki K. and Shiroishi T.: Molecular analysis of recombinational hotspot adjacent to *Lmp2* gene in the mouse MHC: fine location and chromatin structure. *Mammal. Genome*, **7**, 490-496, 1996.
5. Uchida K., Koopman P., Mita A., Wakan S., Wright E., Kikkawa Y., Yonekawa H. Moriwaki K. and Shiroishi T.: Exclusion of Sox9 as a candidate for the mouse mutant Tail short. *Mammal. Genome*, **7**, 481-485, 1996.
6. Kuroiwa Y., Kaneko-Ishino T., Kagitani F., Kohda T., Li L.-L., Tada M., Suzuki R., Yokoyama M., Shiroishi T., Wakana S., Barton S. C., Ishino F. and Surani A.: Peg3 imprinted gene on proximal chromosome 7 encodes for a zinc finger protein. *Nature Genetics*, **12**, 186-190, 1996.

(2) その他

1. 小出 剛: YAC 導入法による遺伝子調節機構の解析. *生化学*, **68**, 137-142, 1996.
2. 城石俊彦, 水野健一: マウス MHC 内に見出された組換えのホットスポット, *日本組織適合性学会誌* Vol. 2, No. 3, 125-131, 1996.
3. 城石俊彦, 小出 剛, 内田紀久枝, 三田旻彦, 若菜茂晴, 吉川欣亮, 米川博通, 森脇和郎: 骨形成異常マウス突然変異 Tail-short (Ts) の原因遺伝子のクローニング, *日本疾患モデル研究会誌*, Vol. 4-8, 1996.

(3) 発表講演

1. 石島淳子, 小出 剛, 内田紀久枝, 三田旻彦, 城石俊彦: マウス突然変異 *Tail-short* (Ts) にみられる中軸系のパターン形成の異常, 第 29 回日本発生物学会, 京都, 5 月.
2. 榭屋啓志, 嵯峨井知子, 若菜茂晴, 森脇和郎, 城石俊彦: マウス肢前後軸形成にお

- いて機能する遺伝子群, 日本発生物学会第 29 回大会, 京都, 5 月.
3. 河野厚子, 丸山千佳, 片貝祐子, 伊藤 守, 野村達次, 佐藤健人, 垣生園子, 森脇和郎, 城石俊彦, 若菜茂晴: ダブルコンジュニックマウスを用いた糖尿病感受性遺伝子 *Idd3* の解析. 第 43 回日本実験動物学会総会, 新潟, 6 月.
 4. 磯部 拓, 吉野正康, Fischer Lindahl K., 小出 剛, 水野健一, 森脇和郎, 城石俊彦:
MHC クラス II 領域内における Pb 遺伝子近傍の組換えホットスポットの構造解析, 組換えワークショップ, 葉山, 7 月.
 5. 若菜茂晴, 河野厚子, 丸山千佳, 伊藤 守, 佐藤健人, 垣生園子, 森脇和郎, 城石俊彦: I 型糖尿病モデルマウス NOD における糖尿病感受性遺伝子 *Idd3* の解析. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8 月.
 6. 磯部 拓, 吉野正康, Fischer Lindahl K., 小出 剛, 水野健一, 森脇和郎, 城石俊彦: MHC クラス II 領域内における Pb 遺伝子近傍の組換えホットスポットの構造解析, 第 68 回日本遺伝学会大会, 名古屋, 10 月.
 7. 上田佳宏, 嵯峨井知子, Ball S. T., 森脇和郎, 城石俊彦: 野生マウスにおける Y 染色体特異的な塩基配列 DYH1. 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
 8. 小出 剛, 内田紀久枝, 三田旻彦, 城石俊彦, 森脇和郎: 日本産マウス由来の新しい近交系統 (JF1) にみられる毛色突然変異 *piebald*. 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
 9. 嵯峨井知子, 小出 剛, 吉川欣亮, 米川博通, 遠藤真理, 田上憲次郎, 若菜茂晴, 松田洋一, 玉井 信, 石黒誠一, 森脇和郎, 城石俊彦: H-2 内組換え体に生じた *Rim2* 毛色変異遺伝子の物理的地図の作成, 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
 10. 佐藤 肇, 小出 剛, 榎屋啓志, 若菜茂晴, 嵯峨井知子, 森脇和郎, 城石俊彦: *Rim3* 遺伝子のポジショナルクローニング. 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
 11. 城石俊彦: 遺伝的不安定性を示すマウス MHC 領域内組換え系統, 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
 12. 榎屋啓志, 嵯峨井知子, 若菜茂晴, 森脇和郎, 城石俊彦: マウス肢前後軸形成において機能する遺伝子カスケードの解析, 日本遺伝学会第 68 回大会, 名古屋, 10 月.
 13. Koide T., Mita A., Shiroishi T. and Moriwaki K.: A new inbred strain JF1 (Japanese Fancy Mouse 1) carrying mutation at the piebald locus. 10th International Mouse Genome Conference, Paris, October.
 14. Ishijima J., Uchida K., Koopman P., Mita A., Wakana S., Kikkawa Y., Yonekawa H., Moriwaki K., Koide T. and Shiroishi T.: Genetic mapping and morphological characterization of mouse Tail-short (Ts) mutation. 10th International Mouse Genome Conference, Paris, October.
 15. Masuya H., Sagai T., Moriwaki K. and Shiroishi T.: Multigenic control of the

- anteroposterior axis formation in mouse limb development. 10th International Mouse Genome Conference, Paris, October.
16. Wakana S., Kono A., Maruyama C., Katakai Y., Ito M., Sato T., Habu S., Shiroishi T., Moriwaki K. and Nomura T.: Genetic Analysis of non-MHC susceptibility genes to IDDM in mice. 10th International Mouse Genome Conference, Paris, October.
 17. Shiroishi T., Ueda Y., Ball S., Nagamine C.M., Sagai T. and Moriwaki K.: Genetic differentiation of mouse Y chromosomes, Hayama, International Biological Symposium, November.
 18. 城石俊彦: 古くて新しいマウス遺伝学—変異体から学ぶこと—, 遺伝学公開講演会, 東京, 11月.
 19. 磯部 拓, 吉野正康, 水野健一, 森脇和郎, Lindahl K.F., 嵯峨井知子, 小出 剛, 城石俊彦: MHC クラス II 領域内における *Pb* 遺伝子近傍のホットスポットの構造解析, ワークショップ「DNA Repair and Mutagenesis '96」, 仙台, 12月.

F-b. 無脊椎動物保存研究室

平成8年度は前年度に引き続き林 茂生, 後藤聡がキイロショウジョウバエの発生遺伝学の研究と系統保存事業を継続して行った. 総合大学院大学学生亦勝実穂, 名古屋大学大学院学生八木克将, 大阪府立大学大学院生亦勝和が研究に参加した. 文部技官原田和昌, 実験補助員鈴木恵子, 大藪陽子, 武内裕子が研究及び系統保存事業を支援した.

林, 後藤は4月に米国, サンディエゴで行われた米国ショウジョウバエ学会に参加し, 発表を行った. 林は7月にギリシャ, クレタ島で行われた EMBO ワークショップ「ショウジョウバエの分子・発生遺伝学」にて発表し, 英国, ケンブリッジ大学と ICRF 研究所においてセミナーを行った.

8月より開始した遺伝実験生物保存研究センター棟の増築工事に伴い研究室の臨時の移転を余儀なくされたが, 構造遺伝学研究センター棟の2階に移動して研究と事業を継続している.

長年系統保存事業を支援してきた原田和昌は本年限りで退官することとなった. 後任の技官は平成9年4月より採用の予定である.

本年度の研究は文部省科学研究費重点領域研究(2)「ショウジョウバエ気管系をモデルとしたパターン形成の研究」(代表者 林 茂生, 以下同じ), 「ショウジョウバエの器官形成を制御する転写制御因子」, 基盤研究(B)「ショウジョウバエ単一細胞破壊システムの開発とその器官形成機構解明への応用」, 日本学術振興会 未来開拓学術研究「発生におけるパターン形成」, チバ・ガイギー科学振興財団の援助を受けた.

(1) 分泌性シグナル分子 Dpp による肢翅形成機構: 後藤 聡, 林 茂生

動物の形態の進化の過程において肢の獲得は重要な役割を果たしてきた. 脊椎動物においては魚類のひれ, 鳥類のつばさ, そして陸生動物の脚として移動, 接触に役立っている.

無脊椎動物の肢は脊椎動物の肢とは起源を異にしているが、その成長過程において共通のシグナル分子を利用していることが明らかになっている。これら二つの系統において独立に出現した肢の形成メカニズムにどこまで共通性が見られるかは系統進化の問題として興味深いものがある。

我々はショウジョウバエ初期胚において肢が形成される機構を検討するためまず肢の前駆細胞（脚，翅成虫原基）の発生を分子マーカーを用いて詳細に検討した。その結果、脚と翅の原基は共通の前駆体として誘導を受けその後背側、腹側に分離して別々の成虫原基となることが明らかとなった。この共通の前駆細胞は側方部に限って形成されるがその位置は三種類の分泌性シグナル、Wgによる活性化とDpp, Spiによる抑制とによって決定されることが明らかとなった。この肢前駆細胞にはその後Dppが背側部に限定して発現を始めるが、この時期のDppの第二の機能により肢前駆体には脚と翅原基に特有なマーカーを発現する細胞集団が生じることも明らかとなった。これらの結果は以下のように解釈された：肢前駆細胞は本来脚の末端部になる能力しか持ち合わせていないが低濃度のDppにより脚の基部が、高濃度のDppにより翅が誘導される。この考えはDppが濃度依存的に多彩な細胞分化を引き起こすモルフォゲンであるという考えを支持する。詳細は文献7に発表した。またこのように誘導された翅の原基は転写因子EsgとSnaを発現し、これらの作用により翅の発生運命が維持されることが明らかとなった（文献3）。

(2) 気管の上皮ネットワーク形成におけるEsgとカドヘリンの役割：赤勝実穂，林 茂生，上村 匡¹，小田広樹¹，竹市雅俊¹，志賀靖弘²（¹京都大学，²現東京薬科大学）

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。

気管細胞は細胞間接着分子DE-カドヘリンにより密に接着した上皮構造を作っている。気管の融合に際してtip cellは擬足を伸ばして接触し、接触面にDEカドヘリンを蓄積させて接着する。気管の融合に先立ってDEカドヘリンが蓄積し、なおかつカドヘリンを欠損する変異体では融合が起こらないこと（文献2）からDEカドヘリンが気管の融合に積極的な役割を果たしていることが明らかとなった。

DEカドヘリンに依存した気管の融合は転写因子Escargot (Esg)を必要としている。Esgには二つの独立した機能があることが明らかとなった：一つはDEカドヘリン遺伝子のプロモーターを正に活性化する働きであり、もう一つはtip cellの接着後の擬足の運動を抑制する働きである。esg変異体での気管融合の異常はDE-カドヘリンの強制的な発現により部分的に救済されることよりDEカドヘリンはEsgによる転写制御の主要な標的であることが明らかとなった（文献6）。

以上の研究により気管形成は形態形成運動の動的な側面を研究するのに適した系であることが明らかとなった。生体内での細胞の活動を追跡するために蛍光タンパク質gfpを利

用した解析システムを開発し（文献4）、現在改良を加えている。

(3) EGF レセプターシグナルによる神経外胚葉の背腹軸パターンの決定：八木克将¹，林 茂生（¹名古屋大学理学研究科）

ショウジョウバエの中枢神経系は胚期の側方を占める神経外胚葉の細胞の一部が神経芽細胞として陥入する事で形成される。初期の神経芽細胞の配列は体節毎に繰り返す、また背腹方向に3列 (lateral, intermediate, medial) に並んだパターンをとる。この背腹方向の3列のパターンは脊椎動物の中枢神経系の初期発生においても見られることから進化的に保存された神経発生の基本デザインを反映していることが予想される。神経芽細胞の出現パターンはそれ以前の神経外胚葉においてプログラムされていると考えられるがメカニズムについては不明な点が多かった。我々は転写因子 *Esg* が神経外胚葉の背腹パターンを反映した発現様式を示すことに着目し、*esg* 遺伝子を手がかりとして中枢神経系の初期発生のパターンを決めるメカニズムを探求した。

まず *esg* の発現パターンを RNA *in situ* ハイブリダイゼーションで詳細に検討した結果、*esg* が神経外胚葉の lateral と medial の位置に発現することを見出した。次に *esg* の発現を胚の背腹軸形成に関わる各種の遺伝子の変異体で調べて以下の結論を得た。(1) *esg* の lateral 列の背側の発現境界の位置は胚の背側で発現するシグナル分子 *Dpp* による抑制作用とその拮抗分子 *Sog* のバランスによって決定される。(2) *esg* の medial 列の腹側は予定中胚葉領域に隣接している。予定中胚葉領域では通常 *esg* は発現しないがこれは中胚葉決定因子である *Snail*(*Sna*) と *Twist*(*Tw*) による抑制による。従って *esg* の発現は未同定の活性化因子による胚全体での活性化と、*Dpp*, *Sna*, *Tw* による抑制により神経外胚葉に限局されると結論された。(3) *esg* の発現が intermediate の列に見られないのはショウジョウバエ EGF レセプター (DER) による抑制による。即ち DER の活性の低下を来すリガンド分子、プロセッシング、シグナル伝達系の変異体においては *esg* が intermediate の列で異所的に発現していた。

esg 遺伝子の近位に発現調節領域を探求した結果、神経系での初期の発現に十分な 6.8 Kb の領域を同定した。この領域は更に、神経外胚葉全体に遺伝子発現を誘導する distal 領域と、intermediate 列での抑制に関わる proximal 領域とに分けられた。前者は *Dpp*, *Sna*, *Tw* と未同定の活性化因子が、後者には DER シグナル伝達系による抑制シグナルが別々に作用すると考えられた。

DER が *esg* を抑制するのに際して、DER の活性が intermediate 列でピークに達することを説明するモデルを提出した。本研究は神経外胚葉の内部の、背腹軸方向のパターン形成機構に関する最初の報告である（文献8）。

(4) 成虫翅の翅脈に異常を来す突然変異 *plexus*：亦勝 和¹，蒲生寿美子¹，林 茂生（¹大阪府立大学）

成虫翅をいくつかの区画に区切る翅脈は前後軸方向のパターンの良い示標となると共に、DER, *Dpp* そして Notch/Delta シグナル伝達系の作用する場としても知られている。翅脈のパターンに異常を示す遺伝子の一つ *plexus* (*px*) は特定の位置（第二、第三翅脈の間

と第四, 第五翅脈の間)に限って過剰な翅脈を生じ, なおかつ翅のサイズの増大を伴う点で特有な表現型を示す. 近年理解が進んでいる翅のパターン形成の遺伝子カスケードの中で *px* が占める位置を理解するためには *px* 遺伝子のクローニングが必要である.

転位因子 *hobo* によって誘発された新しい *px* アレルをもとに *hobo* 挿入部位近傍のゲノム DNA をクローニングした. 現在この領域に *px* 遺伝子を探索中である.

(5) Escargot と Cdc2 によるチェックポイント機構: 林 茂生

DNA 合成 (S 期) と細胞分裂 (M 期) を繰り返す細胞が DNA 含量を二倍体に保つには S 期と M 期が順存良く繰り返す必要がある. S 期が修了した後の G2 期では M 期を通過しない限り新たな S 期に入れなくする抑制機構 (チェックポイント機構) が働いている. このチェックポイント機構の必須因子として細胞周期の制御因子 Cdc2 が同定された (文献 3). 即ち Cdc2 の欠損変異体の二倍体細胞では S 期が連続して起こり, 細胞は多倍体化する.

では G2 期において S 期を抑制するために十分な条件は何かを検討するために幼虫期に M 期なしに S 期を連続して繰り返す唾腺細胞を利用して実験を行った. その結果 (1) 転写因子 Esg を発現させると S 期は停止し, 同時にサイクリン A の蓄積がみられた. (2) Cdc2 とサイクリン A を同時に発現させると S 期の抑制がみられた. (3) S 期の抑制はカイネーシス活性を持たない Cdc2 変異体とサイクリン A の共発現でもみられた. (4) S 期の停止に伴って転写因子 E2F が高レベルで蓄積していた. E2F のレベルを人為的に更上昇させると Cdc2, サイクリン A による抑制は解除され S 期が再開した.

以上の結果を総合すると二倍体細胞の G2 期では Esg が Cdc2 とサイクリン A の蓄積を誘発し, Cdc2 とサイクリン A の複合体がリン酸化に依存しない作用, おそらくタンパク質間の直接の結合により E2F を不活化し, その結果 S 期の開始が阻止されるとのモデルが考えられる.

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. 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 Dev.*, **10**, 659–671, 1996.
3. Hayashi S.: A Cdc2 dependent checkpoint maintains diploidy in *Drosophila*. *Development*, **122**, 1051–1058, 1996.
4. Shiga Y., Tanaka-Matakatsu 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.

5. Fuse N., Hirose S. and Hayashi S.: Determination of wing cell fate by the *escargot* and *snail* genes in *Drosophila*. *Development*, **122**, 1059-1067, 1996.
6. Tanaka-Matakatsu M., Uemura T., Oda H., Takeichi M. and Hayashi S.: Cadherin-mediated cell adhesion and cell motility in *Drosophila* trachea regulated by the transcription factor *Escargot*. *Development*, **122**, 3697-3705, 1996.
7. Goto S. and Hayashi S.: Specification of the embryonic limb primordium by graded activity of *Decapentaplegic*. *Development*, **124**, 125-132, 1997.
8. Yagi Y. and Hayashi S.: Role of the *Drosophila* EGF receptor in determination of the dorsoventral domains of *escargot* expression during primary neurogenesis. *Genes to Cells*, in press, 1997.

(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.
2. 林 茂生: ノーベル医学・生理学賞三人のショウジョウバエ遺伝学者へ. 遺伝, **50**, 12-13, 1996.
3. 林 茂生: ショウジョウバエ成虫発生と *escargot* 遺伝子. 蛋白質核酸酵素, 増刊「転写因子」, **41**, 1095-1103, 1996.

(3) 発表講演

1. Hayashi S.: A Cdc2 Dependent checkpoint maintains diploidy in *Drosophila*. 37th Annual *Drosophila* Research Conference, San Diego, U.S.A., April.
2. Goto S. and Hayashi S.: The early development of *Drosophila* imaginal discs. 37th Annual *Drosophila* Research Conference, San Diego, U.S.A., April.
3. 亦勝実穂, 上村 匡, 小田広樹, 竹市雅俊, 林 茂生: ショウジョウバエの気管形成における転写因子 *Escargot* と細胞接着分子 DE-cadherin の役割. 日本発生物学会第 29 回大会, 京都, 5 月.
4. 林 茂生: ショウジョウバエ *escargot* 遺伝子は G2/M cdk の蓄積を促進することにより DNA 合成を阻害する. 日本発生物学会第 29 回大会, 京都, 5 月.
5. 林 茂生, 亦勝実穂, 小田広樹, 竹市雅俊, 上村 匡: 気管ネットワークの形成を制御する細胞接着分子と転写因子. 第 19 回日本分子生物学会年会, 北海道, 8 月.
6. 亦勝実穂, 上村 匡, 小田広樹, 竹市雅俊, 林 茂生: 気管形成過程での転写因子と細胞接着分子の役割. 第 19 回日本分子生物学会年会, 北海道, 8 月.
7. 亦勝 和, 蒲生寿美子, 林 茂生: ショウジョウバエ翅脈のパターンに異常を生じる突然変異 *plexus*. 第 19 回日本分子生物学会年会, 北海道, 8 月.
8. 後藤 聡, 林 茂生: *decapentaplegic* と *wingless* によるショウジョウバエ肢の proximo-distal 軸形成. 第 19 回日本分子生物学会年会, 北海道, 8 月.
9. 後藤 聡, 林 茂生: ショウジョウバエの翅・肢のちがいは Dpp シグナルの強度に

よって決定される。第49回日本細胞生物学会大会，京都，10月。

10. 林 茂生：Cdc2はG2期においてキナーゼ活性非依存的にS期の開始を阻害する。
第49回日本細胞生物学会大会，京都，10月。

F-c. 植物保存研究室

当研究室は、長い空白状態の後、昨年度4月に伊藤幸博助手が赴任し、イネを用いた分子生物学および分子遺伝学的研究を開始した。今年3月より遺伝学普及会研究員、春島嘉章が研究員として、また8月からは永口貢技官も当研究室の研究に一部参加することとなった。10月1日には新たに助教として倉田のりが赴任し、さらに実験圃場の助手として同時に赴任した野々村賢一も植物保存グループと共に研究、事業を行うこととなり、この研究室の活性化に向けて新たな一歩を踏み出した。

本来当研究室は、植物の遺伝特性の開発的研究とイネ、ムギ、サクラ、アサガオ等の系統保存業務を目的としてきたが、スタッフ不在が続いていたため、保存システムの維持管理や国内外への分譲等は、育種遺伝研究部門、実験圃場の教官、技官の協力を得て続けられていた。今年度研究室の陣容が整ったことにより、今後植物関係の遺伝資源の保存と利用をどのようなかたちで継続あるいは発展させるかについての検討を、今年度と来年度の2年間を目途として開始した。と同時に新たに植物、特にイネにおける遺伝特性の開発的研究を積極的に進めることとし、すでに伊藤助手により進められている研究と合わせて、今年から新たにスタートさせるべき計画に着手した。以下に1996年に行った研究内容と新たな研究計画の内容およびそれらのスタートにむけての準備状況を紹介する。

なお平成8年度の研究は、文部省科学研究費助成金・重点領域研究「高等植物における雌雄の分化・受粉過程の遺伝解剖学的吟味」(伊藤幸博)、奨励研究(A)「微量組織のcDNAライブラリーの作成とそれを用いたイネ初期胚発生の解析」(伊藤幸博)、イネ系統保存事業費、国立遺伝学研究所特定研究「遺伝子高次機能の多面的総合的研究」の支援を受けた。

(1) イネ胚発生関連遺伝子の構造と機能の解析：伊藤幸博，永口 貢，倉田のり

95年から伊藤助手により進められてきたこの課題も助走段階を過ぎ、幾つかの遺伝子に的を絞つつある。ことし8月からはこの課題に永口貢技官も加わり、研究の加速化を図っている。

イネの胚発生の遺伝的制御機構は、ここ数年の間に突然変異の系統的解析により、かなりの種類の初期発生期における致死性あるいは異常発生型変異個体が得られ、遺伝的解析も始まりつつある。この課題では、イネの胚発生時に起こる遺伝子発現ネットワークを、複数の転写制御遺伝子群の連鎖的発現により引き起こされる胚発生過程に絞って、分子細胞生物学の手法を用いて解析することを目的としている。

昨年より受精後3日胚を用いて、微量組織からのcDNAライブラリー作りとホメオボックス関連遺伝子の単離を開始した。その結果今年は、PCRで得た類似断片をプローブとしてcDNAライブラリーより計33個のホメオボックスを持つクローンを拾い上げ、塩基配列解析の結果8種類のクローンに分類できた。また別種プローブでのスクリーニング

によりジンクフィンガー蛋白のクローン (HAZ1) も 1 つ得られた。これらの遺伝子の発現時期を特定するため、受精後 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 22 日胚、葉、根組織より RNA を抽出し RT-PCR により発現を解析した。ホメオボックスクローン 8 種のうちの 3 種と HAZ1 で初期胚の特定時期での発現を検出した (発表講演, 1)。さらにこれらの遺伝子の発現の組織特異性の解析のため、受精後 3-5 日胚を用いた組織切片の *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。ホメオボックスクローンのうち HOS24 は受精後 3-4 日胚の幼芽/種子根原基領域特異的に、また HAZ1 は 4 日胚で下部胡粉層や桑実胚外表面細胞層等に発現すると考えられる。なお正常種子胚発生時に発現の見られる遺伝子については、培養細胞であるカルスからの再生個体発生分化時においてもその発現の有無と領域特異性を確認する。これらの過程を通じて、遺伝子発現の普遍性あるいは特異性の解析を行うため、培養細胞を用いた再分化個体再生系、形質転換系の立ち上げも開始した。

今後、さらに新たな胚特異的クローンの探索と共に、得られた遺伝子の全長 cDNA、ゲノムクローンの取得、機能解析のための突然変異体や形質転換体を用いた実験を通じて、これらの遺伝子の初期胚発生過程での発現のネットワークを解明していく予定である。

(2) イネ遠縁交雑後代で遺伝子伝達にゆがみを生じる遺伝子のポジショナルクローニング: 春島嘉章, 倉田のり

この課題については、すでに昨年までに日本型稲 (日本晴) × インド型稲 (カサラス) の F₂ 世代を用いて構築されていた高密度遺伝子連鎖地図の解析で、幾つかの染色体領域に日本型もしくはインド型稲の遺伝子の伝達頻度が大きく低下する領域のあることが明らかとなっていた (文献 1, 2, 6)。そこでこれらの解析をさらに押し進めて、遺伝子分離のゆがみを引き起こす原因遺伝子を分子マーカーを用いてマッピングし、ポジショナルクローニングするための実験を行った。原因遺伝子あるいは因子の数、位置、作用力等を明らかにし、どちら側 (日本型、インド型のいずれか) にその要因が存在するかを決め、さらにそれら遺伝子についての準同質系統を作成するため、本年は日本晴 × カサラスの F₁ に両親を相互に交配したバッククロス系統各 200 個体を栽培し、個体別の葉サンプルおよび種子の採取を行った。次年度に、分離ゆがみ領域の詳細な遺伝および物理地図の作成を通じて、分子マーカーによる原因遺伝子の詳細なマッピングを行う予定である (参考文献 4, 7, 8)。

本年 10 月より新たに以下の 2 課題について取り組みを開始した。

(3) イネ染色体の核内配置と機能発現に関与する遺伝子の細胞分子生物学的解析: 野々村賢一, 倉田のり

この課題では、体細胞分裂、減数分裂に限らず、細胞核の中における染色体の配置に異常を生じるような遺伝的変異をとらえ、その原因遺伝子の構造、機能を明らかにしていこうとするものである。中、長期計画としてはジーンおよびエンハンサートラップ系統からの変異系統のスクリーニング等も行うが、当面は (1) 正常イネ体細胞、減数分裂細胞核内の染色体が、どのような時期にどのような状態で核内に配向しているかを正確に描き出すことを追求する。このためすでに染色体上の多くの場所への帰属が決定されているゲノ

ミッククローンを用いて、*in situ* ハイブリダイゼーションを行い、3次元構築像による染色体配置を解析する系の組立を開始した。平行して(2) DNA複製期や減数分裂期でヘテロ2重鎖DNA中のミスマッチ修復に関与し、そのことが染色体の相同および同祖組換えに影響を及ぼすと報告されているミスマッチ修復遺伝子のイネホモログをクローニングし、トランスジェニックライスでの形質発現を見るための実験にとりかかった。

(4) イネ人工染色体の構築と人工染色体を導入したトランスジェニックライスを用いた染色体機能の解析: 倉田のり, 野々村賢一, 伊藤幸博

この課題については、イネ人工染色体の構築を行うための素材(セントロメア, テロメア, その他の機能をもつDNA断片)のクローニングや、すでにクローン化されているイネゲノムの巨大DNA断片などの準備や選定を開始した(参考文献, 5, 9, 10)。

これまで本研究室の事業として行われてきた多種の植物保存系統の増殖, 維持についての検討と同時に, 新たな遺伝資源の素材として, 分子生物学的な解析を可能とする有用な植物系統の開発, 利用が望まれる。遺伝研で長年にわたり多くの野生イネ系統が収集, 保存されてきたことを考えると, これらの素材に対する理解を遺伝学的にも, 分子生物学的にも深化させるためにも, イネにおける解析系統の確立を図ることが第一であると考えられる。そこで基本的な栽培イネ系統を用いて外来遺伝子タグを挿入した多数の変異系統を作出し, 各種の解析に用いていくことを計画した。これらの素材からは, 変異を引き起こす原因遺伝子を外来遺伝子タグを目印として比較的簡単にクローニングすることが可能で, 同時に遺伝子機能や発現部位の解析もできる。さらに上記(1), (3)の研究の素材となる系統をスクリーニングするためにも利用できるようにする。これらの条件を満たす素材として, ジーントラップ, エンハンサートラップ系統の開発と作出を行うこととした。

(5) イネのジーントラップ, エンハンサートラップ系統の作出: 伊藤幸博, 野々村賢一, 永口 貢, 倉田のり

この実験では, 外来性レポーター遺伝子を細胞に導入し, そのレポーターが種々の遺伝子やその近傍にランダムに組み込まれたトランスジェニックライスを作出する。これらの多数のトランスジェニックライスを用いて, 組織および時期特異的に発現する遺伝子を捉えることを目的とする。と同時に, その遺伝子が挿入破壊された変異系統に見られる変異形質から, その遺伝子機能を明らかにすることも目的とする。またこれらの系統を用いれば, 導入したレポーター遺伝子を指標として, 挿入破壊された遺伝子を比較的容易にクローニングできるようになる。このため, 効率よく多数の系統を得られるような構造を持つベクターDNAの構築を行った。原型はアラビドプシスで同様な実験に用いられたもので, それらをイネ用に改変して用いることとした。この実験では2つのベクターを用いる。1つはトウモロコシのトランスポゾンDsをアグロバκτηリウムのT-DNA上に持つベクターで, 他の1つは, Dsの転移に必要なAcトランスポゼース遺伝子をT-DNA上に組み込んだベクターである。これら2つのベクターを用いて, それぞれトランスジェニックイネを作成する。Dsベクター上には, 2つの薬剤耐性を示す選択マーカーと, レポーター遺伝子として, 発色により容易にその活性を検出できるGUS遺伝子を配置してある。

選択マーカーはイネ用の薬剤耐性遺伝子に置き換えた。アグロバクテリウムあるいは遺伝子銃を用いて、これらのコンストラクトのイネへの導入を開始した。

これら2種のベクターを別々に組み込んだ個体が得られれば、あとはこれらのトランスジェニックライスを相互に交配してDs側の遺伝要素を染色体上のいろいろな場所へ転移させることができる。よって交配により外来遺伝子が種々の場所に組み込まれた多数の変異系統を効率よく得ることが出来る。このシステムによりイネにおけるジーントラップとエンハンサートラップの多種の系統を作出、解析、保存、分譲する予定である。

当研究所以外での業績も、研究課題と関連するものは記載した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Harushima Y., Kurata N., Yano M., Nagamura Y., Sasaki T., Minobe Y. and Nakagahra M.: Detection of segregation distortions in an *indica-japonica* rice cross using a high-resolution molecular map. *Theoretical and Applied Genetics*, **92**, 145-150, 1996.
2. Tsunematsu H., Yoshimura A., Harushima Y., Nagamura Y., Kurata N., Yano M., Sasaki T. and Iwata N.: RFLP Framework Map Using Recombinant Inbred Lines in Rice. *Breeding Science*, **46**, 279-284, 1996.
3. Hashizume T., Shimamoto I., Harushima Y., Yui M., Sato T., Imai T. and Hirai M.: Construction of a linkage map for watermelon (*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum & Nakai) using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Euphytica*, **90**, 265-273, 1996.
4. Yoshimura S., Umehara Y., Kurata N., Nagamura Y., Sasaki T., Minobe Y. and Iwata N.: Specifying a YAC clone which carries *Xa-1*, the bacterial blight resistance gene locus in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, **93**, 117-122, 1996.
5. Umehara Y., Tanoue H., Kurata N., Ashikawa I., Minobe Y. and Sasaki T.: An ordered yeast artificial chromosome library covering over half of rice chromosome 6. *Genome Research*, **6**, 935-942, 1996.
6. Antonio B. A., Inoue T., Kajiya H., Nagamura Y., Kurata N., Minobe Y., Yano M., Nakagahra M. and Sasaki T.: Comparison of genetic distance and order of DNA markers in five populations of rice. *Genome*, **39**, 946-956, 1996.
7. Van Houten W., Kurata N., Umehara Y., Sasaki T. and Minobe Y.: Generation of a YAC contig encompassing the extra glume gene, *eg*, in rice. *Genome*, **39**, 1072-1077, 1996.
8. Monna L., Miyao A., Zhong H. S., Yano M., Iwamoto M., Umehara Y., Kurata N., Hayasaka H. and Sasaki T.: Saturation mapping with subclones of YACs: DNA

marker production targeting the rice disease resistance gene, *Pi-b*. *Theoretical and Applied Genetics*, **94**, 170–176, 1997.

9. Wang Z. X., Itonuma A., Umehara Y., Van Houten W., Ashikawa I., Minobe Y., Kurata N. and Sasaki T.: Physical mapping of rice chromosome 1 with yeast artificial chromosomes (YACs). *DNA Research*, **3**, 291–296, 1996.
10. Saji S., Umehara Y., Kurata N., Ashikawa I. and Sasaki T.: Construction of YAC contigs on rice chromosome 5. *DNA Research*, **3**, 297–302, 1996.

(2) その他

1. Yano M., Nagamura Y., Kurata N., Sasaki T. and Minobe Y.: Toward the construction of an integrated genetic and physical map of rice. In: *Genomes of Plants and animals. Twenty-first Stadler Genetics Symposium.* (ed. J. P. Gustafson and R. B. Flavell), pp. 57–72, Plenum Publishing, New York.
2. Miyao A., Yamamoto K., Havukkala I., Yano M., Kurata N., Minobe Y. and Sasaki T.: Rice as a model for genome analysis. In *ICRF Genome Analysis Handbook*. Ed. N.K.Spurr., Blackwell Scientific Publications, in press.
3. Sasaki T., Yano M., Kurata N. and Yamamoto K.: The Japanese rice genome research program. *Genome Research*, **6**, 661–666, 1996.
4. Kurata N. and Sasaki T.: Molecular analysis of the rice genome. In *DNA markers: Protocols, Applications and Overviews.* (ed. G. Caetano-Anolles and P. M. Gresshoff), John Wiley & Sons, Inc. NY, in press.

(3) 発表講演

1. 伊藤幸博, 森沼啓子, 倉田のり: イネ初期胚で発現するホメオボックス遺伝子の単離. 第90回日本育種学会大会, 仙台, 9月.

以下記載せず

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6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/D3)、西森加奈、蓼沼磨貴(東邦大/M1)、守家成紀(奈良先端大)、山田 守(山口大)、植村 薫、上山清子、岡本哲治(実験補助員)により行った。本年度の研究は、文部省科学研究費重点領域研究(1)「細胞複製装置(代表者/平賀壮太)」「大腸菌の細胞分裂の時期決定機構(西村)」, 特定研究「遺伝子高次機能の多面的総合的研究(代表者/中辻憲夫)」「大腸菌の細胞分裂の遺伝的調節機構(西村)」の支援を受けた。本研究所共同研究として、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 A_{p_4A} 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, 藤島博史).

(1) 大腸菌の細胞分裂の時期決定機構: 西村昭子

細胞分裂のタイミングに関与する遺伝子の変異株 *cfcA1* 及び *cfcB1* を分離し解析を行ってきた。その結果, a) *cfcA1* はグリシル-tRNA 合成酵素をコードする *glyS* 遺伝子に, *cfcB1* は Ap_4A 分解酵素をコードする *apaH* 遺伝子に変異を持つ事, b) Ap_4A の細胞内レベルが, *cfcA1* では親株の十数倍, *cfcB1* では百倍以上高い事, c) *cfc* 変異株の分裂時期の異常は, *cfcB1* のアレルである *apaH*⁺ 遺伝子を担うプラスミドにより相補される事, d) 野生株内で Ap_4A を過剰生産した場合, 一時的に *cfc* の表現型を示す事, e) Ap_4A の過剰生産による *cfc* の表現型は, *glyS* 変異により安定に維持される事を明らかにしてきた。本年度は分裂時期の解析を行った。30°C で対数増殖期の *cfc* 変異株と親株について以下の結果を得た。i) *cfc* 変異株の培養液の濁度と培養液中の細胞数の増加速度は, 親株と変わらなかった。しかし, ii) *cfc* 変異株の培養液中の細胞数と濁度の比率は, 親株の 1.4~1.5 倍であった。iii) 濁度増加は蛋白量の増加を反映していた。iv) 同じ条件下で 30 世代近く ³H-チミジンで DNA を標識し, DNA 量と蛋白量の比率を測定した結果, *cfc* 変異による変化は見られなかった。v) DNA 合成速度, 及び, vi) DNA 複製開始期の細胞容積も, *cfc* 変異の影響を受けない事が解った。vii) 大腸菌は定常期に入る時, 細胞分裂直後のステージで増殖を停止する事が知られているが, *cfc* 変異株の定常期の細胞は, 親株より小さかった。viii) 対数増殖期の培養液について 2 核の細胞, つまり核分裂から細胞分裂に到る時期の細胞の数を概測定した処, 親株に較べて *cfc* 変異株では圧倒的に少なかった。以上の結果から, *cfc* 変異株では, 核分裂後, 親株よりも早い時期に, 小さい細胞のまま分裂する事, 及び分裂後正常の大きさ迄細胞が成長した後, 次の DNA 複製を開始する事が判明した。現在 Ap_4A の合成様式と作用機構を解析する為に, 各種 *glyS* 変異株の作成を行うと共に, Ap_4A 結合蛋白をコードする未知の遺伝子の破壊株の解析を行っている。

(2) 大腸菌細胞分裂変異株 *ftsE* の増殖停止機構: 鶴飼英樹¹, 山田 守², 西村昭子 (¹総研大遺伝学選考, ²山口大農学部生物資源学科)

細胞分裂の温度感受性変異株 *ftsE* について解析を行ってきた結果, a) *ftsE* 変異株は, 41°C で培養すると, 細胞分裂は直ちに停止する。b) 細胞質の増加は, 栄養条件 (倍加速度: 40~110 分) に拘わらず, 8 倍増加した時点で停止する。c) 培養液中に通常の 10 倍の KCl を添加すると, 細胞分裂は停止したまま, 細胞質の増加が回復し, より長い多核フィラメントを形成する。d) KCl を除くと再び細胞質増加が停止する事から, KCl 添加による細胞質増加は可逆反応である事が解った。以上の結果から, *ftsE* 変異株では, K^+ を細胞内に取り込む為の K^+ イオン輸送系蛋白が, 膜から消失している可能性が強く予測された。細胞内 K^+ イオン濃度の維持を最も必要とする生体反応は蛋白合成である。 K^+ イオンは, 30S リボソームとアミノアシル-tRNA との結合活性, 及び 50S リボソームのペプチジルトランスフェラーゼ活性の維持に必須であり, 蛋白合成が正常に行われる為には, K^+ イオンの細胞内濃度は, K^+ イオン・ポンプにより, 常時 200 mM に保たれている必要がある

(Lubin & Ennis, 1964). そこで K^+ イオン輸送系に含まれる 5 種類の膜蛋白 KdpA, KdpC, KdpD, TrkA, 及び Kup の膜画分中の存在量を測定した. 各蛋白と PhoA 蛋白の融合蛋白が, IPTG 制御下に合成されるよう, プラスミド DNA のレベルで構築し, *ftsE* 変異株と親株に形質転換した. 各株を 30°C 及び 41°C で培養後, 膜画分を分離し, 抗 PhoA 抗体を用いてウエスタン・ブロッティングを行った. その結果 30°C では, *ftsE* 変異による影響は全く見られなかった. 41°C で細胞質が 8 倍増加する迄培養すると, 親株では全ての融合蛋白が 30°C と変わらず検出された. *ftsE* 変異株では KdpC と KdpD 融合蛋白は親株と同量検出されたが, KdpA, TrkH, 及び Kup 融合蛋白は全く検出されなかった. 以上の結果から, *ftsE* 遺伝子の欠損は, 細胞分裂の停止と共に, 膜からの K^+ ポンプの消失を引き起こす事が判明した. K^+ ポンプの消失は, 膜局在の欠損によるのか, あるいは分解活性の上昇によるのかについては現在検討中である. また分裂停止は分裂蛋白局在の欠損によるのかについても解析を行っている.

(3) リポ多糖合成と細胞分裂遺伝子転写の共役: 西森加奈¹, 西村昭子 (¹東邦大理学部分子生物科学科/M1)

細胞分裂の温度感受性変異株 *ftsK830*, *ftsK1167* は, *kdsA* 遺伝子に温度感受性欠損を持つ. *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* の転写量の測定を行った. 30°C で対数増殖期の各変異株の培養温度を 41°C に切り換えた後, 各時間毎に RNA 画分を分離し, ノーザン・ハイブリダイゼーションを行った. その結果この条件で, *ftsK830* 変異株の *ftsZ*-mRNA 量は, 50 分後には, 親株の 1/2 に減少していた. *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. この減少が, *ftsZ*-mRNA 合成量の減少によるのか, 分解速度の増加によるのか検討している.

研究業績

(1) 原著論文

1. Nishimura A., Moriya S., Ukai H. and Yamada Y.: Molecular mechanism that determine the timing of cell division in a cell cycle of *Escherichia coli*. The 5th JST International Symposium. "New Frontiers in Microbiology" Tokyo (Japan), January.
2. Ukai H., Yamada M. and Nishimura A.: What is essential? Many of essential processes for cell growth are coupled with cell division. The 5th JST International Symposium. "New Frontiers in Microbiology" Tokyo (Japan), January.
3. Sasanuma A., Kobayasi Y., Kuratomi K. and Nishimura A.: Roles of Ap_4A and its

binding protein in cell division cycle of *E. coli* cfc mutants. The 5th JST International Symposium. "New Frontiers in Microbiology" Tokyo (Japan), January.

F-e. 遺伝資源研究室

遺伝資源研究室では、山崎由紀子が「知識情報の記述法に関する研究」を行った他、山崎由紀子、斉藤真理、土屋里枝（7月より）が、研究事業「系統情報データベースの構築」を推進した。

本年度の研究は、文部省科学研究費補助金から研究成果公開促進費「系統資源情報データベース」（代表者：山崎由紀子）、重点領域研究「ゲノムサイエンス」の公募研究「生物科学分野の分類情報を統合した大量知識ベースの構築・利用技術に関する研究開発」（代表者：広島市立大学・北上始教授）の支援を受けた。

また遺伝学研究所の共同研究として、「コムギ類遺伝解析系統の保存とそのネットワーク構築に関する共同研究」（木原記念横浜生命科学振興財団・西川浩三）を実施した。

(1) 知識情報の記述法に関する研究：

知識体系の著しい専門領域化が進む中、分散している知識情報の総合的理解を容易にするデータベースの構築を目指し、生物科学情報の記述法に関する研究を行っている。

(1-a) 異種統合型系統資源データベース構築の試み：山崎由紀子

イネおよびコムギの系統情報を対象とした統合型データベースを試作した。始めに系統情報全般に共通すると予想される概念レベルのデータスキーマを構築し、研究室や生物種毎にバラバラに記述された情報を、概念別テーブルに番号付で格納した。番号を付けたのは、同じ概念に属する情報の多くは意味論的に同一であるが、単純に統合することができないものが存在するため、それらを区別するためである。このデータベースはイネ・コムギの2生物種について syntactic search は可能であるが、semantic search はまだ実現していない。本データベースの基本構造は少なくとも高等植物系統全般に応用できると考えている。

(1-b) Data Mining によるランダムデータからのルール抽出に関する研究：山崎由紀子、北上 始¹、中村郁郎²（¹広島市立大学情報科学部、²岩手生物工学研究センター）

人間が意図的に分類した情報とは別に、ランダムに蓄積された情報の中から予想しなかった有効な規則を発見することができるのかどうかという問題は、生物学者が情報科学の今後にも最も期待するところである。アミノ酸配列と学術論文の記載を例に、Data Mining アルゴリズムによるルール抽出の研究を開始した。小規模データベースを用意して計算量を推定し、生成した「結合ルール」の評価を試みたが、今のところ有効な結果を得るには至っていない。特に、小規模のデータベースでも計算量が膨大になるため、対象とするデータ集団をどのように作成するのが重要な課題となっている。

(2) 系統情報データベースの構築：山崎由紀子、斉藤真理、土屋里枝

国内のコムギ研究グループとの共同作業により、全国のコムギ保存系統情報データベー

ス Ver. 1.0 をリリースした。情報の質的充実を計るため、オンラインデータ更新・追加システムを開発中である。また、コムギ DNA レポジトリおよびオオムギ系統の関連研究者が新たにデータベース構築に加わり、来年度にはデータベースの規模をムギ類全体に拡張できる見通しである。系統情報の他に、関連の生物学情報を関係者の協力を得て収集し、本データベースと結合する計画である。また、米国 GrainGenes データベースとの国際協力体制も部分的ではあるが実現した。

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の協力を得て、国内イネ系統資源情報データベース試作版を構築し、ネットワーク公開を開始した。保存系統に関する情報の他に、遺伝子名リスト、リンケージマップ、文献情報などを充実させたオンラインデータベース version 1.0 の公開、およびカタログリスト出版に向けて作業中である。今後は、個々のイネ系統関連研究者に対して、データベース構築への協力を呼びかけていく予定である。

クローニングベクターデータベースは、微生物遺伝研究部門の安田助教授の協力により、今年度は全画像データを取り込み公開することができた。

以上の他に、当研究室ではマウス、ショウジョウバエなどのデータベースを昨年に引き続き公開している。

研究業績

(1) 発表講演

1. 山崎由紀子：ムギ類総合データベース構築の展望。第 25 回コムギ遺伝学シンポジウム，神戸，7 月。
2. 山崎由紀子，辻本 寿，吉井淳治，斉藤真理，木下俊郎，森島啓子，常脇恒一郎：異種統合型系統資源データベース構築。第 69 回日本生化学会大会・第 19 回日本分子生物学会年会合同年会，札幌，8 月。

F-f. 発生工学研究室

当研究室は哺乳類の胚発生機構を細胞・組織から遺伝子に至る様々なレベルから研究することを目指しているが、特に生殖細胞と脳神経系の発生機構に注目している。研究室の構成としては中辻憲夫，白吉安昭の教官 2 名と山本博士技官，学振ポスドク研究員と文部省外国人研究員各 1 名に加えて，総研大遺伝学専攻の大学院生 3 名と他大学院に所属する特別研究学生 2 名が研究を行った。研究の遂行に当っては，文部省科学研究費補助金から中辻憲夫を代表者として基盤研究 (B) (2) 「マウス始原生殖細胞の発生分化制御機構に関する研究」，基盤研究 (A) (1) 「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」の公募研究「マウス胎仔生殖細胞の分化制御機構に関する研究」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)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，渡部美穂¹，田村 勝²，中馬新一郎²（¹特別研究学生（広島大），²総研大）

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，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。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，BRL細胞の培養上清（文献3）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2）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2）。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1）。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，約20%の生殖細胞での一過性発現を起こさせることが可能になるとともに，細胞のアポトーシスを抑制する働きが知られているアデノウイルス E1b 19K 蛋白遺伝子や bcl-XL, bcl-2 遺伝子を強制発現させることによって，培養下での生殖細胞の生存を促進できることが明かになった（文献4）。

(2) 神経系幹細胞株樹立と脳神経系発生分化機構：中辻憲夫，白吉安昭，大久保 悌^{1,2}，浜太郎¹，Shokunbi M. T.³（¹総研大，²学振ポストドク研究員，³文部省外国人研究員）

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の細胞に近い性質をもつ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た。細胞株樹立には温度感受性の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を用いた。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，33℃または37℃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。8日または9日齢胚から取り出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，多数の細胞株を樹立することに成功した。これらの細胞株が神経系幹細胞で発現しているネスチン蛋白などのマーカー遺伝子を発現していることを確認したのちに，培養下での神経やグリアへ

の分化能を調べたところ、分化決定段階から見て数種類のグループに分類できることが明らかになった。特に最も初期段階にあると考えられる細胞株は培養下では分化マーカーを発現しないが、これらの細胞を14日齢マウス胎仔脳内へ注入したところ、脳室内から脳皮質などの組織中へ入り込んで内在の神経細胞と極めて似た形態に分化することが明らかになった。すなわち最も初期の神経系幹細胞の性質を持つ細胞株である可能性が大きいので、今後はこの細胞株を用いて様々な実験を行う研究を進展させる予定である。

(3) マウス胚細胞分化に関わる遺伝子機構：白吉安昭，中辻憲夫，湯浅喜博¹，鈴木貴士² (特別研究学生 (鳥取大)，²慶応義塾大医学部)

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。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ことから、ES細胞株を用いて培養下における血管系細胞分化にともなう遺伝子発現と強制発現実験による影響などについて解析を行っている。

研究業績

(1) 原著論文

1. 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.
2. 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*, **122**, 1235-1242, 1996.
3. Kawase E., Shirayoshi Y., Hashimoto K. and Nakatsuji N.: A combination of buffalo rat liver cell-conditioned medium, forskolin and membrane-bound stem cell factor stimulates rapid proliferation of mouse primordial germ cells *in vitro* similar to that *in vivo*. *Devel. Growth Differ.*, **38**, 315-322, 1996.
4. Watanabe M., Shirayoshi Y., Koshimizu U., Hashimoto S., Yonehara S., Eguchi Y., Tsujimoto Y. and Nakatsuji N.: Gene transfection of mouse primordial germ cells *in vitro* and analysis of their survival and growth control. *Exp. Cell Res.*, **230**, 76-83, 1997.

(2) その他

1. 中辻憲夫: 発生工学と生物学. SUT BULLETIN, 13(4), 3-9, 1996.
2. 湯浅喜博, 白吉安昭: Mash. Bioscience 用語ライブラリー, 羊土社, pp. 84-85, 1996.
3. 湯浅喜博, 白吉安昭: Notch. Bioscience 用語ライブラリー, 羊土社, pp. 100-101, 1996.

(3) 発表講演

1. 渡部美穂, 白吉安昭, 中辻憲夫: マウス始原生殖細胞の生存に対する Bcl-2 および Bcl-XL 発現の影響. 日本発生生物学会第 29 回大会, 京都, 5 月.
2. 大久保 悌, 浜 太郎, 永田 功, 中辻憲夫: マウス胚神経上皮由来細胞株 NES の培養下および脳組織内での分化能の解析. 日本神経科学学会第 19 回大会, 神戸, 7 月.
3. 松本健一, 山本博士, 白吉安昭, 竹田直樹, 相沢慎一, 池村淑道, 中辻憲夫: 遺伝子ターゲティングによる細胞外マトリックス・テネイシン X の機能解析. 日本分子生物学会第 19 回年会, 札幌, 8 月.
4. 大久保 悌, 浜 太郎, Shokunbi M. T., 永田 功, 中辻憲夫: マウス胚神経上皮由来細胞株 NES の培養下および胎仔大脳組織内での分化能解析. 日本細胞生物学会第 49 回大会, 京都, 10 月.
5. 中辻孝子, 山本 博, 中辻憲夫: マウス胚卵黄囊血島および胚大動脈周辺内蔵包葉からの細胞株樹立. 日本細胞生物学会第 49 回大会, 京都, 10 月.

G. 構造遺伝学研究センター**センターの概略**

5 月 11 日付で旧・遺伝情報研究センターが改組・拡充され、構造遺伝学研究センターになった。生体高分子研究室（教授 1, 助手 1）が新設され、従来の構造研究室・組換え研究室・合成研究室・遺伝子ライブラリー研究室は、それぞれ超分子機能研究室・構造制御研究室・超分子構造研究室・遺伝子回路研究室になった。また、助教授であった嶋本伸雄と小原雄治が、教授に昇任した。総合研究大学院大学の第 8 期生として、10 月に杵淵隆（超分子機能研究室）が入学して研究活動に参加している。

G-a. 超分子機能研究室

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なっている。

本年の構造研究室の主な研究活動は、嶋本伸雄教授（5 月に昇任）と、永井宏樹助手、当研究所非常勤研究員 加畑博幸、当研究所外国人研究員 Ranjan Sen, 総合研究員大学院生 鎌田勝彦（4 月より生物分子工学研究所ポスドク）、総合研究員大学院生 杵

淵 隆, NEDO 派遣研究員 竹内 実, 学術振興会奨励研究員 久堀智子 (帝京大学), 宮下 尚 (京都大学理学部 4 年) とで行なわれた。

遺伝研客員教授 森川耿右 (生物分子工学研究所), 遺伝研共同研究として鷺津正夫, 黒沢 修, 山本貴富喜 (京都大学工学部, 4 月まで成蹊大学工学部), 三木邦夫 (京都大学理学部) が参加した。総合研究員大学大学院生 高岸 雅は, 5 月に就職のため退学した。また前年に引き続いて, 堀内恵美が研究を 10 月まで補佐し, 新たに, 外岡恵子が 10 月以後補佐した。

(1) 大腸菌 RNA ポリメラーゼの転写開始期における不活化複合体形成機構の研究: 嶋本伸雄, 永井宏樹, Ranjan Sen, 久堀智子¹ (学術振興会奨励研究員 (帝京大学バイオサイエンス))

RNA ポリメラーゼの反応機構の解析を短鎖 RNA の解離現象を中心に行った。

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で, 長鎖 RNA 合成にいたる伸張過程と, 短鎖 RNA を繰り返し解離する伸張過程 (abortive initiation) とが, それぞれ異なる DNA・RNA・ポリメラーゼ 3 体複合体によっておこなわれることを我々は明らかにしている。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 arrested 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。λ_R プロモーターとの複合体では, moribund 複合体は複合体のままでは, productive 複合体には, 変化できない。

RNA ポリメラーゼの σ⁷⁰ サブユニットの 3.1 領域の変異は, 見かけ上 abortive initiation を阻害する。ヘパリン競合反応, 過マンガン酸カリフットプリンティングを用いて, 此の阻害は, DNA とポリメラーゼの複合体が変異によって不安定化され, そのままでは productive 複合体には変化できない moribund 複合体が, 複合体解離によって一部 productive 複合体に変換されることが明らかになった。

また, タンパク質フットプリンティングを σ⁷⁰ サブユニットに適用して, 遊離サブユニット, RNA ポリメラーゼホロ酵素, DNA・ポリメラーゼ複合体, moribund 複合体について, OH ラジカルにたいする感受性で, σ⁷⁰ サブユニットのコンフォメーション変化を検出して, 各存在状態の構造モデルを導き出しつつある。

(2) *P. Putida* の cam リプレッサーの 1 分子ダイナミクスとスライディングの役割: 嶋本伸雄, 加畑博幸, 黒沢 修^{1,2}, 鷺津正夫¹, 荒井一郎¹, 荒牧弘範³ (¹京都大学工学部, ²アドバンス (株), ³第一薬科大学)

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) 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^{1,2}, 森川耿右², 嶋本伸雄 (¹総合研究院大学大学院遺伝学専攻, ²生物分子工学研究所)

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 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. Vassilyev (蛋工研) との共同研究である。

研究業績

(1) 原著論文

1. Kubori T. and Shimamoto N.: A branched pathway in the early stage of transcription by *Escherichia coli* RNA polymerase. *J. Mol. Biol.*, **256**, 449-457, 1996.
2. Kubori T. and Shimamoto N.: Kinetics of transcription in a minute column. *Nuc. Acids Res.*, **24**, 1380-1381, 1996.
3. Kamada K., Horiuchi T., Ohsumi K., Shimamoto N. and Morikawa K.: Structure of a replication terminator protein complexed with DNA. *Nature*, **383**, 598-603, 1996.
4. Washizu M., Kurosawa O., Suzuki S. and Shimamoto N.: Space-resolved manipulation of biological macromolecules. *SPIE*, **2716**, 133-142, 1996.

(2) その他

1. 嶋本伸雄: 分子生物学から構造生物学へのダイナミクス. *生物物理*, **36**, 236-239, 1996.

(3) 発表講演

1. Shimamoto N.: Fluorescent and dielectrophoretic techniques used for detecting movements of single molecules of proteins on DNA. Gordon Research Conference "Bioanalytical Sensors" Ventura, USA, January.
2. Shimamoto N.: Paradox of repressor-operator interactions and its answer by sliding movement. The Fourth Asian Conference on Transcription, Hayama, Japan, March, 1996.
3. Shimamoto N.: Detection of movements of proteins on DNA, and biological significance of their non-specific binding. Gordon Research Conference "Biomolecular Recognition and Immobilization" Ventura, USA, July, 1996.
4. Kabata H. and Shimamoto, N.: What is nonspecific complex of DNA and *P. putida* cam Repressor? Molecular Genetics of Bacteria & Phages. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y., USA., August, 1996.
5. Shimamoto N. and Kabata H: Sliding Movement of Proteins along DNA and Its Role in Gene Expression. Ohji Symposium. Hakone, November, 1996.
6. Sen R. and Shimamoto N.: Role of region 3 of sigma70 subunit of *E. coli* RNA polymerase in switching the productive and moribund pathways during transcription initiation. 日本生化学会・分子生物学会合同年会, 札幌, 8月.
7. 永井宏樹, 嶋本伸雄: タンパク質フットプリンティングによる転写複合体の解析. 日本生化学会・分子生物学会合同年会, 札幌, 8月.
8. 猪飼 篤, 嶋本伸雄: 一分子生化学. イブニングセミナー, 日本生化学会・分子生物学会合同年会, 札幌, 8月.
9. 黒沢 修, 鷺津正夫, 嶋本伸雄: AFM チップによる DNA の局所加工. 日本生物物理学会, つくば市, 11月.
10. 鷺津正夫, 山本貴富喜, 鈴木誠一, 黒沢 修, 嶋本伸雄: 酵素修飾粒子を用いた DNA の空間分解切断. 日本生物物理学会, つくば市, 11月.

G-b. 構造制御研究室

構造制御研究室では, 線虫 *C. elegans* の行動と発生の分子生物学的研究を行っている。研究室メンバーは, 教授・桂 勲, 助手・石原 健, 大学院生・菱田竜一(京都大学大学院理学研究科), 鈴木教郎(総合研究大学院大学生命科学研究科), 藤原 学(同), 武内昌哉(同), 研究補佐員・杉浦麻理子である。また, 技術課所属の技官・最美あかねの助けを受けた(11月より)。本年度は文部省科学研究費より, 萌芽的研究「線虫 *C. elegans* のdauer 幼虫形成制御にかかわる神経回路網の解明」(代表者: 桂), 基盤研究(B)(企画調査)「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・院・総合文化), 班員: 桂), 重点領域研究(神経可塑性)(1)「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)の援助を受けた。

(1) フッ素イオン耐性変異の解析: 武内昌哉, 石原 健, 桂 勲

我々は、新しい生体制御系を発見する目的で *C. elegans* のフッ素イオン耐性変異を分離・解析している。これらは5つの新しい遺伝子 *flr-1*~*flr-5* に位置し、強耐性変異 (*flr-1*, *flr-3*, *flr-4*) と弱耐性変異 (*flr-2*, *flr-5*) に分類される。前者は、フッ素イオンの非存在下でも成長が遅く、産卵数が少なく、体が小さい。後者は、フッ素イオンの非存在下では成長速度と産卵数はほぼ野生型と同じで、体は正常またはやや短くて太い。後者は、前者の「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 (Katsura I. *et al.*, *Genetics*, **136**, 145-154, 1994)。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、一部の変異は走化性異常を示す。つまり、これらの変異は神経系に影響を与える。

flr 遺伝子群による制御系の分子機構解明のために、*flr-1*, *flr-3*, *flr-4* の遺伝子と cDNA をクローニングして調べている。*flr-1* は、アミロリド感受性 Na チャネルとホモロジーを持つイオンチャネルをコードする。*flr-3* と *flr-4* の遺伝子産物は、それぞれキナーゼ様分子と新規の蛋白質キナーゼで、どちらもキナーゼドメインの C 末端側に疎水性の強い配列を持つ。本年は、*flr-1* と *flr-4* について、全長 cDNA をとり、変異表現型の抑圧に必要な野生型ゲノム DNA 領域を決定した。また、*flr-3* では、ノザン解析で検出される 2 kb の cDNA の塩基配列を決定済みだが、この全配列と上流約 3.7 kb・下流約 1.6 kb を含むゲノム断片は変異表現型を抑圧せず、下流を約 4.7 kb まで長くすると抑圧することがわかった。これは、選択的 RNA スプライシングによる微量で必須の mRNA がある可能性を示すが、RT-PCR により実際にそのような mRNA が検出された。*flr-1* と *flr-4* の点変異各 2 個を塩基配列上で同定した。*flr-1* の変異はいずれも膜貫通領域の近傍のミスセンス変異、*flr-4* の変異はスプライス・アクセプターの変異と C 端側の疎水性領域のミスセンス変異だった。これから、FLR-4 蛋白質では、キナーゼドメインだけでなく、C 端側の疎水性領域も機能に重要なことがわかった。

flr-3-lacZ 融合遺伝子は、胚発生中期から L1 幼虫期にかけて腸で発現することがわかっている。*flr-1* と *flr-4* の GFP 融合遺伝子を作成して発現を調べたところ、両方とも胚から成虫期までの腸で発現していたが、*flr-4* は L1 幼虫期から成虫期の 1 対の頭部神経細胞でも発現が見られた。これらの遺伝子群は腸で発現して神経に外から影響を及ぼす可能性がある。

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働くかを、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 遺伝子の変異は、孵化と神経芽細胞移動が異常になる、興味ある表現型を示す。すなわち、卵殻の蛋白質成分が分解されず孵化が遅れると同時に、孵化後の神経芽細胞である QL 細胞とその子孫が、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、トランスポゾン挿入変異株 (近藤和典 (創価大・工) と桂, 未発表) をもとに *hch-1* 遺伝子と cDNA をクローニングした。*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 ドメインをもつ, *Drosophila* の TLD や哺乳類の BMP-1 と似た分子をコードしていた。また, *in situ* hybridization の結果, *hch-1* は胚発生の中期 (体が伸び始める直前から 1.5-fold 期ないし 2-fold 期まで) に発現していた。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 1)。

本年度は, 既存の 5 種類の変異体について, 変異塩基配列, 孵化の遅れの度合, 神経芽細胞移動異常の浸透度を決定し, HCH-1 蛋白質の構造と機能の関連を研究した。変異は, プロテアーゼドメイン内のミスセンス変異 2 つとナンセンス変異 1 つ, CUB ドメインのトランスポゾン挿入変異, C 末端に近い Cys-rich 部分のミスセンス変異だった。前の 4 つの変異が劣性であるのに対し, 最後の変異は半優性で, 神経芽細胞移動異常の浸透度が他の変異に比べて高い。これは, C 末端部の機能的な重要性を示唆している。孵化の遅れは, 多くの変異体が数時間の遅れで, 最終的には大部分が孵化するのに対し, トランスポゾン挿入変異体は 10 時間以上遅れ, 最終的に孵化しないものが半数近くあった。神経芽細胞移動異常と孵化異常の程度の相関は低かった。

hch-1 変異体では QL 細胞とその子孫 (正常では後へ移動) だけではなく, 浸透度は低いが QR 細胞とその子孫 (正常では前へ移動) の移動方向にも異常が見られる。ホメオティック遺伝子の 1 つ *mab-5* の機能喪失変異ではこの両方が前へ, 機能増大变異ではこの両方が後へ移動することが知られている。5 つの *hch-1* 変異と *mab-5* の機能喪失および機能増大变異との間で二重変異体を作り, 細胞移動の向きを調べた。いずれの場合も片方の表現型と同じになるということではなく, *hch-1* 遺伝子は単純に *mab-5* 遺伝子の上流や下流で働くのではないらしい。

孵化時に卵殻内から出るプロテアーゼ活性を, *in vitro* で *hch-1* 変異体の卵膜を基質として測定したところ, *hch-1* 変異体では活性が検出されず, *hch-1* 遺伝子を多コピー導入した株では野生型の 10 倍程度の活性があった。このことから, HCH-1 蛋白質は孵化酵素そのものか, 野生型で孵化酵素の活性を決定している因子であるといえる。

(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, 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 幼虫形成は走行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, 我々は既知の 50 遺伝子以上の変異が特異的な組合せパターンで合成 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ことを発見した。dauer 幼虫形成阻害信号が複数の経路を通るので, 単独の変異ではその 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, この表現型が生ずると推測される。我々は, この現象を解析することにより, 感覚情報処理回路の特性とそこでの各遺伝子の役割を解明しようと考えている。

dauer 幼虫を生ずる組合せパターンは、大雑把には、dauer 幼虫形成阻害/促進信号が3つの並列な経路を通るモデルで説明できる。しかし、種々の dauer 欠損性変異による種々の合成 dauer 構成性表現型の抑圧を調べたところ、もう少し複雑なモデルが必要なことがわかった。

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 幼虫形成が構成性になる変異体」を44株分離し、マッピングした。既知の遺伝子では、*tax-2*, *osm-6*, *che-11*, *aex-3* の変異が合計8株あったが、その他の36株(少なくとも18遺伝子)の変異の大部分は未知の遺伝子にあるらしい。感覚器官である amphid と phasmid への色素浸透異常(ある種の形態異常の指標)を調べたところ、異常なものが6株(うち4株は *osm-6* と *che-11* の変異)あった。ベンズアルデヒドに対して、野性型が正の走化性を示す濃度で負の走化性を示す変異体があった。野性型では amphid の感覚神経のうち、ADF, ASI, ASG の3種を破壊すると dauer 幼虫形成が構成性になるが、*unc-31* 変異体は ASI 神経のみの破壊でそうなるので、これらの変異体の中には ASI 神経の機能異常が多数含まれるを予想される。今後、これらの変異の種々の表現型を調べ、*C. elegans* の感覚受容・情報処理系とそこで働く遺伝子の役割を解明する計画である。

(4) 神経系遺伝子の逆遺伝学と GFP 融合遺伝子を用いた発現解析: 石原 健, 藤原学, 桂 勲

C. elegans の神経細胞特異的な転写プロモーターを GFP (クラゲ緑色蛍光タンパク質: Chalfie M. *et al.*, *Science*, **263**, 802-805, 1994) の cDNA について線虫に導入し、特定の神経細胞のセットが蛍光を発する線虫約20株を作成した。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、*C. elegans* のゲノムプロジェクトで得られた DNA 塩基配列を見て十数種を得た。各プロモーターについて、発現の見られる細胞の大部分を同定した。

プロモータートラップ法で得たプロモーターのうち、H20 は全ての神経、H13 は一対の AFD 神経のみ、I85 は孵化後の芽細胞 G2 とその子孫 (RMF 神経など) で転写を活性化した。H13 に制御される遺伝子は、Zn フィンガー構造をもつ転写因子様の塩基配列をもっていた。

塩基配列を見て選んだ遺伝子のうち、主として介在神経で GFP 融合遺伝子が発現するグリシン/GABA 受容体ホモログ3種および代謝型グルタミン酸受容体ホモログ2種の遺伝子については、RT-PCR, 5'-RACE, 3'-RACE で cDNA を分離し、プロモーターとコード領域の位置関係を確認した。また、そのトランスポゾン挿入変異体を分離し、さらにトランスポゾンが抜けるときにできる欠失変異体を分離した。現在、これらの変異体の行動に異常があるか調べている。代謝型グルタミン酸受容体は、哺乳類では神経可塑性に関与すると言われているので、線虫でも同様のことがあるかに興味がある。グリシン/GABA 受容体ホモログはリガンド作動性 Cl チャネルで、外からの信号により神経細胞の興奮を抑えると考えられる。したがって、その遺伝子破壊は当該神経細胞を興奮しやすくし、細胞

破壊とは逆の状況を設定するので、手法として一般的に有用と思われる。

研究業績

(1) 原著論文

1. Hishida R., Ishihara T., Kondo K. and Katsura I.: *hch-1*, a gene required for normal hatching and normal migration of a neuroblast in *C. elegans*, encodes a protein related to TOLLOID and BMP-1. EMBO J., 15, 4111-4122, 1996.

(2) その他

1. 桂 勲: 線虫の細胞系譜と細胞分化. 蛋白質核酸酵素, 41(12), 1936-1943, 1996.

(3) 発表講演

1. 桂 勲, 石原 健, 川上 穰, 菱田竜一, 鈴木教郎, 藤原 学, 武内昌哉: *C. elegans* の神経回路研究の道具としての合成 dauer 構成性表現型. 第 19 回日本分子生物学会年会. 札幌, 8 月.
2. 石原 健, 桂 勲: 線虫 *C. elegans* の神経特異的なマーカーを利用した神経系の解析: 代謝型グルタミン酸受容体遺伝子の発現と変異体の解析. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8 月.
3. 菱田竜一, 石原 健, 近藤和典, 桂 勲: *tolloid*/BMP-1 ファミリーに属する線虫 *C. elegans* の *hch-1* 遺伝子の解析. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8 月.
4. 鈴木教郎, 石原 健, 桂 勲: *C. elegans* の耐性幼虫形成異常を指標とした神経系変異の分離. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8 月.
5. 藤原 学, 石原 健, 桂 勲: 線虫の神経回路でのグリシンレセプターの役割の解析. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8 月.
6. 武内昌哉, 石原 健, 桂 勲: 成長速度, 生体リズム, フッ素イオン感受性, 神経系の機能に影響を及ぼす線虫 *C. elegans* の蛋白質キナーゼ遺伝子 *flr-4* の解析. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8 月.
7. 桂 勲: 線虫 *C. elegans* の神経芽細胞移動の制御機構. 第 49 回日本細胞生物学会大会. 京都, 10 月.

G-c. 超分子構造研究室

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、X線結晶解析法を用いて、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。

超分子構造研究室の研究活動は、助教授白木原康雄によって行われてきたが、平成8年9月に助手秋葉俊彦が着任しこれに加わった。さらに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）、荒巻弘範（第一薬科大学）が参加し、また吉田賢

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), 牧野耕三 (大阪大学・微生物病研究所), 宮下 尚, 嶋本伸雄 (構造遺伝学研究センター・超分子機能研) 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, Leslie A. G. W.,¹ Abrahams J. P.,¹ Walker J. E.,¹ 吉田賢右² (¹MRC 分子生物学研究所, ²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, 今年は構造の精密化を終了した。F1-ATPase (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。

昨年度の Xplor を用いた通常の精密化では, Rfactor=16.2%, free-Rfactor=32.2% にまで下げることができたが 2 つの点で問題があった。一つは, 二つの Rfactor の差が大きく, overfitting の兆候が見られたこと, もう一つはモデルの主鎖コンホメーションの質の低下が見られたこと (良好な主鎖の二面角の割合が全体の 65%) である。これらの問題を解決するために, Xplor の計算条件を改善するとともに, コンホメーションについては計算では補正されない部分はグラフィックスの上での補正を行った。Xplor の計算条件の改善点は 1) 局所最小におちいった構造を低分解能 (15–6Å) のデータを計算に取り入れるることにより, よりよい新しい最小にもっていく, 2) 個々の原子に独立な温度因子を与えるのをやめ, 各残基に 2 個 (主鎖, 側鎖に各 1 個) の温度因子を与える, 3) Van der Waals のポテンシャルを正しく適用する, の 3 点からなる。最終モデルは Rfactor は 20.5%, free-Rfactor=29.6% を持つ。free-Rfactor が以前より低下し, Rfactor との差が少なくなっていることが重要である。 α, β サブユニットそれぞれ 1 個を含むモデルは蛋白質を構成する 9141 個の原子, 2 個の硫酸イオン, 113 個の水からなり, 共有結合の結合距離, 結合角の理想値からのずれはそれぞれ 0.09Å, 1.6 度であった。良好な主鎖の二面角の割合は全体の 82% に上昇した。

こうして得られた構造の特徴は, 以前と同様であった。即ち, 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。 α サブユニット, β サブユニットとも, ミトコンドリアのヌクレオチド結合型 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フォメーション変化の骨子が確定した。

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

PhoB 蛋白質は, 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。その DNA 結合性 C 末ドメイン (125番-C 末) について結晶化条件を探索し, リン酸溶液に対しマイクロ透析法を用いることで, 結晶格子の乱れのない, 結晶解析

に適した結晶が得られることをつきとめた。そしてこの結晶について、高エネルギー物理学研究所・放射光施設のビームライン BL18B のワイセンベルグカメラを用いて回折データの収集を行った。結晶は 2.0 Å 分解能の回折像を与え、しかも X 線照射に対しかなり安定であった。現在、これまでに得られた回折データについて、昨年発表された OmpR 蛋白質の結晶構造データを用いた分子置換法による解析を進めている。

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 (第一薬科大学)

CamR 蛋白質はシトクロム 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、PEG4k 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 3 Å 分解能の回折像を与える。しかし一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。そこで、昨年度に引き続き新しい結晶化条件を探しなおしたところ、リン酸で上と同じ程度の大きさの結晶が再現性よく得られるようになった。また、上記の問題を軽減するために CamR 標品の精製度を向上させる実験が進行中である。

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

バクテリアのスイッチ蛋白質は、FliG, FliM, FliN の 3 種類が知られており、べん毛の構築・べん毛の回転および回転方向の制御に関わる多機能な複合体を形成している。それらの立体構造の解明はべん毛モーターにおけるエネルギー変換機構の解明にも繋がるものと期待される。

昨年度これら三つのスイッチ蛋白質のうち FliN 蛋白質について、FliM 蛋白質との同時発現系を使って精製法を検討し、予備的な結晶化実験から擬結晶が得られる条件を見出したが、回折実験に耐える良好な結晶を得るまでには至らなかった。前回使用した発現系では目的蛋白質の封入体が形成されるが、封入体からの精製は尿素による変性可溶性過程を含み、標品の立体構造的均一性への悪影響が懸念される。そこで、本年度は可溶性状態の蛋白質が得られる FliN 蛋白質単独の発現系を使って精製を試みた。この系では目的蛋白質の発現量がかなり少なくなるため、精製法の改良を行った。

5) GFP の X 線結晶解析: 宮下 尚¹, 白木原康雄, 嶋本伸雄¹ (超分子機能研)

酵素活性を持つ発光性の蛋白質を作成するためには、発光蛋白である GFP の原子レベルでの構造情報が必須である。この構造情報を得るために、GFP の結晶化、X 線結晶解析を行った。標的とした分子種は GFP の C 末 6 残基を欠いたものでそれ以外は野生型の分子とアミノ酸の並びは同一である。大量発現は T7 のプロモーターにつないだこの遺伝子を含むプラスミドが入った大腸菌を IPTG で誘導後 20 度で 3 日培養して、可溶性画分で GFP が得られるように行った。マイクロバッチ法を用いた沈殿剤のスクリーニングの結果、ポリエチレングリコールとリン酸塩の二つの沈殿剤が結晶を与えることがわかった。大きな結晶 (0.3 mm×0.3 mm×0.3 mm) を与えるリン酸塩の場合は結晶化の再現性で問

題を含んでいた。ポリエチレングリコールはそのような問題がなかったが、細い針状結晶を pH、温度の異なる多数の条件下で与える。ただ pH が 6 の場合には大きな結晶 (0.5 mm × 0.4 mm × 0.2 mm) が成長した。この結晶はやや格子に乱れが観測されるが、2A を超える回折像を与える。

研究業績

(1) 発表講演

1. 白木原康雄: F1-ATPase の結晶構造. 日本生物物理学会第 34 回大会, つくば, 11 月.
2. 白木原康雄, 宮下和己, 谷川 潤, 西村善文, 牧野耕三: 大腸菌転写促進因子 PhoB 蛋白質の結晶化. 日本生物物理学会第 34 回大会, つくば, 11 月.
3. Shirakihara Y., Leslie A.G.W., Abrahams P., Walker J.E., Ueda T., Sekimoto Y., Kambara M., Saiga K., Kagawa Y. and Yoshida M.: Crystal structure of the $\alpha_3\beta_3$ sub-complex of F1-ATPase from thermophilic Bacillus PS3. 第 22 回谷口国際シンポジウム, 京都, 10 月.

G-d. 遺伝子回路研究室

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、並行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（教授）、安達佳樹（助手）、田原浩昭（遺伝研 COE 非常勤研究員）、大浪修一（総研大学院生）、本橋智子、廣野啓子（科学技術振興事業団技術員）、宮田暁子、大庭登紀江（同実験補佐員）及びパート職員の渡辺寿子、佐野正子、三谷裕子、上杉裕子、飯田孝一（実験補佐員）、杉本章子（事務補佐員）、高橋初江、三田真澄（補助業務員）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「ゲノムサイエンス」（小原）、10 月からは科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業（CREST）（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

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 34 件、のべ 816 クローンを 9 ヶ国（日

本、韓国、アメリカ、イギリス、ユーゴスラビア、ドイツ、スペイン、デンマーク、インド（件数順）の研究者に送付した。これまでの累計は、32ヶ国816件、のべ98,147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。

(2) 線虫遺伝子ライブラリー事業

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 スタッフの協力により DDBJ 計算機上での WWW での公開を開始した (http://www.ddbj.nig.ac.jp/htmls/c-elegans/html/CE_INDEX.html)。

cDNA クローンについては、本年は 250 件のべ 755 クローンを 16ヶ国（アメリカ、日本、イギリス、カナダ、オランダ、フランス、ドイツ、スイス、イスラエル、オーストラリア、イタリア、ウガンダ、韓国、ベルギー、スウェーデン、ハンガリー（件数順））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。これまでの累計は、18ヶ国 404 件、のべ 1,292 クローンにのぼっている。

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、そこからのフィードバック情報も追加される。このような情報の集積が進むと、ゲノム軸、（発生）時間軸、細胞系譜（空間）軸などのいろいろな軸での検索が縦横にできるようになる。例えば、ある時期のある細胞で発現が始まるあるモチーフをもつ遺伝子群を検索する、といったことも可能になってくるだろうし、逆にそのような発現様式を支配する調節領域をゲノム DNA 配列から推測することも可能になってくる。そして、線虫ではこれらの結果を実験的に検証することが可能である。本研究はこのような目的で *C. elegans* の cDNA 情報の集大成と統合化を行うものである。

(1) cDNA クローンのタグ配列決定、分類、マッピング：宮田暁子、渡辺寿子、佐野正

子, 三谷裕子, 上杉裕子, 飯田孝一, 小原雄治

3種のcDNAライブラリーからランダムに10万以上のクローンを取り上げ, グリッド化し保存した. ここから高発現遺伝子クローンをハイブリダイゼーションで同定して除いたあと, 各クローンの5'-タグ, 3'-タグの両方のシーケンシングをおこない, 3'-タグを比較することにより, クローンの分類を行った. これまでに, 約32,000クローンを処理した結果, 21,500クローンについてクリーンな3'-タグが得られ, 6,000種(遺伝子)以上に分類した. これは, 13,000と推定される全遺伝子の約半分にあたる.

整列YACフィルターを用いたマッピングは1507種がすんでいる. 最近では, サンガーセンターで公開されているシーケンス済コスミドデータ(55Mb程度)を利用して“in silico”でのマッピングを行っているが, この方法で約70%がマッピングされる. 残り約2,000種についてはコスミドが得られていないギャップ領域に存在する可能性がある. 整列YACフィルターを用いたマッピングを再開した.

主として5'-タグを用い, BLASTXで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) 発生各期における発現パターンの解析: 本橋智子, 大庭登紀江, 田原浩昭, 廣野啓子, 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, 大量試料への応用を進めてきた. 本年は, さらに孵化後の幼虫期から成虫での *in situ* ハイブリダイゼーション法の開発をおこなった. 胚は固い卵殻でおおわれているのでいかにこれを除去するかがポイントであったが, いったん除去できればあとは細胞のかたまりであるので固定条件は時期による違いはあまりなかった. しかし, 幼虫期以降は, 体表面はクチクラ層でおおわれ, 脱皮を繰り返す度にその組成も異なってくるし, 体も大きくなっていくので, 固定条件など非常に違いが予想された. 多数の試料のスクリーニングをおこなうためには相当robustな条件の設定が必要であった. 発生ステージを大体同調化して, 幼虫第1期(L1)~L2, L2~L3, L3~L4, L4~成虫の4期に分け, それぞれの固定条件を検討した. その結果, 8ウェルスライドの各ウェルにそれぞれの期の虫を固定し, 1枚のスライドで全期を観察できる条件を設定した. 現在, 分類済のcDNAクローングループ約6,000のテストを開始した. 胚期, 幼虫期とも系譜や時期特異的に発現が見られる遺伝子が多数見つかってきており, 発現パターンでの分類を進めている. また, いくつかの系譜に着目して, 特異的発現を示す遺伝子の発現制御領域に同定実験を開始した.

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 Hill R.,² 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（いわゆるデターミネント）が重要な働きをしていることが示唆されている。昨年までに、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遺伝子 *pos-1* を発見し、詳細な解析を進めてきた。*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* や *mex-1* との関係が示唆されている。*pos-1* の変異体は生殖細胞の欠損となり、生殖系列の決定に関わるデターミネントである可能性が強く示唆された。*pos-1* 蛋白の抗体を作成し、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が有力と考えた。

本年は、これらの結果の確認の実験（特に試料の固定方法などの違いによる差がないこと）を行うとともに、*pos-1*、*pie-1*、*mex-1* など、生殖系列決定に関与する遺伝子の機能研究を進めた。その結果、*pos-1* 変異体では P3 の分裂が不等分裂でなくなること、*mex-1* 変異体では *pos-1* 蛋白の分布あるいは発現量が変化することが示された。*pos-1* 以外にも同様の発現をする母性遺伝子が上記 cDNA プロジェクトから見つかってきているので、特に P2 創始細胞で何が起きているのか、生殖系列の確立のメカニズムは何なのかに焦点を当てて、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：大浪修一¹，小原雄治（¹総研大・遺伝学）

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続けている。昨年までに、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。

本年は少数の胚に適用できるように改良し、いくつかの母性遺伝子 (*fem-3*, *glp-1*, *skn-1*, *gld-1*) で試した。その結果、*fem-3*, *glp-1*, *skn-1* では成熟卵母細胞から 4 細胞期胚の間で明かなポリ A 鎖長の伸長が見いだされた。卵巣で蛋白発現が見られる *gld-1* では逆に短くなることが観察された。*glp-1*, *skn-1* では割球間で mRNA は一様に存在するが、蛋白は局在している。そこで、2 細胞期あるいは 4 細胞期胚の割球を分けて同様の解析を試みている。

さらにこの方法を用いて、上記 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。

研究業績

(1) 原著論文

1. Tabara H., Motohashi T. and Kohara Y.: A multi-well version of *in situ* hybridization on whole mount embryos of *C. elegans*. Nucl. Acids Res., **24**, 2119–2124, 1996.

(2) その他

1. 小原雄治: 線虫 cDNA の大量解析. 蛋白質核酸酵素, **41**(5), 715–720 (1996).
2. Kohara Y., Motohashi T., Tabara H., Watanabe H., Sugimoto A., Sano M. and Miyata A.: The *C. elegans* cDNA project: A progress report. The Worm Breeder's Gazette, **14**(3), 9, 1996.

(3) 発表講演

1. 小原雄治: 線虫 *C. elegans* の発現マップ—ゲノムの機能マップをめざして—, 創成的基礎研究「ヒト・ゲノム解析研究」公開シンポジウム, 1月, 東京.
2. Kohara Y., Motohashi T., Tabara H., Sugimoto A., Watanabe H., Sano M. and Miyata A.: Expression map of the *C. elegans* genome. International Rice Genome Workshop. Tsukuba, February.
3. Kohara Y.: Towards an expression map of the *C. elegans* genome. 2nd France-Japanese Workshop on Genomes. Paris, March.
4. Kohara Y., Motohashi T., Tabara H., Sugimoto A., Watanabe H., Sano M. and Miyata A.: Expression map of the *C. elegans* genome. HUGO's Human Genome Mapping '96. Heidelberg, March.
5. Kohara Y.: Expression map of the *C. elegans* genome. International Symposium on Network and Evolution of Molecular Information. Tokyo, April.
6. 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 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8月.
7. 田原浩昭, 本橋智子, Mello C., Priess J., 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*. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8月.
8. 本橋智子, 田原浩昭, 渡辺寿子, 杉本章子, 佐野正子, 宮田暁子, 小原雄治: 線虫 *C. elegans* ゲノムの発現パターンマップ. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8月.
9. 小原雄治: *C. elegans* ゲノムの発現パターンマップ. 京都大学化学研究所附属核酸

情報解析施設ワークショップ, 宇治, 11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、遺伝情報分析研究室 (教授1名, 助手2名), 遺伝子機能研究室 (教授1名, 助手1名), 大量遺伝情報研究室 (教授1名, 助手1名), 分子分類研究室 (教授1名, 助手1名) から成り立っている。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ている。池尾助手は平成8年6月よりスイスのバーゼル大学の W. Gehring 博士のところへ留学中である。遺伝子機能研究室は館野義男教授が担当している。平成8年4月には深海薫が名古屋大学理学部の助手から転任して、この研究室の助手となった。大量遺伝情報研究室は西川建教授が担当している。さらに、平成8年8月には、早稲田大学理工学部の研究生であった太田元規がこの研究室の助手として赴任した。分子分類研究室は菅原秀明教授が担当している。平成8年8月には、理化学研究所から宮崎智がこの研究室の助手として赴任した。

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, 因間美恵, 上田陽子, 内田玲子, 江崎真由美, 小河美和, 奥田啓子, 川淵晶子, 川本たつ子, 北原康世, 絹川智子, 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, 鈴木利紀子, 大藤由紀子, 田辺理恵, 筒井波留, 寺内理恵, 柳楽幸子, 野村貴美子, 長谷川麻子, 浜松千賀, 服部叔恵, 平島美恵子, 堀江元乃, 安田徳一, 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、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、角山和久が総合研究大学院大学の博士課程1年生として在籍している。また、秋田大学医学部大学院博士課程2年生の鈴木善幸が特別研究生として研究に参加した。また、渡邊日出海, 山口由美, 遠藤俊徳, 高橋一成が NEDO の研究員として活躍した。また、竹崎直子もペンシルバニア州立大学で学位を取得後、技術補佐員となった。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。3年間以上にわたる五條堀教授との共同研究の後、秋篠宮文仁親王殿下が総研大より平成8年10月に学位を取得された。

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。

(1) HIV の抗原部位の宿主内でのアミノ酸置換のパターン: 山口由美, 五條堀 孝

HIV のゲノムは、高い突然変異率のために高速に進化するので、HIV 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 HIV の主要な抗原決定基の一つであり、この領域のアミノ酸の変化はウイルスの細胞親和性などの表現形にも影響を与える。我々は、V3 領域の宿主内での分子進化機構の解明に取り組んできた。今までに、感染後の宿主内における V3 領域の、同義置換速度と非同義置換速度の比較から、正の淘汰が働いている時期が存在することを指摘し、また、アミノ酸置換は抗原性や表現形を変化させるアミノ酸部位に集中していることを示した。この領域の進化機構を蛋白質レベルでより詳細に解明するため、宿主内において HIV の V3 領域に生じたアミノ酸置換のパターンの解析を行った。特に、正の淘汰がアミノ酸置換のパターンに何らかの影響を与えている可能性がないかどうかを調べるため、性質の異なるアミノ酸の間での置換の頻度に着目した。V3 領域では、アミノ酸の電荷に影響を与えるアミノ酸置換の割合が、経験的なアミノ酸置換のモデルからの期待に比べて有意に高く、中でも特に、塩基性アミノ酸と非荷電性アミノ酸との間でのアミノ酸置換の割合が非常に高いことが分かった。また、外被糖タンパク質に比べてアミノ酸置換速度が遅く、機能的制約が強いと考えられる逆転写酵素においては、このような特徴は見られなかった。これらの観察は、V3 領域の特徴的なアミノ酸置換のパターンは、HIV の突然変異のパターンによるものではなく、抗原性や表現形を変化させるようなアミノ酸置換に正の淘汰が働くため、性質の異なるアミノ酸の間での置換頻度が上昇している可能性を示す。

これらの研究の一部は、Proc. Natl. Acad. Sci., **94**, 1264–1269 (1997) に発表した。

(2) HIV の外被糖タンパク質の各アミノ酸サイトごとの多型の分析: 山口由美, 五條堀 孝

蛋白質の各アミノ酸サイトは、蛋白質分子の中でそれぞれの位置における役割を持っており、生体分子の進化機構を現実的に理解するためには、各アミノ酸サイトの生物学的機能と多様性との対応を調べる必要がある。HIV の外被糖蛋白質は、ウイルスが細胞へ侵入するときに重要な機能を持つが、この蛋白質のアミノ酸変化には、HIV の抗原性や表現形の変化をもたらすものがあることが知られている。したがって、この蛋白質は、生体分子の適応進化機構の分子レベルでの解明に取り組むのに都合がよい。本研究では、アミノ酸配列の多様性のサイトごとの評価を新しく考案した方法で行うことにより、HIV の外被糖蛋白質のアミノ酸の変化の分布とその特性の解析から、外被糖蛋白質の進化機構を、HIV の外被糖蛋白質のアミノ酸の多様性と生物学的機能の多様性の対応から解明することを試みた。まず、各サイトのアミノ酸多型量を「サンプルから2本の配列を選んだときに、あるサイトにおいてアミノ酸が異なっている割合」と定義した。また、各サイト多型量は、挿入・欠失による多型とアミノ酸の違いによる多型に分割して推定した。さらに、アミノ酸の違いによる多型は、着目するカテゴリー内のアミノ酸の多型と、着目するカテゴリー間の多型に分割できた。HIV-1 の外被糖蛋白質 (gp120) のアミノ酸配列について、これら

の解析を行った。アミノ酸を塩基性、酸性、非荷電性にグループ分けし、アミノ酸量を、荷電性の同じ多型量と、異なる多型量に分割した。その結果、次のような特徴が見いだされた。(1) gp120 では、挿入や欠失の起こりやすい領域とそうでない領域がはっきりと分かれる。(2) CD4 結合に関わると報告されている部位は、アミノ酸の保存性が高い。(3) 荷電性の異なるアミノ酸の多様性に富む領域は、V3 ループ以外にも存在し、特に、V3loop のすぐ外側の C 端側で顕著である。この領域の生物学的機能は解明されていないが、抗原決定基と同等にアミノ酸の多型に富むことから、この領域がウイルスの適応に関する可能性は否定できない。蛋白質の各アミノ酸サイトの多型量を適当に評価する統計量は、現在までに確立されたものがなかった。またこの方法は、アミノ酸の種類に着目した分析が可能であるという点からも、この方法は進化機構の解明のみならず、機能予測においても有用な方向に発展できる可能性を持つ。

(3) HIV-1 の母子感染の分子系統樹解析: 高橋一成, 五條堀 孝

HIV-1 は薬物乱用者にみられる静脈注射による感染の他、性行為、母子感染により感染する。その中で母子感染は、ウイルスがどの患者からどの患者に移行したかをかなり正確に特定できるので、感染が可能なウイルスの特徴を調べるのに適している。また、HIV-1 の感染機構を解明するのも、きわめて重要であると考えられる。しかし、母子感染の詳細な分子メカニズムは、現在においてもほとんど解明されていない。そこで、本研究では、DDBJ などの DNA データベースや文献等により、母子感染で感染した母子のそれぞれの体内に存在するウイルスの塩基配列 (アミノ酸配列) データを得て、それぞれのアミノ酸配列の相違を調べた。また、分子系統樹を用いて、各母親での体内から子に移行したウイルス集団を推定することによって、胎盤関門を通過して、子に感染したウイルスに共通する特徴を求めようとしている。経時的にサンプリングして得られたウイルスの塩基配列 (アミノ酸配列) データを用いて、サンプリングされた全時点でのウイルスのアミノ酸配列を比較することによって、感染初期に特徴的なウイルスのアミノ酸配列が存在するかを調べた。現在のところ、母子ペアにおけるウイルスの塩基配列データが少ないものの、そのような特徴的なアミノ酸配列の存在を完全には否定できないことがわかった。

(4) 正の自然淘汰の働いている可能性のある遺伝子の同定: 遠藤俊徳, 五條堀 孝

これまでに、正の自然淘汰が進化の過程で果たす役割を明らかにする目的で、正の自然淘汰の働いている可能性のある遺伝子を、非同義塩基置換数と同義塩基置換数との比較に基づいて検出する方法を確立し、DNA データベースに含まれる大量の塩基配列データから抽出してきた。その結果、相同性に基づいて分けられた 3,595 の遺伝子グループのうち、17 グループの遺伝子に正の自然淘汰の働いている可能性のあることがわかった。ところが、この手法によって検出された 17 のグループには、MHC、Abalone sperm lysin など、これまでに正の自然淘汰の働いていることが示されているいくつかの遺伝子の配列が含まれていなかった。この理由を調査したところ、これらの遺伝子では、比較的少数のサイトのみが正の自然淘汰の対象となっているため、翻訳領域全体の非同義塩基置換数、同義塩基置換数の比較では、正の自然淘汰が検出できないことが明らかになった。このため、

このような遺伝子を検出する方法として、小領域ごとでこれらの値を比較する「ウインドウ検索法」を開発し検索を行った結果、192の遺伝子グループが検出され、上記の遺伝子などもこれに含まれていた。この192の遺伝子グループのうち、立体構造の明らかになっているものは Abalone sperm lysin と Rhodobacteria photosynthetic reaction center H subunit の2つあったので、この2つについて、正の淘汰を受ける領域の立体構造上の位置を調べた。前者は鉄のような形をした、おそらく卵の糖タンパクと相互作用されると考えられる部分が該当しており、これは海中に放出される精子のうち同種のもののみを卵が特異的に認識するために、選択がかかった結果であると推測された。後者は、複数のサブユニット構造をとるタンパク質のうち、光受容タンパク質と相互作用すると考えられている部分に該当しており、バクテリアの種類ごとに異なる吸光波長に応じた選択がかかっていると推定された。これらの結果は、Mol. Biol. Evol, 13, 685-690 (1996) に出版するとともに、第19回日本分子生物学会年会において発表した。

(5) ヒト染色体バンド6p21.3と9q33-34との重複領域の分子系統学的解析: 遠藤俊徳, 今西 規, 五條堀 孝, 猪子英俊¹ (東海大学医学部分子生命科学)

ヒト染色体バンド6p21.3と9q33-34との重複領域の解析を行った。6p21.3は、MHC領域として知られ、ヒト染色体上の領域としては、もっともよく調べられている。6p21.3と9q33-34の間の共通祖先を有する遺伝子の分子系統学的解析を行った結果、一部の遺伝子を除き、それらは脊椎動物出現の頃に分岐しており、また遺伝子の位置のならばも2つの領域間で保存されていることが明らかとなった。この結果から、この領域は脊椎動物の出現の頃に重複したものであることが強く示唆された。この結果から、同様の重複領域がヒト染色体上には他にもある可能性があると考え、ヒトの遺伝子のうち、染色体上の位置のわかっているものについて、相同性検索によって重複領域を調べたところ、相同性の基準によるものの、数百以上の重複領域が存在することが示唆された。ただ、バンドにまたがった大きな重複領域は、22番染色体とX染色体の間ではほぼ全長にわたって相同性が見られる他は、ほとんど見つからなかった。以上の結果から、遺伝子重複と組み換えは、ゲノムの進化の過程で頻繁に起こっていると推察される。これらの成果を、国際シンポジウム International Symposium on Molecular Evolution, Cost Rica, 1997 において発表した。

(6) ニワトリの起源の分子系統学的解析: 秋篠宮文仁¹, 三宅哲雄², 高田 勝³, 新宮良介⁴, 遠藤俊徳, 五條堀 孝, 近藤典生³, 大野 乾⁵ (山階鳥類研究所, ²湧永製薬, ³進化生物学研究所, ⁴大阪大学第二内科, ⁵Beckman Research Institute of the City of Hope, USA) ミトコンドリア DNA を用いた分子系統学的解析により、ニワトリの起源を調べた。とくに、キジ科に属する30種以上の個体から血液サンプルを抽出し、ミトコンドリア DNA の D-loop 領域の DNA 配列を決定した。また、現在家禽として飼育されているニワトリの多数の品種からもミトコンドリア DNA も抽出して DNA 配列を決定した。決定された DNA 配列は、multiple alignment を行って、各種間における塩基置換数を推定した。推定された塩基置換数に基づいて、分子系統樹を作成した。その結果、調査されたす

すべてのニワトリは、インドシナ半島に住んでいた赤色ヤケイを単一の起源としており、ニワトリ起源の単系統説を裏付けるものであった。この成果は Proc. Natl. Acad. Sci., **93**, 6792-6795 に発表した。

(7) 直系遺伝子の位置関係に基づいた微生物ゲノムの構造解析：渡邊日出海、伊藤剛¹、森浩禎¹、五條堀孝¹ (奈良先端科学技術大学院大学) これまでに、大腸菌、インフルエンザ菌、2種のマイコプラズマ、らん藻、*Methanococcus jannaschii*、出芽酵母のゲノム配列が完全に決定されており、また、枯草菌等についても、ゲノム配列の決定は目前に迫っている。そこで我々は、これらの、真正細菌、古細菌、真核生物のゲノム構造を比較し、保存性を調べた。我々は、比較する生物種がその共通祖先から分岐して以来のゲノムの構造変化のみを知るために、直系(Orthologous) 遺伝子の位置関係のみに着目した。直系遺伝子は、(1) 比較している生物種間で、互いに最も似ているもの同士である、(2) その間の類似度が統計的に有為である、(3) 遺伝子の系統関係が種の系統関係と矛盾しない、(4) 遺伝子の組み合わせが完全である、という基準を設けて推定した。この解析を通して、原核生物において、リボソームタンパク質遺伝子のクラスターや ATPase オペロン、RNA ポリメラーゼ $\beta\beta'$ オペロン、細胞壁の合成に関わる遺伝子のクラスター等が保存していることとともに、その他のゲノム上領域ではほとんど保存性は見られず、少なくとも上記7種の原核生物のゲノムが、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。この中で注目すべき点は、真正細菌と古細菌のゲノムにおいて遺伝子のならびが保存している例が存在する点である。真正細菌が古細菌と真核生物のアウトグループとなる形の系統進化によって現存する全生物が生じてきたとする説を受け入れるならば、真正細菌と古細菌のゲノムに共通して存在する遺伝子のならびは全生物の共通祖先においても存在していたことになる。更に、そのような保存領域に存在する遺伝子の発現制御なども全生物の共通祖先において既に完成していたことが十分に考えられる。実際、保存領域に存在する遺伝子は、他の多くの遺伝子における転写制御因子による制御とは異なり、転写後制御等を受けている場合が多い。これらの研究成果を、International Symposium on Network and Evolution of Molecular Information, Cold Spring Harbor Meeting on Molecular Genetics of Bacteria & Phages, Journal of Molecular Evolution, in press 等で発表した。

(8) 全塩基配列が決定されたゲノムにおける ORF 内およびその周辺における塩基組成の比較：渡邊日出海、五條堀 孝、三浦謹一郎¹ (学習院大学生命分子科学研究所)

これまで、翻訳にとって重要な塩基配列として、開始コドンと終止コドン以外に、原核生物では SD 配列、真核生物では Kozak のコンセンサス配列 (CCA/GCCAUGG) が知られている。その他にも、実験によって、翻訳効率と深く関わっている構造が mRNA 上に存在していること示唆されている。そこで、全塩基配列が決定されたゲノムを用いて、その中に存在する ORF 内およびその周辺における塩基組成の偏りと、開始コドンおよび終止コドンからの相対位置との間の相関を調べることで、翻訳の開始と終止に関連する塩基の偏りを見出す試みを行った。まず、各ゲノムに存在する ORF 全ての塩基配列を、開始コドン

周辺領域と終止コドン周辺領域に分け、それぞれを開始コドンと終止コドンを中心として整列し、開始コドンと終止コドンそれぞれからの相対塩基位置での塩基組成を求める。次に、各ゲノム全体の塩基組成を基に、塩基の出現期待値を求め、その整列した配列の各塩基位置における実際の塩基組成とのずれが、統計的に有為なずれがあるかどうかを調べる。その際、G 検定という統計手法を用いる。こうして、ORF 内における塩基の偏りが、ORF 外の領域に比べて非常に高く、ORF 内では3を基数とする位置に関する繰り返しが見られること、コドンの第1位置ではGの出現頻度が高い一方Tの出現頻度が低く、第2位置ではGの出現頻度が低くなっていること、ORF 内での塩基の偏りは、開始コドン近辺と終止コドン近辺とは異なっており、終止コドンに近い位置ほどAの出現頻度が高くなっていること等が明かとなった。次に、ゲノムをORFの5'側領域、3'側領域、コドンの第1位置、第2位置、第3位置の5種類の領域に分類して、その各々での塩基組成を求める。この結果から得られる各領域における塩基の出現期待値と、整列した配列の各塩基位置における実際の塩基組成とのずれをやはり同じ手法で調べる。この解析により、各領域に固有な塩基の偏りが取り除かれる。こうして、原核生物においては、5'側領域では、SD配列以外の特徴として、全体としてCが低い出現頻度に抑えられているが、開始コドンの直前の塩基位置にCが高い頻度で現れること、SD配列の周辺にはAが高い頻度で現れること、また、ORF内においても、開始コドンと終止コドンに近い位置では、特にAの出現頻度が非常に高くなっていること、そのAの偏りが、特にコドンの第1位置で顕著であること、らん藻と出芽酵母では、第2コドンの第2位置でCの出現頻度が異常に高くなっていること、終止コドンの直前の数塩基で種固有な塩基の偏りが見られること、終止コドンの3'側にも種固有の偏りが見られることなどが明らかになった。らん藻と出芽酵母で、第2コドンの第2位置でCの出現頻度が高くなっていることは、methionine aminopeptidase によってN末端のメチオニンが取り除かれるアミノ酸配列をコードする遺伝子がこれらの生物種では特に多いことを示していると考えられる。以上の塩基の偏りと翻訳機構との間に何らかの関連性が存在していることが示唆されるが、その多くはまだ実証はされていない。今後は、これらの塩基の偏りと翻訳機構との関連を実験的に確認していく。以上の研究を、International Workshop on Recent Advance in Genome Biology of Micro-organisms と Meeting of the International Society of Molecular Evolution “JUNK DNA: The Role and the Evolution of Non-coding Sequences” で発表した。また、GENE の Special Issue の形でも出版される予定である。

(9) 大腸菌とインフルエンザ菌における遺伝子構成の違いに基づいた遺伝子制御関係の発生過程の推定: 渡邊日出海, 後藤庚丞¹, 五條堀 孝¹(¹帝人システムテクノロジー)

大腸菌のように非常に多くの遺伝子をゲノムにコードしている生物種では、エネルギーの利用効率と共に、限られた容積をもつ細胞質と、さらに限られた表面積をもつ細胞表面積とを有効利用するために、遺伝子の発現制御が巧妙に行われている。大腸菌においては、多くの発現制御機構が解明されているが、特定の転写制御因子が特定の遺伝子の発現制御を行うようになった進化過程に関する研究は全くと言っていいほど行われていない。そこ

で、大腸菌で転写制御関係が明らかにされている転写制御遺伝子と被制御遺伝子をリストアップし、そのそれぞれに類似する遺伝子を、比較的大腸菌に近縁な、ゲノムの全塩基配列が明らかにされているインフルエンザ菌から探し出すことで、インフルエンザ菌と大腸菌が共通祖先から種分化して以来どのような制御関係の進化が起ってきたのかを調べた。この解析によって、大腸菌に存在する制御遺伝子とそれが制御する遺伝子の一方または両方がインフルエンザ菌に見出されない場合には、これら2生物種の種分化後に、転写制御関係における別々の進化が起こったことが示唆される。そのような例は、大腸菌の全被制御遺伝子のうちの約4割に達する。その中で最も多いのは、インフルエンザ菌において被制御遺伝子が存在しない場合で、6割以上を占める。最も興味深いものは、大腸菌に存在している被制御遺伝子がインフルエンザ菌にも存在しているが、その大腸菌での制御遺伝子に類似する遺伝子がインフルエンザ菌では見当たらない場合である。この場合、そのインフルエンザ菌での被制御遺伝子は、転写制御を受けていないか、大腸菌とは別の転写制御遺伝子の制御を受けていることになる。今後は、被制御遺伝子の制御領域の塩基配列も考慮に入れた解析を加えることで、制御関係の発生活滅過程をより詳細に追って行く予定である。

(10) *Methanococcus jannaschii* ゲノムに存在する全 ORF の分類による古細菌の真正細菌、真核生物との系統関係の推定: 渡邊日出海, 五條堀 孝

Woese によって古細菌が発見されて以来、その系統上での位置付けが問題にされてきた。1989年に2つのグループによってほぼ同時に、複合系統樹を用いた系統解析を通して、古細菌は系統的には真正細菌よりも真核生物に近いという結論が出された。現在、この位置付けは広く受け入れられてはいるが、批判も少なくない。そこで、ゲノムの全塩基配列が決定された *Methanococcus jannaschii* の全 ORF を、他の生物種の遺伝子とのアミノ酸配列の類似度を基に分類し、*M. jannaschii* の ORF 各々に関して、それと最も類似する真正細菌と真核生物の遺伝子、計3遺伝子による単一遺伝子の系統樹を作成した。こうして作成された多数の系統樹のうちで、*M. jannaschii* の ORF が真正細菌よりも真核生物に近いことを示すものは、全体の30%にも満たなく、70%近くのものでは、*M. jannaschii* の ORF が真正細菌により近いことを示した。興味深いことに、古細菌が真核生物に近縁であることを示すものとして用いられてきた遺伝子は、全てその30%に満たない遺伝子種に含まれている。そこで、現在は、古細菌、特に *M. jannaschii* は、遺伝子の構成から見ると系統的には真正細菌に近縁である、という仮説をたて、その仮説を裏付ける複合系統樹の作成を試みている。

(11) MHC 遺伝子の多様性と分子進化の研究: 今西 規

高度な遺伝的多型を示すヒト MHC 遺伝子に着目し、その分子レベルでの多様性がどのように進化したか、また、ヒト集団の中でどのように遺伝的変異が分布しているかを研究した。DNA 塩基配列の統計的な解析の結果、ヒト MHC の多重遺伝子族にみられる共有多型は、遺伝子変換によって生じていることを明らかにした。また、ヒト MHC クラス I 遺伝子である HLA-B の新たに発見された対立遺伝子について、DNA の塩基配列を決定し、

さらに分子系統樹の作成を中心とする解析を行った。さらに、東アジアのさまざまな集団における HLA のハプロタイプ頻度を用い、これら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 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。

これらの結果は、Prehistoric Mongoloid Dispersals (T. Akazawa and E. J. E. Szathmery eds.), 187-197, Oxford Univ. Press, Tissue Antigens, 47, 265-274, Current Topics on Molecular Evolution, Proceedings of the U.S.-Japan Workshop (M. Nei and N. Takahata eds.), pp. 89-95, Inst. MEG, Penn. State Univ. に発表した。

(12) 北海道日高地方に住むアイヌの HLA クラス II 遺伝子の変異とアイヌの起源に関する研究: 坂内 誠¹, 徳永勝士², 今西 規, 針原伸二³, 藤沢 清¹, 十字猛夫⁴, 尾本恵市⁵ (¹東京都赤十字, ²東京大学医学部, ³東京大学理学部, ⁴日赤中央血液センター, ⁵国際日本文化研究センター)

アイヌ民族は北日本の農耕開始以前からの先住民であり、現代日本人の大部分は新石器時代以降の移民であると考えられている。そこで、北海道日高地方に住む 50 人のアイヌの人々の DNA サンプルを用い、HLA-DRB1, DRB3, DQB1 の多型を調べた。アイヌの遺伝子頻度の特徴は、DRB1*1401, DRB1*1406, そして新たに発見された DRB1*1106 の頻度が高いことである (それぞれ 20%, 17%, 5%)。また、いくつかの現代日本人でみられる対立遺伝子 (DRB1*1502, 1302, 0803, 1501) が、アイヌでは 1-2% という低い頻度で観察された。DRB1*1406 は以前アメリカ先住民や北東アジアの民族に特徴的な対立遺伝子であると議論されていた。また、DRB1*1106 は二人のシンガポール華僑と一人の韓国人でのみ観察されていた。さまざまな集団の HLA クラス II 遺伝子の頻度を用いた主成分分析の結果、アイヌは日本人などの東アジアの諸集団とアメリカ先住民の中間に位置することがわかった。これらの観察事実から、後期旧石器時代に東北アジアにいた集団が、アメリカ先住民を派生させ、またアイヌ民族の祖先となったとする仮説が支持された。詳細は、*American Journal of Physical Anthropology*, 101, 1-9 で発表した。

(13) 大腸菌における遺伝子制御関係の発生過程: 渡邊日出海, 森 健太郎¹ (¹東京理科大学情報処理センター)

大腸菌における転写レベルでの遺伝子発現制御関係は、非常に多くの例でデータが蓄積されている。しかし、その転写制御関係に関する進化的研究は皆無に等しく、転写制御遺伝子と被制御遺伝子の間に存在する制御関係がどのようにして成立してきたのか、という点に関する研究はほとんど行われていない。そこで、転写制御遺伝子の進化と、被制御遺伝子の進化との間の相関を調べることで、現在見られる制御関係が過去の制御関係に依存する形で生じてきたのか、あるいは、過去の状態によらずに生じてきたのかを明らかにする試みを行った。その結果、アミノ酸配列が類似した制御遺伝子がやはり互いに類似した遺伝子を制御するという例は非常に希であることが明らかになった。このことから、重複によって新たに生じた制御遺伝子は、重複前に制御していた遺伝子とは配列が全く異なる

遺伝子を制御し、また、被制御遺伝子が重複した場合は、重複前に制御を行っていた遺伝子とは全く異なる遺伝子の制御下に入ったことが強く示唆された。従って、遺伝子の制御関係の発生においては、それまでには存在していなかった制御遺伝子と被制御遺伝子との組み合わせが積極的に選択されてきたことになる。遺伝子の新たな機能の獲得とその遺伝子に対する制御機構の進化との間には密接な関係があることから、このような制御遺伝子と被制御遺伝子との間の新たな組み合わせが、新たな機能を持つ遺伝子の発生を促してきたと考えることも可能である。今後は、他の生物種との比較を通して、制御関係の発生過程をより詳細に追跡して行く予定である。以上の研究成果は、日本分子生物学会年会と *J. Theor. Biol.*, **178**, 183-204 において発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. Shiga H., Shioda T., Tomiyama H., Takamiya Y., Oka S., Kimura S., Yamaguchi Y., Gojobori T., Rammensee H.-G., Miwa K. and Takiguchi M.: Identification of multiple HIV-1 cytotoxic T-cell epitopes presented by human leukocyte antigen B35 molecules. *AIDS*, **10**, 1075-1083, 1996.
2. Okamoto Y., Shiosaki K., Eda Y., Tokiyoshi S., Yamaguchi Y., Gojobori T., Hachimori T., Yamazaki S. and Honda M.: Father-to-mother-to-infant transmission of HIV-1: Clonally transmitted isolate of infant mutates more rapidly than that of the mother and rapidly loses reactivity with neutralizing antibody. *Microbiol. Immunol.*, in press.
3. Tokunaga K., Imanishi T., Takahashi K. and Juji T.: On the origin and dispersal of East Asian populations as viewed from HLA haplotypes. In *Prehistoric Mongoloid Dispersals* (T. Akazawa and E. J. E. Szathmry eds.), 187-197, Oxford Univ. Press, 1996.
4. Lin L., Tokunaga K., Tanaka H., Nakajima F., Imanishi T., Kashiwase K., Bannai M., Mizuno S., Akaza T., Tadokoro K., Shibata Y. and Juji T.: Further molecular diversity in the HLA-B15 group. *Tissue Antigens*, **47**, 265-274, 1996.
5. Imanishi T.: DNA polymorphisms shared among different loci of the major histocompatibility complex genes. In *Current Topics on Molecular Evolution, Proceedings of the U.S.-Japan Workshop* (M. Nei and N. Takahata eds.), pp. 89-95, Inst. MEG, Penn. State Univ., 1996.
6. Bannai M., Tokunaga K., Imanishi T., Harihara S., Fujisawa K., Juji T. and Omoto K.: HLA class II alleles in Ainu living in Hidaka district, Hokkaido, northern Japan. *American Journal of Physical Anthropology*, **101**, 1-9, 1996.
7. Taniguchi Y., Katsumata Y., Koido S., Suemizu H., Yoshimura S., Moriuchi T., Okumura K., Kagotani K., Taguchi H., Imanishi T., Gojobori T. and Inoko H.

- Cloning, sequencing, and chromosomal localization of two tandemly arranged human pseudogenes for the proliferating cell nuclear antigen (PCNA). *Mammalian Genome*, **7**, 906–908, 1996.
8. Imanishi T. and Gojobori T.: Diversity in human MHC genes among ethnic groups worldwide. In *Ethnoepidemiology of Cancers* (K. Tajima and S. Sonoda eds.) Gann Monograph on Cancer Research, **44**, 89–96, 1996.
 9. Endo T., Ikeo K. and Gojobori T.: Large-scale search for genes on which positive selection may operate. *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 685–690, 1996.
 10. Fumihito A., Miyake T., Takada M., Endo T., Gojobori T., Ohno S. and Kondo N. Monophyletic origin and unique dispersal patterns of domestic fowls. *Proceedings of National Academy of Science, USA*, **93**, 6792–6795, 1996.
 11. Watanabe H., Mori H., Itoh T. and Gojobori T.: Genome plasticity as a paradigm of eubacteria evolution. *J. Mol. Evol.*, **44**(Suppl. 1), S57–S64, 1997.
 12. Watanabe H., Gojobori T. and Miura K.: Characterization of the *Methanococcus jannaschii* genome in terms of the ORF composition and the structures within and around ORFs. In preparation.
 13. Otsuka J., Watanabe H. and Mori K.: Evolution of transcriptional regulation system through promiscuous coupling of regulatory proteins with operons; suggestion from protein sequence similarities in *Escherichia coli*. *J. Theor. Biol.*, **178**, 183–204, 1996.
 14. Perriere G., Moszer I. and Gojobori T. NRSUB: a nonredundant database for *Bacillus subtilis*. *Nucl. Acids Res.*, **24**(1), 41–45, 1996.
 15. Ohba, K. Mizokami M., Lau J. Y. N., Orito E., Ikeo, K. and Gojobori T. Evolutionary relationship of hepatitis C, pesti-, flavi-, plant viruses, and newly discovered GB hepatitis agents. *FEBS Lett.*, **378**, 232–234, 1996.
 16. Gojobori T. and Tateno Y.: DNA database and its applications to the study of molecular evolution. In: *BIO JAPAN '96. Symposium proceedings*. pp. 355–356, 1996.
 17. Koike T., Okayama T., Ishii J., Mizunuma T., Tamura T., Tateno Y., Sugawara H., Nishikawa K., Imanishi T., Fukami-Kobayashi K., Ikeo K. and Gojobori T. Development of new DDBJ DNA sequence database with data annotation tool Yamato II. *Proceedings of the seventh workshop on genome Informatics 1996*. Universal Academy Press, **7**, 157–165, 1996.
 18. Yamamoto H., Tamura T., Isono K., Gojobori T., Sugawara H., Nishikawa K., Saitou N., Imanishi T., Fukami-Kobayashi, K., Ikeo, K. and Tateno Y.: SAKURA: A new data submission system of DDBJ to meet users' needs in the age of mass

production of DNA sequences. Proceeding of the seventh workshop on genome informatics 1996. Universal Academy Press, 7, 204-205, 1997.

19. Yamaguchi Y. and Gojobori T.: Evolutionary mechanisms and population dynamics of the third variable envelope region of HIV within single hosts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **94**, 1264-1269, 1997.
20. Tateno Y. and Gojobori T. DNA data bank of Japan in the age of information biology. *Nucl. Acids Res.*, **25**(1), 14-17, 1997.
21. Perriere G., Moszer G. I. and Gojobori T.: The NRSub database: update 1977. *Nucl. Acids Res.*, **25**(1), 53-56, 1997.
22. Nakamura Y., Gojobori T. and Ikemura T.: Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases. *Nucl. Acids Res.*, **25**(1), 244-245, 1997.
23. Tateno Y., Ikeo K., Imanishi T., Watanabe H., Endo T., Yamaguchi Y., Suzuki Y., Takahashi K., Tsunoyama K., Kawai M., Kawanishi Y., Naitou K. and Gojobori T.: Evolutionary motif and its biological and structural significance. *J. Mol. Evol.*, **44**(Suppl. 1), 38-43, 1997.
24. Mizokami M., Orito E., Ohba, K., Ikeo K., Lau J.Y.N. and Gojobori T.: Constrained evolution of hepatitis B virus with overlapping genes. *J. Mol. Evol.*, **44** (Suppl. 1), 83-90, 1997.

(2) その他

1. 山口由美, 五條堀 孝: AIDS ウイルスと分子進化—HIV の遺伝情報が語るその進化過程と臨床への応用—. *医学のあゆみ*, **177**(13), 852-856, 1996.
2. 山口由美, 五條堀孝: ウイルスの分子進化. *ウイルス*, **46**(1), 1-6, 1996.

(3) 発表講演

1. Yamaguchi Y. and Gojobori T.: Patters of amino acid substitution in the V3 region of HIV within single hosts. The fourth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Tucson, Arizona, 6月.
2. 山口由美, 五條堀 孝: HIV の V3 領域のアミノ酸置換のパターン. 第 69 回日本生化学会大会 第 19 回日本分子生物学会年会 合同年会 札幌, 8月.
3. 山口由美, 五條堀 孝: HIV の外被糖蛋白質のアミノ酸置換の分布とパターン. 第 44 回日本ウイルス学会総会 静岡, 10月.
4. Endo T. and Gojobori T.: Large-scale search for genes on which positive selection may operate. International Symposium on Network and Evolution of Molecular Information, Tokyo, 1996.
5. 遠藤俊徳, 五條堀 孝: 正の自然淘汰の働く遺伝子内領域の推定とその機能の解析. 第 19 回日本分子生物学会年会, 札幌, 8月.

6. 渡邊日出海, 森 健太郎: 大腸菌における転写制御関係の進化に関する研究. 第19回日本分子生物学会年会, 札幌, 8月.
7. Watanabe H., Mori H. and Gojobori T.: Comparison of genome structures among different microbes. International Symposium on Network and Evolution of Molecular *Information*, Tokyo, April 1996.
8. Watanabe H., Mori H. and Gojobori T.: Exceptionally conserved regions found in extensively rearranged microbe genomes. *The 1996 meeting on Molecular Genetics of Bacteria & Phages*, Cold Spring Harbor, August 1996.
9. Watanabe H., Gojobori T. and Miura K.: A novel common feature in nucleic acid distribution in bacterial genomes. *International Workshop on Recent Advance in Genome Biology of Micro-organisms*, Makuhari, October 1996.
10. Gojobori T.: (1996) "Bioinformatics Developments in Japan." Symposium on Genome/Proteome Research and Bioinformatics, Australian National University, 3月11日.
11. Gojobori T.: (1996) "Intrabody evolution of human immunodeficiency virus and hepatitis c virus." International Symposium on Network and Evolution of Molecular Information, Tokyo, Japan, 4月20-22日.
12. Yamaguchi, Y. and Gojobori T.: (1996) "Patterns of amino acid substitutions in the V3 region of HIV within single hosts." The Fourth Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, Arizona, U.S.A., 6月8-11日.
13. Gojobori, T. and Endo T. (1996) "A large-scale search of the DNA sequence database for genes on which positive selection might have operated." Origins and Evolution/Fifth International Congress of Systematic and Evolutionary Biology, Budapest, Hungary, 8月17-24日.
14. Gojobori T.: (1996) "The DNA sequence database and its application to molecular evolutionary engineering." 5th Pacific Rim Biotechnology Conference & Bioexpo'96, Seoul, Korea, 11月12-15日.
15. Watanabe H., Gojobori T. and Miura K.: Features in base distribution around the boundaries of all ORFs in bacterial, archaeal and eucaryal genomes. *Symposium of International Society of Molecular Evolution*, Costa Rica, January 1997.
16. Endo T., Imanishi T. and Gojobori T.: Intragenome duplications on human chromosomes. International Symposium on Molecular Evolution, Guana Caste, Costa Rica, 1997.

H-b. 大量遺伝情報研究室

平成7年に新設された研究室で, 西川 建教授, 太田元規助手 (平成8年8月1日着

任)により構成される。研究対象は遺伝情報の第1次産物であるタンパク質について、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。また、日本DNAデータベース(DDBJ)の研究事業に参加するとともに、すべての種類のタンパク質に関する変異体データベース(Protein Mutant Database, 略称PMD)の作成を独自に進めている。

(1) タンパク質の立体構造予測(3D-1D)法の改良: 太田元規, 西川 建

3D-1D法はデータベースに基づく立体構造予測法であり、方法論的にはすでに種々のバリエーションが開発され試みられている。すでにいくつかの成功例も報告されているが、予測の成功する確率は低く、まだ確立された方法とはいえない。3D-1D法では、与えられた構造(3D)に未知タンパク質の配列(1D)を当てはめて、両者の適合性を評価関数に用いて定量的に評価する。本研究では、評価関数を改良することによって予測精度を向上させることを試みた。最初に、評価関数の善し悪しを簡単にテストする方法として“ベスト5テスト”を考案した。これは構造のある残基部位に20種類のアミノ酸を次々に当てはめて適合性を評価したとき、天然タンパクのアミノ酸が何番目にランク付けされるかを見るテストである。評価関数の与え方が適切であればテストのスコアが高く、適切でなければスコアは低くなる。評価関数として可能な種々の定義を設定し、それぞれをこのテストに掛け、最適な評価関数を選別した。こうして得られた評価関数をデータベースサーチに適用したところ、当初の目的とは違い、構造予測サーチ(1つの配列に対し構造データベースをサーチする)ではわずかの改良しか見られなかったが、“逆サーチ”(1つの構造に対し配列データベースをサーチする)では従来法と比べ顕著な改良を見た。逆サーチはこれまで原理的に困難な問題だといわれてきたが、結果的に我々は逆サーチ法の実用化への目処を手にすることができた。詳細は文献1に発表した。

(2) 分子進化的に遠いタンパク質間の構造類似性の発見: 松尾 洋¹, 西川 建¹(¹富士通(株)国際情報科学研究所)

リン脂質分解酵素の sphingomyelinase (SMase, Bacillus cereus 由来) の立体構造はまだ未定である。我々の開発した 3D-1D 法プログラム COMPASS を SMase のアミノ酸配列に適用したところ、既知の立体構造のうち DNase I との配列・構造間の適合性が高いことを見出した。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% 程度)。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)。SMase はリン脂質を DNase I は DNA を分解するので両酵素の基質特異性はまったく異なるように見えるが、切断点を比較してみると共にリン酸エステル結合を切断する phosphodiesterase としての共通性をもっていることが判る。3D-1D 法から得られる対応関係に基づき SMase の配列を DNase I の構造に当てはめ、側鎖をすべて置き換えてモデリングを行ない SMase の予測される立体構造を作成した(生物分子工学研究所・中村春木部長との共同研究)。予想される立体構造の類似性と機能上の共通性からみて、両者は共通起源に由来するが、機能分化し、配列ホモロジーが失われるほど分子進化的には

遠い関係にあるタンパク質であると推論した。詳細は文献2に発表した。

(3) タンパク質立体構造の新しい比較法の開発: 須山幹太¹, 西川 建 (生物分子工学研究所)

立体構造の比較・分類を行うには通常は、3次元空間中での2つの構造の重ね合せが基本であり、最大限重なりの大い位置関係を試行錯誤的に求めるという問題になる。我々はこの問題を、3D-1D法の中で用いられる3Dプロフィールを利用することによって解決することを考えた。3Dプロフィールは立体構造の特徴を残基部位ごとに抽出し、基本的に1次元の情報としてまとめたテーブルであり、これを利用すれば2つの立体構造を比較する問題は、2つの3Dプロフィール・テーブルの比較という問題に還元できる。3Dプロフィールの比較には、通常の配列比較に用いられるダイナミック・プログラミング(DP)法が適用できるので、2つの3Dプロフィールを整列化(アラインメント)することにより最適の対応関係を求めることができる。こうして得られた解は2つの立体構造の間の最適な対応関係に相当し、アラインメントのスコアは立体構造の類似性の程度を示す“距離”を意味する。本方法は基本的に1次元情報を比較し最適化する手法であるため、従来法とくらべて計算時間は桁違いに短縮される。タンパク質の既知の立体構造のすべて(実際には約400個の代表構造)の総当り比較を行ない、計算結果は1つの立体構造を1点としてプロットし平面上の分布図として表示した。その結果、タンパク質は構造クラス(α 型、 β 型、 α/β 型など)に応じておおむねクラスター状に分布することが認められた。詳細は文献3を参照。

研究業績

(1) 原著論文

1. Ota M. and Nishikawa K.: Assessment of pseudo-energy potentials by the best-five test: a new use of the three-dimensional profiles of proteins. *Protein Engineer.*, in press.
2. Matsuo Y., Yamada A., Tsukamoto K., Tamura H., Ikezawa H., Nakamura H. and Nishikawa K.: A distant evolutionary relationship between bacterial sphingomyelinase and mammalian DNase I. *Protein Sci.*, 5, 2459-2467 (1996).
3. Suyama M., Matsuo Y. and Nishikawa K.: Comparison of protein structures using 3D profile alignment. *J. Mol. Evol.*, in press.

(2) 発表講演

1. Nishikawa K.: Applications of protein sequence-structure compatibility approach. 国立遺伝学研究所生命情報研究センター主催国際シンポジウム, 東京, 4月.
2. Nishikawa K.: Protein structure prediction based on database search. 大阪大学蛋白質研究所セミナー, 大阪, 10月.

3. 西川 建: 情報生物学の可能性. 日本生物物理学会第 34 回年会シンポジウム, つくば, 11 月.
4. 太田元規, 西川 建: フォワード・フォールディング・サーチにもインバース・フォールディング・サーチにも適用できる 3D-1D 法. 日本生物物理学会第 34 回年会, つくば, 11 月.

H-c. 遺伝子機能研究室

当研究室の研究目的は遺伝子（もっと正確には ORF とその両端）の機能予測と解明にある。この目的を遂行するには種々のアプローチがあるが、その 1 つは、問題となっている遺伝子の塩基配列情報または自動翻訳されたアミノ酸配列情報をもとにしてその機能を推定することである。このアプローチでは、「生命の起源から現在まで地球上に興亡した全ての遺伝子は共通の祖先から進化してきた」という考えが基盤となる。厳密には、全ての遺伝子が単一の祖先から進化してきたかどうかについて疑問があるが、現段階では私たちの研究目的の思考基盤として問題がないと思われる。

さて、このアプローチは具体的には、当研究室が活動の一端を担っている DDBJ (DNA Data Bank of Japan) のデータベースを利用することから始まる。DDBJ には日本の研究者から集められたデータだけでなく、世界の研究室から収集されたデータも含まれている。まづ、これら全てのデータから完全長の ORF をコードする遺伝子のみを抽出した。利用した時点では、約 10 万の ORF が完全長のアミノ酸配列に翻訳された。次に、これらの翻訳された配列を、そのアミノ酸配列の類似度にしたがってグループ化した。このため、10 万の配列の各々をプローブとして、BLAST と FASTA の両方を使用して類似グループを作成した。

このようにして作られた類似グループの各々について、マルチプルアラインメントを実行した。マルチプルアラインメントについては従来の方法より分子進化的な考えを重視した方法を独自に開発した。つまり、1 つの類似グループの全配列の分子系統樹を作成し、得られた系統関係をもとに再度アラインメントを実行し、その結果をもとにまた系統樹作成をするというプロセスを繰り返すのである。そして、両方の結果が収束したら、その最終結果をマルチプルアラインメントの結果と解釈する。この方法はその遂行過程の特徴を反映する意味で HOMTRAL (HOMology-TRee-ALignment) と名付けた。

さらに、これらマルチプルアラインメントグループの各々から進化的に保存されているアミノ酸の部分配列を抽出するプロセスに入る。このような進的に保存されている部分配列を私たちは進化モチーフ (Evolutionary motifs) と呼ぶことにした。私たちは、この進化モチーフこそ生命の起源当時の遺伝子の構成を、完全ではないにしても、今に残していると考えている。そして、遺伝子の大部分が中立的な進化を繰り返してきているとすれば、この進化モチーフはそれを保存している遺伝子の機能と密接な関係にあると考えられる。

進化モチーフの抽出は、まず、アラインメントされたアミノ酸座位を単位として、そこ

に位置する全てのアミノ酸の間の物理化学的類似性を計算し、類似性がある相対基準値（例えば 90%）を超えると保存座位と定義することから始まる。問題は、それら保存座位のグループ化である。どこからどこまでの保存座位が1つの進化モチーフを構成するかということである。この解決策の1つとして、ウインドウ解析を導入した。1アミノ酸残基ごとに移動する大小2重のウインドウを設定し、大ウインドウでランダムレベル、小ウインドウで有意レベルを表示することとした。つまり、ウインドウ操作で、小ウインドウの座位当たりの保存座位数が大ウインドウでの数を超過している限り、小ウインドウに存在する保存座位を一つの進化モチーフの構成単位としたのである。

このような一連のプロセスにより、1万を超えるの進化モチーフが抽出されたが、それらの長さをもとにヒストグラムを作成した。そのヒストグラムは約 20, 45, 60 の3カ所でピークを示した。これらは、それぞれ、タンパク質モジュールの平均長、エキソンの平均長、そしてホメオボックスなどの機能単位の長さ一致した。この研究は遺伝情報分析研究室との共同研究として続行中であるが、その一部は *Journal of Molecular Evolution* に掲載予定である。

当研究室ではこの他に、明治製菓（株）との共同研究で、真核生物では初めてのケースとして、エポキシ化酵素をコードする（と思われる）遺伝子の機能解析を実験とデータ解析を併用しながら進めている。また、アミノ酸配列の類似度や立体構造の情報をもとに RNA 認識モチーフ (RNA recognition motif) を持つ共通配列型 RNA 結合ドメイン (consensus sequence-type RNA binding domain) の機能解析を進めている。

研究業績

(1) 原著論文

1. Gojobori T. and Tateno Y. (1996) DNA database and its application to the study of molecular evolution. In Symposium Proceedings of BioJapan '96, pp. 355-359, S. Fukui, Japan. Bioindustry Association.
2. Kitakami H., Mori Y., Tateno Y. and Gojobori T. (1996) A biological taxonomy database system on World Wide Web, In Proceedings of the German Conference on Bioinformatics (GCB '96), pp. 244-246, Univ of Leipzig Press, Leipzig.
3. Koike T., Okayama T., Ishii J., Mizunuma T., Tamura T., Tateno Y., Sugawara H., Nishikawa K., Imanishi T., Fukami-Kobayashi K., Ikeo K. and Gojobori T. (1996) Development of new DDBJ DNA sequence database with data annotation tool Yamato II. pp. 157-165, In The Proceedings of the Seventh Workshop on Genome Informatics, T. Akutsu, K. Asai, M. Hagiya, S. Kuhara, S. Miyano, and K. Nakai, eds., Universal Academy Press, Tokyo.
4. Tateno Y., Ikeo K., Imanishi T., Watanabe H., Endo T., Yamaguchi Y., Suzuki Y., Takahashi K., Tsunoyama K., Kawai M., Kawanishi Y., Naitou K. and Gojobori T.: Evolutionary motif and its biological and structural significance. *J. Mol.*

Evol., in press.

5. Tateno Y. and Gojobori T.: DNA Data Bank of Japan in the age of information biology. Nucl. Acids Res., 25(1), 14-17, 1997.

(2) その他

1. 館野義男 (部分担当), 積み木細工の生物学, 永田, 中西, 白川, 共編, 共立出版, 1996.
2. 館野義男, 国際 DNA データバンクとゲノム配列データ, 学術月報, 49 巻, 932-936 頁, 1996.

(3) 発表講演

1. Tateno Y. and Gojobori T.: Some aspects of the International DNA databases, Teijon, Korea, March.
2. Tateno Y.: Activity of DNA Data Bank of Japan in the past year, The International Collaborators Meeting of the International DNA Databases, Mishima, April.
3. Tateno Y.: Construction of a multiple alignment database for the study of gene evolution, International Symposium on Network and Evolution of Molecular Evolution, Tokyo, April.
4. Tateno Y.: Evolutionary motif and its biological and structural significance, Jerusalem, Israel, November.

H-d. 分子分類研究室

当研究室は新設の研究室であり, 2月1日付で菅原秀明教授が着任し, 続いて, 8月1日に宮崎智助手が着任した。当室は, 生命情報の高度利用を可能にするデータの獲得・蓄積・評価・分析システムの研究開発を進め, その成果を生かしながら, DNA Data Bank of Japan (DDBJ) ならびに WFCC World Data Centre for Microorganisms (WDCM) の研究業務ならびに国際的な生物多様性関連プロジェクトに貢献することを目的としている。また, システムの開発方針として, 互いに独立な機能を自由に組み合わせることによって生命情報研究における多彩な課題に答えられるモジュール構造を目指している。なお, 以上の問題意識と課題の多くは前任地の理化学研究所から継続したものであるが, 以下に今年度の成果を紹介する。

(1) DDBJ におけるデータ処理システムの研究開発: 菅原秀明, 五條堀 孝, 館野義男, 西川 建, 斎藤成也, 池尾一穂, 今西 規, 深海-小林 薫, 大田元規, 宮崎 智, 田村卓郎¹, 岡山利次², 小池智浩², 水沼 貞², 山本 光², 磯野克己³ (¹遺伝学普及会, ²日立ソフトウェアエンジニアリング, ³神戸大学)

生命情報研究センターの他の3研究室と協力してDDBJの運用に当たった。ことに, 拡

大の一途を辿るデータ量に対応するために、DDBJにおけるデータ処理の中核となるデータの獲得・蓄積・検索システムの機能向上を計った。すなわち、「オブジェクト指向の概念に基づいて設計され、application layer, database access layer および database client layer の3層構造を持つ」データ処理の中核システム YAMATOII の機能向上を図った。また、「インターネット上のアプリケーションとして近年爆発的に普及した World Wide Web (WWW) の機能を生かして整備した」データ獲得のためのツール SAKURA を一般に公開した。SAKURA によってデータを DDBJ に登録する側の負担が大幅に軽減されると共に、DDBJ 側における一次的データ評価作業も大幅に軽減された。現在、50% 以上のデータが SAKURA 経由で登録されている。これらの成果は、(1)-6 と (3)-9 に発表した。

(2) WDCM におけるデータ処理システムの研究開発

WDCM は、World Federation for Culture Collections (WFCC) における「微生物、培養細胞、ウイルスなどいわゆる培養可能な株やその産物(例 抗体)に関するデータセンター」である。1996年8月末にWFCC理事会においてWDCMを理化学研究所から1997年4月1日から公式に当所においてWDCM事業を行うことが認められ、当所もそれに応えることとなった。そこで、予備的にWDCMの機能向上を計った。

・エージェントの概念に基づいた情報探索システムの研究開発: 宮崎 智, 一柳芳浩¹, 志村純子², 中瀬 崇² (¹メイテック, ²理化学研究所)

最近では、インターネット上に分散している情報提供サイトへの案内機能を提供するディレクトリーサービスが増えている。しかし、WWWによって、容易にかつ少ない経費で情報を世界中に発信することが可能になったため、多様な仕様の情報源が増え続けているために、むしろ、信頼性が高いサイトを見つけだし、かつそこから有用な情報を引き出すことはますます困難になってきている。

そこで、WDCMとして、バクテリア、菌類ならびに培養細胞について、有用な情報提供源を選択し、socketを利用したそれらに対して一括検索が可能なシステムを試作した。入手可能なデータは、維持機関の機関情報、カタログ情報、一部の株については表現形質のデータならびに塩基配列データである。今後、このシステムは次項の「生物群認識支援システム」のモジュールとして機能することが期待される。以上の結果を(1)-4, (3)-1, (3)-2, (3)-6, (3)-8 に発表した。

・広帯域ネットワークの高度利用: 菅原秀明, 宮崎 智

G7 GIBNプロジェクトに協力し、ミシガン州立大学の微生物生態研究センターとの間で、微生物分類に関する virtual laboratory の実験を行い、広帯域ネットワークの研究利用への可能性を示した。

・EPITOPE データベースの構築: Ling L¹, 志村純子², 菅原秀明, 次田 皓 (¹東京理科大学, ²理化学研究所)

WDCMの対象材料である抗体についてその fine specificity に関する研究に資 PIR-international, DDBJ/EMBL/GenBank および Hybdridoma Data Bank へのリンクを持った「抗原上にあり配列が決定されたエピトープ」のデータベースを試作した。以上の

結果を(1)-3に発表した。

・HLDA データベースの構築：菊谷 仁¹，菅原秀明，宮崎 智，大野忠夫²，西條 薫²
(¹大阪大学，²理化学研究所)

第6回国際 Human Leucocyte Differentiation Antigens ワークショップで評価の対象となった新規な抗体 333 件の評価を目的として、試料の反応性を統計処理した上でクラスター分析をする機能と種々の検索が可能なシステムを構築し、新たな CD 番号の決定に寄与した。また、同システムを Web によって公開した。以上の結果は、1997 年に出版される予定である。

(3) 生物オブジェクトの分類・同定手法の研究開発

生物多様性の研究には分類学が重要な役割を果たす。現代の分類学は、伝統的な表現形式に基づいた分類と、分子データに基づいた進化系統分類とを、統合して解釈する方向に向かっている。したがって、多様なデータについて多相分析 (polyphasic analysis) を加えることが求められている。さらに、伝統的な分類手法の再評価が求められるとともに、進化系統分類の手法についても信頼性の高い手法が常に求められている。そこで、前者については、生物群認識支援システムの試作を進め、後者については、進化系統解析の為の新しい測度の提案と大規模データへの対応を試みた。

・生物群認識支援システムの構築：菅原秀明，宮崎 智，志村純子¹，増田佳弘²，石飛康浩² (¹理化学研究所，²Xerox)

多様なデータを柔軟に追加変更できるデータベースを中核として同定と分類の機能を付加した。新規生物の同定支援ツールとして、陽性率表に基づく確率的同定手法によるものと決定木に基づく同定プログラムを平行して利用可能とした。このために必要な陽性率表と決定木はデータベースに蓄積されたデータから自動生成されるが、ユーザが独自の観点からカスタマイズすることもできる。また、生データの一覧表示や追加測定項目の示唆などの付随情報を見る機能も備えている。分類支援ツールとしては、生化学的なデータによるクラスター分析、数量化 III 類を応用した 3D 分布図の作成、DNA 配列データによる進化系統樹の推定が、平行して利用可能である。すなわち、同一の生物群に対して、デンドログラム、分布図ならびに進化系統樹を分布図を連動させて比較検討できる。これによってユーザは、生物群をの階層体系を構築していく際により統合的な解釈を取り入れることができる。以上の結果は、(1)-2, (3)-1, (3)-5, (3)-7, (3)-8 で発表した。

・相同性モデリングによる蛋白質の立体構造予測：志村純子¹，宮崎 智，菅原秀明，広瀬幸子²，白井俊一²

自己免疫疾患由来のモノクローナル抗体の親和性データと配列データの相関を明らかにするために、進化系統解析の手法によって各クローンの関係を明らかにするとともに、アミノ酸配列データから相同性モデリングによってその立体構造予測を試みた。その結果、親和性が特定のアミノ酸に支配されているなどの従来の仮説と異なり、立体構造の動的な振る舞いこそが親和性を支配するという結論を得た。以上の成果を(1)-1に発表した。

・エントロピー進化率の考案：宮崎 智，菅原秀明，大矢雅則¹（¹東京理科大学）

遺伝子配列から分子進化を論じたり，遺伝子配列の分類を考える上で，遺伝子配列データから進化系統樹を推定することが一般的である。しかしながら，既存の手法では，同じデータセットを用いても系統樹作成法と遺伝距離の組み合わせが異なれば，必ずしも同一の系統樹が得られる保証がない。また，一定の結果を効率良く得るためには各手法で導入されている多くのパラメータの意味を理解し，適当な値を決めなければならないため主観的な結果を導きやすい等の問題が示唆されている。こうして，より正確な系統樹を得ようとするとき，できるだけ多くの可能性を考慮するため計算時間が膨大となる手法を選ぶか短時間で一応の結果は得るがパラメータに与えた値に大きく影響される恐れがある手法を選択せざるを得ない。これらの問題を克服するためには，計算過程が単純化されており，客観的かつ生物学的な現象をうまく説明できる遺伝学的差異の開発が重要である。そこで我々は，情報理論的な立場から導入されたが，計算過程の単純化とともにできるだけ一定の結果を得ることが期待できる遺伝学的差異（エントロピー進化率）について，DNA 配列データに適応したとき信頼性について考察した。信頼性の測度として，あらかじめ系統関係がわかっている DNA 配列を人為的に作成し，これらのデータをもとに繰り返しコンピュータ上で進化系統樹の作成シミュレーションを実行した時，本来の系統関係が復元される割合を用いた。その結果，エントロピー進化率の利点として，従来の方法に共通の結果として，祖先配列からの相対的な置換の割合が，0.5 を越えるようなものがあると，正しい系統樹が得られなくなる傾向が観測されたが，エントロピー進化率を用いたものは，0.5 を越えるような，変異を含む場合でも，従来の方法に比べて，かなり高い復元性を示すことが特徴付けられた。このエントロピー進化率のもととなっている確率論的エントロピー関数（シャノンエントロピーや相互エントロピー等）は，対象が大量かつカオス的であればあるほど正確にその対象を比較する特徴がある。生物工学の技術の進歩により，今日産出される大規模かつ大量の配列データの特徴付けに，こうした関数からなる測度を考案していくこと大切であると思われる。以上の成果を (1)-7 に発表した。

・大規模進化系統樹作成手法の研究：菅原秀明，宮崎 智

進化モデルに基づいて系統樹の統計的に評価することが可能であるなどの特徴をもった最尤法は，進化系統分析への利用が期待されている。しかし，膨大な計算を要するためにごく少数のサンプルについて試験的に適用されるにとどまっていた。そこで，1996 年から当所に導入されたベクトルパラレルコンピュータを活用して，最尤法によって，数百を超える多数のサンプルを対象とする大規模な進化系統樹の作成に着手した。予備的実験によって，計算時間が使用するプロセッサ数に反比例して短縮されることを確認し，最尤法による大規模進化系統樹構築の可能性を見いだした。以上の成果を (1)-5 に発表した。

研究業績

(1) 原著論文

1. 志村純子，宮崎 智，菅原秀明，広瀬幸子，白井俊一：自己免疫動物モデルにおけ

- る免疫グロブリン遺伝子の変化と親和性成熟, 炎症と免疫, 4, pp. 26-32, 1996.
2. Sugawara H., Shimura J., Miyazaki S., Masuda Y. and Ishitobi Y.: Application of a New Data Model and Visualization to Systematics, In *BIOCOMPUTING- Proceeding of the 1996 Pacific Symposium* (eds. Lawrence Hunter & Teri E. Klein), pp. 746-747, World Scientific, Singapore, 1996.
 3. Ling L., Shimura J., Sugawara H. and Tsugita A.: Epitope data bank, *The Information Revolution: Impact on Science and Technology* (eds) Dubois, J. -E. and Gershon, E., pp. 249, Springer, Berlin, 1996.
 4. 宮崎 智, 一柳芳浩, 志村純子, 中瀬 崇, 菅原秀明: Agent for Hunting Microbial Information on INTERNET (AHMII) の試作, *Microbiology and Culture Collections*, 12, pp. 47-47, 1996.
 5. Miyazaki S. and Sugawara H.: The construction of phylogenetic tree from the large scale data of gene sequences, In *High Performance Computing in RIKEN 1996* (Ebisuzaki, T. ed.), 1, pp. 209, Universal Academy Press, Japan, 1996.
 6. Koike T., Okayama T., Ishii J., Mizunuma T., Tamura T., Tateno Y., Sugawara H., Nishikawa K., Imanishi T., Fukami-Kobayashi K., Ikee K. and Gojobori T.: Development of New DDBJ DNA Sequence Database with Data Annotation Tool Yamato II, *Genome Informatics 1996, Proceedings of the Seventh Workshop on Genome Informatics*, (eds.) Akutu, T. *et al.*, pp. 157-165, Universal Academy Press, Japan, 1996.
 7. Miyazaki S., Sugawara H. and Ohya M.: The efficiency of entropy evolution rate for construction of phylogenetic trees, *Genes Genet. Syst.*, 71, pp. 323-327, 1996.
- (2) その他
1. 菅原秀明: 国際 DNA データバンクの現状と将来, 第 4 回生命情報科学セミナー, 東京, 10 月.
 2. Sugawara H. (a contributor): The resource base for biodiversity assessment, *Global Biodiversity Assessment*, (Executive Editor) V. H. Heywood, pp. 545-605, Cambridge University Press, New York, 1996.
 3. 菅原秀明: インターネットと科学情報, *日本農薬学会誌*, 21, pp. 105-110, 1996.
 4. 額田恭郎, 皿井明倫, 菅原秀明: 生命科学における高度計算科学技術, *RIST ニュース*, No. 21, pp. 2-10, 1996.
 5. 菅原秀明: 情報環境としてのインターネットーバイオ分野一, *化学工業*, 47, pp. 716-725, 1996.
 6. 宮崎 智, 菅原秀明: 酵母の生物情報資源の統合化, IGE シリーズ「遺伝生態情報の可能性」, 東北大学遺伝生態研究センター (仙台), pp. 33-48, 1996.

(3) 発表講演

1. Sugawara H.: Information-base, Networks and Biodiversity, OECD Megascience Forum Working Group on Biological Information, Washington DC, June.
2. Sugawara H.: Information Environment for Biology and Biotechnology, UK-Japan High Technology Industry Forum, Oxford, UK, June.
3. 菅原秀明: 酵母研究をめぐる情報環境, 第12回酵母合同シンポジウム「ポストシーケンス時代の酵母研究」, 広島, 5月.
4. Sugawara H.: Bioinformatics meets biodiversity, International Symposium on Network and Evolution of Molecular Information, Tokyo, April.
5. Miyazaki S., Shimura J. and Sugawara H.: A polyphasic approach to microbial systematics in the age of biodiversity, 15th International CODATA Conference, Tsukuba, October.
6. Sugawara H.: WFCC-MIRCEN World Data Centre for Microorganisms (WDCM), 15th International CODATA Conference, Tsukuba, October.
7. 菅原秀明: 微生物データベースと利用システム, 農業技術, 51, pp. 28-32, 1996.
8. Sugawara H.: WDCM and worldwide information, Eighth International congress for culture collections, Veldhoven, The Netherlands, August 1996.
9. Yamamoto H., Tamura T., Isono K., Gojobori T., Sugawara H., Nishikawa K., Saitou N., Imahishi T., Fukami-Kobayashi K., Ikeo K. and Tateno Y.: SAKURA: A new data submission system of DDBJ to meet users' needs in the age of mass production of DNA sequences, Genome Informatics 1996, Tokyo, December 1996.

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、枯草菌を用いて遺伝子の発現制御と細胞分化について研究を行っている。当センターの研究活動は以下の通り。

(1) 枯草菌孢子形成遺伝子の発現制御に関する研究 (藤田, 定家)

(a) 孢子形成遺伝子の転写制御に関する研究: 藤田, 定家: 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。本研究では、孢子形成初期過程に注目し、孢子形成開始にかかわるRNAポリメラーゼ、 $E\sigma^A$ 、 $E\sigma^H$ の*in vitro*転写反応系に転写因子Spo0A及びAbrBを添加し、種々遺伝子プロモーターの転写強度、及び転写因子の影響を調べることによって発現ネットワークの解明を試みた。その結果、Spo0A蛋白質は濃度依存的に*spo0A*、*kinC*、*abrB*、*kinA*各遺伝子の転写を抑制した。さらに、Spo0A蛋白質が低濃度(0.1 mM)の場合、*spo0F*遺伝子の転写は活性化され、高濃度(0.2 mM)の場合抑制されることが明らかになった。さらにAbrB蛋白質は*abrB*、*sigH*、

kinC 各遺伝子の転写を抑制した。以上の結果をもとに孢子形成初期遺伝子群のフィードバック転写制御モデルを提出した。

一方、孢子形成に伴う σ^A , σ^H のコア RNA ポリメラーゼ上での置換反応機構について *in vitro* 転写反応系を用いて解析した結果、コア酵素に対する σ^H の結合親和性は σ^A に比べて弱かった。両者の細胞内モル比は $\sigma^A : \sigma^H = 100 : 1$ なのでこの時期の σ^H -RNA ポリメラーゼへの変換は未知の因子により制御されている可能性が示唆された。

(b) RNA ポリメラーゼと相互作用する因子の検索 (藤田, 定家): 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, SpoIIID 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 σ^H 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、 σ^A , σ^B , σ^F , σ^H , σ^K 及び β' サブユニットの C 末端にヒスチジン 2 残基を導入した遺伝子をそれぞれ単独で枯草菌染色体上に導入した。各株を培養し細胞粗抽出液をニッケルイオンアフィニティー樹脂 (Ni^{2+} -NTA) と混合、洗浄、イミダゾールを含む緩衝液で溶出することによって各々のサブユニットおよびそれらと一緒に溶出される蛋白質を分離した。これらのうち、孢子形成後期細胞から調製した β' サブユニットと共に溶出された蛋白質についてはアミノ末端アミノ酸配列を決定した。データベースとの比較からこの蛋白質は新規なものであることがわかった。

(2) 枯草菌ゲノム解析: 定家, 谷田, 藤田

日欧共同ゲノムプロジェクトに参加して枯草菌ゲノム *phoB-gutR* 領域の塩基配列を決定し、ORF および RNA 遺伝子を解析した。代表的な遺伝子は *phoB/rrnE/groESL/gutR* であったが、8つの遺伝子からなるマンナンオペロン、2つの新しい tRNA 遺伝子、高分子物質分解に関わるオペロン、薬剤耐性遺伝子、ABC トランスポーター遺伝子などが見出されたが多くの遺伝子は機能不明である。さらに *groESL* と *gutR* の間の領域は遺伝子のまばらな領域であり、GC 含有量も低く遺伝子開始コドンも ATG に比べ GTG と TTG が多く見られる。この領域には DNA の修飾/制限遺伝子が対で存在する。外来性のゲノム断片であろうか。一部は奈良先端大学院大学小笠原直毅教授との共同研究。この研究は 2 編の論文として発表される。

研究業績

(1) 原著論文

- Asai K., Kawamura F., Sadaie Y. and Takahashi H.: Isolation and characterization of a sporulation initiation mutation in the *Bacillus subtilis secA* gene. J. Bacteriol., in press.

(2) 発表講演

- 藤田昌也, 定家義人: 枯草菌孢子形成開始に特異的な RNA ポリメラーゼ $\text{E}\sigma^H$ の機

- 能解析. 第19回日本分子生物学会年会, 第69回日本生化学会大会, 合同年会, 札幌, 8月.
2. Fujita M. and Sadaie Y.: The sporulation initiation sigma factor, σ^H of *Bacillus subtilis*. The 4th Asian conference on Transcription, Hayama, Kanagawa, April.
 3. Fujita M. and Sadaie Y.: Overproduction, purification, and characterization of the sporulation initiation sigma factor σ^H of *Bacillus subtilis*. 12th International spore conference, Madison, Wisconsin, June.
 4. 藤田昌也, 定家義人: 枯草菌孢子形成開始の *in vitro* 転写系. 第68回日本遺伝学会大会, 名古屋, 10月.
 5. Sadaie Y., Yata K., Fujita M. and Ogasawara N. The nucleotide sequence of the *phoB-rrnE* region of *Bacillus subtilis* chromosome. 12th International spore conference, Madison, Wisconsin, June.

J. 実験圃場

実験圃場は、植物関連研究および保存配布事業のための材料の栽培・管理を行い、これに必要な圃場、水田、温室の保守管理に携わる任務およびこれに必要な研究活動の任務を負っている。また、系統保存事業に必要な業務を行い、野生イネ、サクラ、アサガオなどを維持管理している。本年、実験圃場長は遺伝育種研究部門の森島（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当たった。

本年10月から、長年空席であった実験圃場の助手の席に野々村賢一が赴任し、上記の業務管理に当たると共に、今後の遺伝研における植物保存事業のありかたについての検討を行うこととなった。この流れの一環として、野々村助手は植物保存研究室の研究グループに加わり、植物資源としての新たな研究素材の開発、利用の研究に取り組むこととなった。内容の詳細については植物保存研究室の研究紹介を参照されたい。

研究業績

(1) 発表講演

1. 野々村賢一, 丹下喜恵, 丹羽修身: 分裂酵母の温度感受性突然変異 *tsh1* の解析, 第68回遺伝学会, 名古屋, 10月.

IV. 海外における活動

氏名	内容	渡航先	期間
石浜 明	「放線菌 RNA ポリメラーゼの構造」に関する日韓共同研究連絡会議出席	大韓民国	8. 1. 3~ 8. 1. 7
藤田 信之	「放線菌 RNA ポリメラーゼの構造」に関する日韓共同研究連絡会議出席	大韓民国	8. 1. 3~ 8. 1. 6
小川 智子	アムステルダム大学において真核生物の遺伝的組換えシステムの研究に関する打合せおよび資料収集	オランダ	8. 1. 6~ 8. 1. 15
嶋本 伸雄	ゴードン研究会議に出席・発表並びにオクラホマ大学等において講演及び研究連絡	アメリカ合衆国	8. 1. 13~ 8. 1. 27
森島 啓子	熱帯における野生及び栽培稲の伝播及び集団の動態に関する研究	タイ	8. 1. 14~ 8. 1. 22
菅原 秀明	微生物の分子分類に関する研究	タイ	8. 2. 12~ 8. 2. 18
五條 堀 孝	韓国におけるデータベース利用の調査研究	大韓民国	8. 3. 1~ 8. 3. 3
館野 義男	韓国におけるデータベース利用の調査研究	大韓民国	8. 3. 1~ 8. 3. 3
藤山 秋佐夫	「日仏ゲノム共同研究」第2回合同会議に出席・講演及びフランス科学研究庁等において研究打合せ	フランス	8. 3. 4~ 8. 3. 9
小原 雄治	「日仏ゲノム共同研究」第2回合同会議に出席・講演及び GENSET 研究所において研究打合せ	フランス	8. 3. 6~ 8. 3. 9
五條 堀 孝	ゲノム/プロテオーム研究と生物情報学に関するシンポジウムにおいて講演及び情報収集	オーストラリア	8. 3. 7~ 8. 3. 12
斎藤 成也	台湾における DNA データベース利用の調査研究	台湾	8. 3. 10~ 8. 3. 13
池尾 一穂	台湾における DNA データベース利用の調査研究	台湾	8. 3. 10~ 8. 3. 13
藤田 信之	ノッティンガム大学において RNA ポリメラーゼの分子解剖に関する共同研究	連合王国	8. 3. 10~ 8. 3. 16
藤山 秋佐夫	ヒトゲノムマッピング国際会議に出席・発表及び情報収集	ドイツ	8. 3. 21~ 8. 3. 26
小原 雄治	ヒトゲノムマッピング国際会議に出席・発表及び情報収集	ドイツ	8. 3. 22~ 8. 3. 26
斎藤 成也	中国における DNA データベース利用の調査研究	中華人民共和国	8. 3. 25~ 8. 3. 29
池尾 一穂	中国における DNA データベース利用の調査研究	中華人民共和国	8. 3. 25~ 8. 3. 29

氏名	内容	渡航先	期間
林 茂生	第37回ショウジョウバエ研究会出席・発表及びコロラド大学において研究打合せ	アメリカ合衆国	8. 4. 23～ 8. 5. 3
上田 均	第37回ショウジョウバエ研究会出席	アメリカ合衆国	8. 4. 25～ 8. 5. 2
後藤 聡	第37回ショウジョウバエ研究会出席・発表及びカリフォルニア大学において研究打合せ	アメリカ合衆国	8. 4. 26～ 8. 5. 5
石浜 明	「インフルエンザの制御」に関する国際会議における講演及び研究打合せ	オーストラリア	8. 5. 3～ 8. 5. 10
藤山秋佐夫	ゲノム解析に関する研究会出席・発表及びゲノムデータベース国際委員会出席	アメリカ合衆国	8. 5. 8～ 8. 5. 16
伊奈康夫	ペンシルヴェニア州立大学において進化距離の統計学的特性と系統樹作成の効率に関する研究	アメリカ合衆国	8. 5. 8～ 8. 12. 27
山尾文明	細胞周期に関する研究会出席・発表及びエール大学において研究打合せ	アメリカ合衆国	8. 5. 15～ 8. 5. 22
清野浩明	細胞周期に関する研究会出席・発表及びエール大学等において研究打合せ	アメリカ合衆国	8. 5. 15～ 8. 5. 25
小川智子	EMBO ワークショップ「遺伝的組換え」及びヒューマンフロンティアプロジェクト組換え開始機構に関する会議に出席・発表並びに研究打合せ	フランス	8. 5. 18～ 8. 5. 30
石浜 明	シンポジウム「RNA複製機構」に出席・講演及び細胞生物物理学研究所において研究交流	ロシア イタリア	8. 5. 23～ 8. 6. 1
池尾一穂	ホメオボックスの分子進化からみた発生過程の進化に関する研究	スイス	8. 6. 1～ 9. 5. 31
藤田昌也	第12回国際胞子会議出席・発表	アメリカ合衆国	8. 6. 3～ 8. 6. 11
定家義人	第12回国際胞子会議出席・発表	アメリカ合衆国	8. 6. 3～ 8. 6. 10
菅原秀明	OECD メガサイエンスフォーラム・バイオインフォマティクスWG及び日英ハイテクノロジー・インダストリー・フォーラム出席	アメリカ合衆国 連合王国	8. 6. 5～ 8. 6. 14
小川智子	ゴードンリサーチ会議「減数分裂」に出席・発表及びカリフォルニア大学等において研究交流	アメリカ合衆国	8. 6. 6～ 8. 6. 17
斎藤成也	第4回分子生物学と進化学会に出席・発表及びピッツバーグ大学等において研究連絡	アメリカ合衆国	8. 6. 6～ 8. 6. 16
村上昭雄	蚕糸昆虫研究所等において昆虫における神経内分泌系の機能と加齢（成長・成熟・老化）についての研究連絡	大韓民国	8. 6. 26～ 8. 7. 3
堀内賢介	ロックフェラー大学において大腸菌繊維状ファージに関する共同研究	アメリカ合衆国	8. 7. 3～ 8. 7. 19

氏名	内容	渡航先	期間
林 茂生	EMBO 国際ワークショップにて講演並びに ICRF 研究所及びケンブリッジ大学においてセミナー・意見交換	ギリシヤ 連 合 王 国	8. 7.12~ 8. 7.25
清 水 裕	カンサス大学及びカリフォルニア大学アーバイン校においてヒドラメリグリアの頭部再生過程における、消失・再生の機構等について研究連絡	アメリカ合衆国	8. 7.15~ 8. 8. 4
賣 来 聰	マヒドン大学等においてタイにおける人類遺伝学の研究	タ イ	8. 7.21~ 8. 7.28
嶋本伸雄	ゴードン研究会議「生体分子認識と固定化」において出席・発表及び技術交流並びにウイスコンシン大学において講演	アメリカ合衆国	8. 8. 1~ 8. 8.12
西 川 建	欧州生命情報研究所及びアムステルダム大学において蛋白構造データベース構築利用調査研究	連 合 王 国 オ ラ ン ダ	8. 8. 7~ 8. 8.16
斎藤成也	ブタペスト高等研究所及びハンブルグ大学において DNA データベース関連データベース利用の調査研究	ハ ン ガ リ ー ド イ ツ	8. 8.14~ 8. 8.25
五條堀 孝	第 5 回国際系統進化生物会議出席	ハ ン ガ リ ー	8. 8.16~ 8. 8.22
賣 来 聰	ネアンデルタール人とプロトクロマニオン：その系統に関する先史人類学的調査	ト ル コ シ リ ア	8. 8.20~ 8. 8.27
菅原秀明	第 8 回国際微生物培養保存会議出席・発表	オ ラ ン ダ	8. 8.24~ 8. 8.31
賣 来 聰	南米先住民族及び同地域のミイラのミトコンドリア DNA の検索	ペ ル ー チ リ	8. 9. 1~ 8. 9.16
小林 薫	NCBI において DNA データベース関連データベースの調査研究	アメリカ合衆国	8. 9. 1~ 8. 9.15
菅原秀明	OECD メガサイエンスフォーラム出席	アメリカ合衆国	8. 9. 8~ 8. 9.12
村上昭雄	ブルガリア国立蚕糸試験場 100 周年記念及び国際蚕糸会議において講演	ブルガリア	8. 9.13~ 8. 9.22
五條堀 孝	EBI, パスツール研究所において生命情報学データベースの構築に関する調査研究	フ ラ ン ス 連 合 王 国	8. 9.18~ 8. 9.25
森島啓子	生物科学日韓合同セミナー出席・講演及び嶺南大学において研究連絡	大 韓 民 国	8.10. 3~ 8.10.11
出原賢治	国際サイトカイン学会及び国際インターフェロンサイトカイン研究学会合同会議出席・発表並びにオックスフォード大学で共同研究打合せ	ス イ ス 連 合 王 国	8.10. 5~ 8.10.19
城石俊彦	第 10 回国際マウスゲノム会議に出席・発表及び GSF 哺乳動物研究所において研究連絡	フ ラ ン ス ド イ ツ	8.10. 6~ 8.10.17
小 出 剛	第 10 回国際マウスゲノム会議に出席・発表	フ ラ ン ス	8.10. 6~ 8.10.13
今 村 孝	第 4 回 18 番染色体国際ワークショップ出席及びハーバード大学において研究連絡	アメリカ合衆国	8.10. 6~ 8.10.16

氏名	内容	渡航先	期間
広海 健	プリンストン大学においてショウジョウバエ神経発生の遺伝学的研究	アメリカ合衆国	8.10.12～ 9.1.14
才 宏 偉	中国におけるイネ遺伝資源の調査研究及び北京農業大学において中国原産の野生イネについて助言を口授	中華人民共和国	8.10.17～ 8.11.10
菅原 秀明	ミシガン州立大学において生物の分類同定支援などにおけるインターネットの高度利用に関する調査研究	アメリカ合衆国	8.10.20～ 8.10.26
宮崎 智	ミシガン州立大学において生物の分類同定支援などにおけるインターネットの高度利用に関する調査研究	アメリカ合衆国	8.10.20～ 8.10.26
森島 啓子	中国におけるイネ遺伝資源の調査研究	中華人民共和国	8.10.27～ 8.11.7
五條堀 孝	ソウル大学においてデータベース構築に関する調査研究	大韓民国	8.11.13～ 8.11.15
今西 規	ソウル大学においてデータベース構築に関する調査研究	大韓民国	8.11.13～ 8.11.15
館野 義男	EBI並びにワイズマン研究所においてDNA データベース及びタンパク質データベース等に関する調査研究	連 合 王 国 イスラエル	8.11.15～ 8.11.22
藤山秋佐夫	日仏共同研究について協議及びゲノム大規模解析について意見交換	フ ラ ン ス	8.11.17～ 8.11.24
五條堀 孝	アムステルダム大学においてHIVの進化に関する研究打合せ	オ ラ ン ダ	8.11.22～ 8.11.27
森島 啓子	国際稲研究所のプロジェクトに対する評価と助言及び野生イネの進化についての研究打合せ	フ ィ リ ピ ン	8.11.24～ 8.11.29
堀内 賢介	ロックフェラー大学において大腸菌繊維状ファージに関する共同研究	アメリカ合衆国	8.11.27～ 8.12.5
菅原 秀明	ミシガン州立大学において広帯域ネットワークを利用した分子分類の研究	アメリカ合衆国	8.12.2～ 8.12.8
藤山秋佐夫	マサチューセッツ工科大学等においてヒトゲノム研究の現状調査と打合せ	連 合 王 国 アメリカ合衆国	8.12.7～ 8.12.15
太田 元規	第2回蛋白質構造予測コンテストにおいて3D-1D法のプログラムを発表及びカリフォルニア大学サンフランシスコ校、バークリー校において研究打合せ	アメリカ合衆国	8.12.10～ 8.12.20
清水 裕	カリフォルニア大学においてヒドラ頭部再生過程で発現するホメオボックス遺伝子の探索に関する研究連絡	アメリカ合衆国	8.12.31～ 9.1.25

V. ほかの機関における講義

氏名	機関名	期間	担当科目
石濱 明	久留米大学	8. 4. 1~9. 3. 31	ウイルス学
沖野 啓子	岐阜大学農学部	8. 4. 1~8. 9. 30	生態遺伝学
原田 朋子	名古屋大学理学部	8. 4. 1~9. 3. 31	生命理学徳論 3
中辻 憲夫	鳥取大学医学部	8. 4. 8~9. 3. 31	細胞工学
小川 智子	東京大学分子細胞生物学研究所	8. 4. 1~8. 9. 30	染色体の組換えに関する研究指導
桂 勲	大阪大学理学部	8. 10. 1~9. 3. 31	線虫の発生遺伝学
中辻 憲夫	名古屋大学農学部	8. 4. 1~9. 3. 31	畜産学特別講義
齊藤 成也	北海道大学理学部	8. 4. 1~9. 3. 31	特別講義 I
白木原康雄	東京大学大学院理学系研究科	8. 4. 1~8. 9. 30	物理学特別講義 XXIV
林 茂生	お茶の水女子大学	8. 4. 1~8. 9. 30	生物学特別講義
齊藤 成也	秋田大学大学院医学研究科	8. 4. 1~9. 3. 31	微生物学
桂 勲	京都大学医学部	8. 4. 1~9. 3. 31	C 発生学・遺伝学
五條堀 孝	九州大学医学部	8. 4. 1~9. 3. 31	生命基礎医学群 (遺伝学)
今村 孝	東京医科歯科大学	8. 4. 1~9. 3. 31	人類遺伝学
今村 孝	浜松医科大学	8. 4. 1~9. 3. 31	人類遺伝学
定家 義人	浜松医科大学	8. 4. 1~9. 3. 31	放射線医学
齊藤 成也	東京大学教養学部	8. 10. 1~9. 3. 31	システム科学特別講義 I
嶋本 伸雄	静岡大学大学院理学研究科	8. 7. 1~8. 7. 31	化学特別講義
林 茂生	お茶の水女子大学	8. 10. 1~9. 3. 31	総合コース 「科学のフロンティア」
五條堀 孝	東京工業大学	8. 10. 1~9. 3. 31	生体機構学特別講義 第二
齊藤 成也	東京大学理学部	8. 10. 1~9. 3. 31	分子進化学
白木原康雄	兵庫教育大学	8. 11. 1~8. 11. 30	物理学特論 V

VI. 共同研究事業

A. 共同研究

- (1) インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの機能部位の決定
豊田哲也 (久留米大学医学部)
- (2) 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
田中 寛 (東京大学分子細胞生物学研究所)
- (3) 放線菌 RNA ポリメラーゼの構造及び機能の解析
新川英典 (広島大学工学部)
- (4) OxyR 蛋白による酸化ストレス感知とシグナル伝達の分子機構
埜和之 (東京大学アイソトープ総合センター)
- (5) 定常期における大腸菌の加齢現象の研究
和田 明 (京都大学大学院理学研究科)
- (6) Q β ファージ RNA レプリカーゼ宿主因子 (HF-1) の RNA 複製における機能解析
梶谷正行 (帝京大学理工学部)
- (7) DNA 複製期細胞核微構造形成に関与するタンパク質の研究
矢倉達夫 (関西学院大学理学部)
- (8) 新規ヒトユビキチン結合酵素の機能解析
岡野幸雄 (岐阜大学医学部)
- (9) 相同組換え反応に関わ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)
- (10) 複製開始領域における DNA-蛋白質複合体の視覚化
廣川秀夫 (上智大学理工学部)
- (11) DNA 複製開始における DNA ルーピング及び DNA ベンディングの機能
犬塚 學 (福井医科大学医学部)
- (12) イソプレノイドの「原核生物型」生合成経路の解明
藤崎真吾 (東邦大学理学部)
- (13) 大腸菌細胞分裂阻害蛋白質 SulA の生体内分解機構における FtsH プロテアーゼの役割
小椋 光 (熊本大学医学部)
- (14) DNA から見たサングの系統分類
大森 信 (東京水産大学)
- (15) 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

宗岡洋二郎（広島大学総合科学部）

- (16) 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）
- (17) *in vivo* を反映したクロマチン再構築系における転写のメカニズムの解明
梅澤明弘（慶應義塾大学医学部）
- (18) MAR・DNA 超らせんによるウニ胚遺伝子発現調節に関する研究
赤坂甲治（広島大学理学部）
- (19) LCR 結合因子 BCH ファミリーの試験管内転写系を用いた機能解析
五十嵐和彦（筑波大学基礎医学系）
- (20) カイコの転写因子 FTZ-F1 とそのメディエーター MBF1 との相互作用についての構造学的研究
白川昌宏（奈良先端科学技術大学院大学）
- (21) 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
岩淵喜久雄（東京農工大学農学部）
- (22) 家蚕における新機能遺伝子の探索
藤井 博（九州大学農学部）
- (23) 形態形成と生理学的適応の遺伝的關係
高田啓介（信州大学理学部）
- (24) 分子進化のほぼ中立モデルに関する理論的研究
館田英典（九州大学理学部）
- (25) ポリオウイルスの分子進化
吉田 弘（国立予防衛生研究所）
- (26) DNA における一次構造と高次の折り畳み構造の相関に関する研究
吉川研一（名古屋大学大学院人間情報学研究科）
- (27) 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）
- (28) 高等植物クロマチン構造と染色体 GC 含有分布との関係の解析
三田和英（放射線医学総合研究所）
- (29) 高等植物の 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）
- (30) CAP と IRES 競合翻訳系の特性評価
小島英理（東京工業大学生命理工学部）
- (31) 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）
- (32) 種の分化と遺伝子の分化に関する数理解析
植田信太郎（東京大学大学院理学研究科）

- (33) 造血幹細胞の増殖及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) 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（九州大学医学部付属病院）
- (35) 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）
- (36) ヒト染色体 DNA の 2 次元電気泳動法による解析
松原謙一（大阪大学細胞生体工学センター）
- (37) 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（新潟大学医学部付属病院）
- (38) 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
住本英樹（九州大学医学部）
- (39) イネ属植物の種分化に関する研究—特にバンコックの深水地帯に分布する変異集団
について
阿部 純（北海道大学農学部）
- (40) ミトコンドリアゲノムから見たイネ属植物の進化遺伝学的研究
阿部利徳（山形大学農学部）
- (41) 植物集団に発達する遺伝構造の理論的及び実験的解析
米澤勝衛（京都産業大学工学部）
- (42) 細胞核内の染色体配置を決定するゲノム構造及び機能上の要因解析
倉田のり（農業生物資源研究所）
- (43) 分子遺伝学的手法によるイネ科植物の進化の解析
平井篤志（東京大学農学部）
- (44) 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）
- (45) 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）
- (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（(財) 実験動物中央研究所）
- (47) 中国産野生マウス集団中に発見された補体系蛋白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）
- (48) インスリン依存性糖尿病 (IDDM) の発症に関与する遺伝子の研究
前田正人（社会保険三島病院）
- (49) 歯胚の形態分化期の異常の一つである桶状根発見メカニズムに対する分子遺伝学的
アプローチ

朝田芳信（日本大学松戸歯学部）

- (50) 野生マウス由来の新しい系統において保持されている腫瘍抵抗性宿主遺伝子の遺伝学的解析
宮下信泉（香川医科大学）
- (51) アジア産野生マウス遺伝的分化と地理的分布の解析
山口泰典（福山大学工学部）
- (52) Jackson shaker (*js*) 及び Tail short (*Ts*) 遺伝子のポジショナルクローニング
米川博通（（財）東京都臨床医学総合研究所）
- (53) マウスの卵巣性テラトーマ形成におけるゲノムインプリンティング
野口基子（静岡大学理学部）
- (54) 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）
- (55) 植物の受精過程における情報伝達機構の解明
渡辺正夫（東北大学農学部）
- (56) 部位特異的組換え系と改変型 GFP を利用したイネ発生過程の解析
丹羽康夫（静岡県立大学）
- (57) 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）
- (58) 大腸菌の細胞分裂における Glycy-tRNA 合成酵素の役割
山田優子（自治医科大学）
- (59) 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）
- (60) コムギ類遺伝解析系統の保存とそのネットワーク構築に関する共同研究
西川浩三（木原記念横浜生命科学振興財団）
- (61) 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及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）
- (62) 細胞移植法を用いた哺乳動物中枢神経系の発生機構の解析
中福雅人（奈良先端科学技術大学院大学）
- (63) 中枢神経系ニューロンの移動に関する研究
永田 功（（財）東京都神経科学総合研究所）
- (64) ヒスタミン合成酵素・L-histidine decarboxylase 欠損マウスの作製
十川紀夫（岡山大学歯学部）
- (65) レーザー切断 DNA を用いたシーケンシングに関する研究
鷲津正夫（成蹊大学工学部）
- (66) 生体高分子間相互作用の構造生物学的研究
三木邦夫（京都大学大学院理学研究科）

- (67) 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（名古屋大学大学院多元数理科学研究科）
- (68) *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）
- (69) C型肝炎ウィルスの進化とその修飾因子の検討
熊田博光（虎ノ門病院消化器科）
- (70) 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）
- (71) 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）
- (72) 神経冠細胞の分化に関与する遺伝子群の系統解析
山本博章（東北大学大学院理学研究科）
- (73) 複数ドメイン構造を持つ遺伝子・蛋白質群の分子進化メカニズムの解明
高橋 敬（島根医科大学医学部）
- (74) 塩基配列より蛋白をコードする遺伝子の生物種間の分類方法の開発
中島広志（金沢大学医学部）
- (75) T4 フェージをモデル系としたゲノム・遺伝子産物相関関係の解明
有坂文雄（東京工業大学生命理工学部）
- (76) 生物分類樹データの電子化及びその利用に関する研究
北上 始（広島市立大学情報科学部）
- (77) ヒドラメソグリア欠失が頭部再生に及ぼす影響
美濃部純子（福岡女子大学人間環境学部）
- (78) ルイス式血液型を決定するルイス遺伝子、Se 遺伝子の人類遺伝学的研究
成松 久（創価大学生命科学研究科）
- (79) 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）の結晶化及び X 線解析
荒牧弘範（第一薬科大学）

B. 研 究 会

- (1) フェージ・細菌における遺伝子の発現制御の新視点
井口八郎（京都大学大学院理学研究科） 8. 8. 3～8. 8. 4
- (2) ヒドラの発生生物学
小泉 修（福岡女子大学人間環境学部） 8. 12. 13～8. 12. 14
- (3) 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） 9. 2. 22
- (4) ポリゾン体系の育種戦略
島本義也（北海道大学農学部） 8. 11. 14～8. 11. 15

- (5) 植物の栄養生理と分子遺伝学
芽野充男 (東京大学農学部) 9. 1.10~9. 1.11
- (6) 生体高次機能・形態形成遺伝子の異常に基づく疾患原因・
関連遺伝子のポジショナルクローニング
米川博通 ((財) 東京都臨床医学総合研究所) 9. 1.20~9. 1.21
- (7) コムギの遺伝学の課題と展望
西川浩三 (木原記念横浜生命科学振興財団) 8.12.20~8.12.21
- (8) 生殖系列細胞の発生機構と発生工学
中辻憲夫 (国立遺伝学研究所) 8.12. 5~8.12. 6
- (9) 脳神経幹細胞の発生と細胞移動
池田一裕 (岡崎国立共同研究機構) 8. 9.19~8. 9.20
- (10) *C. elegans* 研究の将来
桂 勲 (国立遺伝学研究所) 8. 7.19~8. 7.20
- (11) 弱有害突然変異の遺伝子進化における意義
五條堀 孝 (国立遺伝学研究所) 9. 3.17~9. 3.18
- (12) 枯草菌の分子遺伝学に関する研究会
定家義人 (国立遺伝学研究所) 8.10.25~8.10.26
- (13) フェージ・細菌におけるゲノムと複製制御の新視点
廣川秀夫 (上智大学生命科学研究所) 9. 2.28~9. 3. 1
- (14) 脳神経系を構築する遺伝子システムの進化
齊藤成也 (国立遺伝学研究所) 8.12. 5~8.12. 6

C. 民間等との共同研究

大量 DNA データの分子進化学的解析と遺伝子機能領域同定法の研究開発

五條堀 孝 (国立遺伝学研究所), 館野義男 (同), 川西祐一 (富士通株式会社), 塩原立也 (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「栽培稲の起原の研究」以来、現在まで引継がれているイネの進化遺伝学的研究の中で積極的に世界各地から収集を続け、野生種については世界でも有数の収集となっている。これらは遺伝資源として保存され、所内外の研究者に利用されてきた。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: *wx*, *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^r* (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* (縮縮葉), *m^r* (柳葉), *co^H* (ヘアラセア葉), *p* (孔雀葉), *bv* (はだぬぎ), *ar* (錨), *re* (洲浜葉),

花模様遺伝子型: *Sa* (刷毛目紋), *sp* (吹掛紋), *Mr* (覆輪), *Bz* (吹雪), *Ry* (車紋), *su-Mr* (覆輪抑圧), *su-tu* (花筒色抑圧), *fd* (暈), *dt* (斑点花), *Ln* (立竈), *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、気多の白桜株、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-epithelial (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。リストの請求、及び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://www.grs.nig.ac.jp>)。

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
林 茂生

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

A) 突然変異系統

1) 各染色体をカバーする欠失系統のセット

- a) X 染色体 (57)
- b) 第二染色体 (109)
- c) 第三染色体 (82)
- d) 第四染色体 (2)

2) その他の変異系統 (約 600)

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, Gal4, lacZ マーカー系統なども維持している。

B) 野生型系統

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

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	<i>p</i>
江浙	中国	2	4	<i>p</i>
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	<i>p</i> (yellow coc.)

2) 実験用の標準 (野生) 型系統

C-108	中国	2	4	<i>p</i>
C-108 (旧)	中国	2	4	<i>p</i>
ZeC-108	中国	2	4	<i>p</i> 同上 Y 染色体を Ze で標準
青熟	日本	2	4	+ ^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	<i>p</i> (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	<i>p</i>
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^s</i> / + ^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)

pil (sex-linked prolonged imaginal lifespan)

pre (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

elip (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

b² (Brown egg-2)

bw³ (Brown egg-3)

w¹ (White egg-1)

w¹ (大正白) (White egg-1)

w² 原田 (White egg-2)

w² (ch) (White egg-2)

w³/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^{So-1} (Y) (Sable marking pattern)

so (Sooty)

7) 幼虫体形に関するもの

nb (Narrow breast)

st (Stony)

8) 致死突然変異

伴性劣性型 [性(X)染色体の生物的アプローチの素材]

系統記号	座 位
1-s (m-2)	X-15.0
1-s (m-3)	X-16.4
1-s (m-4)	X- 7.8

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

(座位未検定ラインが 20 数系統有り)

9) 常染色体型

pel (White lethal egg)

lne (Non-ecdysial lethal)

10) 放射線感受性

UV^R (アスコリ由来)

UV^R. X (*r*)^R (漢川由来)

UV^R. X (*r*)^S (金色由来)

UV^S (浙江由来)

UV^R (緋紅由来)

11) 異常生殖 (発生)

par⁺⁺ (Highly parthenogenicity)

par⁻ (Reduction of parthenogenicity)

mo (*pe*; *oc*) (Mosaics (double fertilization))

mo (*pe*; *ok*) (Mosaics (double fertilization))

12) 走光性 (幼虫期)

pe ok (Y)/T (Y; 3) *Ze* (正の走光性)

nb (正の走光性)

pe re/T (Y; 3) *Ze* (負の走光性)

st

〔負の走光性〕

13) 行動異常

chr-e シリーズ; e^{++}, e^{-}

(羽化時の遅速変異体)

chr-h シリーズ; h^{++}, h^{-}

(ふ化時の遅速変異体)

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 (t, (Y: 3) Ze; t_2 (3; Y)-)橋本転座〔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) Ze に転座した系統〕T (Y: 5) $+pe$ (2)T (Y: 5) $+pe + ok + oc$ T (Y: 5) $+pe$ (～)

〔不安定転座〕

T (Y: 10)

T (Y: 10) $+w_2$

〔Tazima's W-translocation〕

T (X: 5)

T (X: 5) $+p^o$ (1)

〔性染色体(X)と第5染色体の組換え実験から作製〕

T (X: 5) $+p^o$ (2)

"

T (X: 5) $+p^o$ (3)

"

T (X: 5) $+p^o$ (4)

"

T (X: 5) $+p^o$ (5)

"

T (X: 5) $+p^o$ (6)

"

T (X; Y)

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

repT {t₁(Y; 5)pe⁺; t₂(5; Y)Ze} [橋本 T (Y; 3) Ze 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) Ze); 5)+pe (1)	[Y 染色体に Ze と +pe との 2 重標識系統]
T ₂ ((T ₁ (Y; 3) Ze); 5)+pe (2)	{ " }
T ₂ ((T ₁ (T; 3) Ze); 5)+pe (3)	{ " }
T ₂ ((T ₁ (Y; 2)+p·pSa); X)+ ^{od} (4)	[Y 染色体に +p·pSa と +pe 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

 $Dp(2)+p \cdot p^{Se} + oal$

3) トリソミー

 $+p/p^M/p^S$
 $T(Y; 5) + +/pe\ re$

[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; od</i>	[2重劣性]
<i>os; e</i> (<i>pe</i>)	[3重劣性]
<i>os; e</i> (<i>pe</i>)/ <i>T</i> (Y; 3) <i>Ze</i>	[3重劣性]
<i>os; e</i> (<i>re</i>)/ <i>T</i> (Y; 3) <i>Ze</i>	[3重劣性]
<i>sch; od</i> (<i>pe</i>)	[3重劣性]
<i>sch; od</i> (<i>pe</i>)/ <i>T</i> (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> (字田 <i>pe</i>)	[単一劣性]
<i>re</i> (<i>p</i> ⁺)	[単一劣性]
<i>pe; ok</i>	[2重劣性]
<i>pe; ok</i> / <i>T</i> (Y; 3) <i>Ze</i>	[2重劣性]
<i>pe; ok</i> (Y)	[2重劣性]
<i>pe; re</i>	[2重劣性]
<i>re; re</i> / <i>T</i> (Y; 3) <i>Ze</i>	[2重劣性]
<i>re</i> (<i>ch</i>)	[2重劣性]
<i>re</i> (<i>p</i>)	[2重劣性]
<i>pe; ok; re</i>	[3重劣性]
<i>pe; re</i> (<i>ch</i>)/ <i>T</i> (Y; 3) <i>Ze</i>	[3重劣性]
<i>pe; re; oc</i> / <i>T</i> (Y; 3) <i>Ze</i>	[3重劣性]
<i>pe; oc</i> (<i>lem</i>)	[3重劣性]
<i>pe; oc</i> (<i>sch</i>)/ <i>T</i> (Y; 5) + ^{pr}	[3重劣性]
<i>ok; re</i> (<i>ch</i>)	[3重劣性]
<i>pe; re</i> (<i>w2; ch</i>)/ <i>T</i> (Y; 3) <i>Ze</i>	[4重劣性]

4) 発生(生殖)異常の検出系

<i>pe; re/T (Y; 2) p^{So} + p</i>	[2重劣性]
<i>w2; ch/T (Y; 2) p^{So} + p</i>	[2重劣性]
<i>p; w2; ch; mln; so</i>	[5重劣性]

4. その他

第5染色体に特異的な不安定系統

MV ^{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。また、今年度から「マウス胚凍結保存事業費」が認められ、凍結胚によるマウス系統保存事業が本格化した。

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、微生物病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?+16 (SPF), A ^W A ^W , BB, C ^{ch} /c or c/c (SPF)
A/WySnJ	Jax→Ms (1984, F186), F186+51, aa, bb, cc, H-2 ^d (SPF)
AKR/J	Jax→Ms (1992, F?), F?+20, aa, BB, cc, H-2 ^k (SPF)

AU/SsJ	Jax→Ms (1991, F93), F93+26, <i>aa, BB, CC, Hbb^o</i> (SPF)
BALB/cAnN	NIH→Ms (1984, F178), F178+53, <i>cc</i> , ミエローマ高発系, <i>H-2^d</i> (SPF)
BALB/cUcsde	Os→Ms (1978, F?), F? ⁺ +44+31*, <i>cc, H-2^d</i> (SPF)
C57BL/10SnJ	Jax→Ms (1985, F26+3), F29+39, <i>aa, BB, CC, H-2^b</i> (SPF)
C57BL/6J	Jax→Ms (1984, F152), F152+48, <i>aa, BB, CC, H-2^b</i> (SPF)
C57BR/cdJ	Jax→Ms (1987, F?), F? ⁺ +31, <i>aa, bb, CC, H-2^a</i> (SPF)
C57L/J	Jax→Ms (1984, F161), F161+42, <i>aa, bb, lnlⁿ, CC, H-2^b</i> (SPF)
C58/J	Jax→Ms (1985, F200), F200+35, <i>aa, BB, CC, H-2^a</i> (SPF)
CBA/J	Jax→Ms (1984, F194), F194+44, <i>AA, BB, CC, H-2^a</i> (SPF)
CE/J	Jax→Ms (1987, F102), F102+32, <i>A^wA^w, C^cC^c</i> (SPF)
DBA/1J	Jax→Ms (1982, F112), F112+58, <i>aa, bb, CC, dd, H-2^g</i> (SPF)
JF1/Msf	Ms (1993, F19), F19+10* (SPF)
NZB/BINJ	Jax→Ms (1988, F134), F134+27, <i>aa, BB, CC</i> (SPF)
P/J	Jax→Ms (1987, F161), F161+31, <i>sese, pp</i> (SPF)
PL/J	Jax→Ms (1987, F137), F137+40, <i>cc</i> (SPF)
PT/7af	Os→Ms (1986, F26), F26+45, <i>aa, bb, pc^{ch}pc^{ch}, dse/dse, s/s</i> (SPF)
RIIS/J	Jax→Ms (1985, F63), F63+38, <i>cc</i> (SPF)
SJL/J	Jax→Ms (1982, F95), F95+60, <i>AA, BB, cc, pp, H-2^e</i> (SPF)
SM/J	Jax→Ms (1982, F106), F106+45, <i>A^wa^w or aa, BB, CC, H-2^v</i> (SPF)
SWR/J	Jax→Ms (1984, F150), F150+50, <i>AA, BB, cc, H-2^g</i> (SPF)

*、SPF 化以降の世代数。世代数は 1996 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)	
<i>H-2^d</i>	B10. M/Sn	Jax→Ms (1990, F84), F84+27 (SPF)
<i>H-2^e</i>	B10. HTG/2Cy	Jax→Ms (1982, N16F19), N16F19+53 (SPF)
<i>H-2^{e2}</i>	B10. GD/Msf	C. S. David→Ms (1984, F?), F? ⁺ +29+14* (SPF)
<i>H-2^{h2}</i>	B10. A (2R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F?), F? ⁺ +61 (SPF)
<i>H-2^{h4}</i>	B10. A(4R)/Ola	Ola→Ms (1982, F3), F3+62 (SPF)
<i>H-2^{h5}</i>	B10. A(5R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F20), F20+55 (SPF)
<i>H-2^g</i>	B10. G/Ola	Ola→Ms (1985, F?), F? ⁺ +44 (SPF)
<i>H-2^g</i>	B10. S/Ola	Ola→Ms (1985, F?), F? ⁺ +36 (SPF)
<i>H-2^{h1}</i>	B10. AQR/Ola	Ola→Ms (1982, F?), F? ⁺ +57 (SPF)
A 系	(1 系統)	
<i>H-2^{h4}</i>	A. B(4R)/Ms	Ms 由来 (1994), N20+F11(SPF)
C3H 系	(2 系統)	

<i>H-2^b</i>	C3H. SW/SnJ	Jax→Ms (1982, F22), F22+53 (SPF)
<i>H-2^d</i>	C3H.OL/Ne	NIH→Ms (1981, F?), F?+25+29* (SPF)
BALB/c 系	(2 系統)	
<i>H-2^b</i>	BALB.B/Ola	Ola→Ms (1981, F?)→Jic→Ms (1985, F?), F?+45 (SPF)
<i>H-2^k</i>	BALB.K/Ola	Ola→Ms (1982, F?), F?+53 (SPF)

*, SPF 化以降の世代数.

3) 野生ハツカネズミの *H-2* 染色体を導入した B10 コンジェニック系 (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>	N13F31N1F31	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+59**	Mol. Ten1	1976
B10. MOL-TEN2e	<i>wm2</i>	N10F36+35**	Mol.Ten2	1976
B10. MOL-SGR	<i>wm7</i>	F1N10F15+63**	Mol. Sgr	1976
B10. CAS-QZNe	<i>wc1</i>	N12F30+28**	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>	N48	Cas. Tch	1979

*, 研究途上の系統であり, 一般への分譲はまだ行っていない.

***, SPF 化以降の世代数.

4) B10. MOL-*H-2* コンジェニック系由来の *H-2* 染色体組換え系 (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				
				K	A	E	S	D
<i>a/wm7</i>	B10. A(R201)/Msf	N4F54+15**	<i>aw1</i>	k	w	w	w	w
<i>a/wm7</i>	B10. A(R209)/Msf	N4F42+14**	<i>aw9</i>	w	k	k	d	d
<i>b/wm7</i>	B10(R233)/Msf	N4F36+14**	<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.

***, SPF 化以降の世代数.

5) その他のコンジェニック系マウス (3 系統)

系統名	由来
AXBG11/Msf**	Ms 由来 (1993), N2F25+12* (SPF)
BALB/cMsf- <i>Hbb</i> **	Ms 由来 (1993), N5F2N1F2+12*, wild-driver <i>Hbb</i> haplotype (SPF)
HBBW1/Msf**	Ms 由来 (1993), N8F2N1F2+11* (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+N25* (SPF)
C57BL/10Sn-Y ^{del} **	Ms (1990, B10. BR-Y ^{del} より C57BL/10Sn に戻し交配), N22 (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
C57BL/6J- <i>mi</i>	Jax→Ms(1994), N5, microphthalmia (<i>mi</i>) (SPF) B6C3Fe- <i>a/a-mi</i> (N13) より系統作成中
B10.D2/nSn- <i>Hx</i> /+	Jax→Ms (1994, F58), F58+10, hemimelic extra tose (<i>Hx</i>) (SPF)
B10.MOL-SGR-CMs2*	F1N10F15+49+M6 (SPF)
C3HeB/FeJ- <i>E^o/E^o Xt^l</i> /+	Jax→Ms (1993, N10F12), N10F12+15, Extra toes-J (<i>Xt^l</i>) (CV)
C57BL/6J- <i>Ist^l</i>	Jax→Ms(1994), N6, Strong's luxoid-J (<i>Ist^l</i>), B6C3Fe- <i>a/a-Ist^l</i> (N25) より系統作成中 (SPF)
C57BL/6J- <i>Ix W^o</i>	Jax→Ms (1994, N111), N111+N6, luxate (<i>Ix</i>) (SPF)
C57BL/6J- <i>pe/pe</i>	Jax→Ms (1994, F?), F?+3, pearl (<i>pe</i>) (SPF)
C57BL/6J- <i>Tr/Re</i>	Jax→Ms (1991, N42), N40+N14, trembler (<i>Tr</i>), rex (<i>Re</i>) (SPF)
C57BL/6J- <i>Xp1</i>	Jax→Ms (1994), N9, X-linked polydactyly (<i>Xp1</i>), B6C3Fe- <i>a/a-Xp1</i> (N83) より系統作成中 (SPF)
C57BL/10Snf- <i>rim2/rim2</i> *	Ms 由来 (1994), F24+N1F8 (SPF)
C57BL/10Snf- <i>Rim3</i> /+*	Ms 由来 (1994), N16+N10 (SPF)
C57BL/10Snf- <i>Rim4</i> /+*	Ms 由来 (1994), N8+N8 (SPF)
C57BL/10- <i>Rim5</i> /+ <i>Rim5</i> *	Ms 由来 (1989), F15(CV)
HRS/J	Jax→Ms (1984, F75), F75+38, hairless (<i>hr</i>) (SPF)
MWT/Le <i>at/at</i>	Jax→Ms (1993, F98), F98+15 (CV)
TSJ/Le <i>b/b Ts</i> /+	Jax→Ms (1993, F90), F90+9, 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 (14 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	Peigon (カナダ) 1979 年 9 月	F44	(CV)
<i>Mus musculus bactrianus</i>			
M. Bac-kjo	Kujour (イラン) 1990 年 11 月	F9	(CV)
M. Bac-Avz3	Ahvaz (イラン) 1991 年 4 月	F19	(CV)

<i>Mus musculus subspcies</i>			
M. SUB-CHD	成都 (中国) 1981 年 5 月	F36	(CV)
<i>Mus spicilegus</i>			
ZBN	ブルガリア 1984 年 4 月	F20	(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+12*	1993 年
<i>Mus musculus brevisrostris</i>			
BFM/2Msf	Montpellier (フランス) 1976 年	F15F40+15*	1993 年
NJL/Msf	Northern Jutland (デンマーク) 1980 年 9 月	F41+7*	1994 年
<i>Mus musculus musculus</i>			
BLG2/Msf	Toshevo (ブルガリア) 1980 年	F3+41+15*	1993 年
<i>Mus musculus castaneus</i>			
HML/Msf	和美 (台湾) 1986 年 6 月	F21+10*	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+19	
<i>Mus musculus subspcies</i>			
KJR/Msf	Kojuri 島 (韓国) 1984 年 9 月	F31+15*	1993 年
SWN/Msf	水原 (韓国) 1984 年 9 月	F22+9*	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+10*(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?+5~15	566 (270)
A/WySnJ	Jax→Ms (1984, F186)	F186+38~50	551 (331)
A2G/Ola	Ola→Ms (1998, F?)	F?+30~35	509
AKR/J	Jax→Ms (1992, F?)	F?+6~19	339 (136)
AU/SsJ	Jax→Ms (1991, F93)	F93+11~25	451 (188)
BALB/cAnN	NIH→Ms (1984, F178)	F178+38~52	524 (319)
BALB/cUcsde	Os→Ms (1978, F?)	F?+44+23~31	561 (329)
C57BL/6J	Jax→Ms (1984, F152)	F152+33~47	504 (372)

C57BL/10SnJ	Jax→Ms (1985, F26+3)	F29+27~38	311 (264)
C57L/J	Jax→Ms (1984, F161)	F161+36~42	556 (213)
C57BR/cdJ	Jax→Ms (1987, F?)	F?+27~30	299 (222)
C58/J	Jax→Ms (1985, F200)	F200+26~34	227 (66)
CBA/CaHN	NIH→Ms (1984, F65)	F65+39~41	92
CBA/J	Jax→Ms (1984, F194)	F194+33~43	350(167)
CBA/StMse	Ms→Nga (1965, F34) →Ms (1978, F75)	F75+44+16~18	161
CE/J	Jax→Ms (1987, F102)	F102+21~31	458 (206)
DBA/1J	Jax→Ms (1982, F112)	F112+48~57	581 (379)
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?+14~19	79
JF1/Msf	Ms (1993, F19)	F19+4~10	467 (113)
MA/MyJ	Jax→Ms (1983, F?)	F?+36~39	119
NZB/BINJ	Jax→Ms (1988, F134)	F134+20~25	91 (54)
PL/J	Jax→Ms (1987, F137)	F137+27~39	514 (256)
P/J	Jax→Ms (1987, F161)	F161+22~30	311 (265)
PT/7af	Os→Ms (1986, F26)	F26+34~43	560 (166)
RⅢS/J	Jax→Ms (1985, F63)	F63+37~39	154 (154)
SJL/J	Jax→Ms (1982, F95)	F95+47~59	324 (128)
SM/J	Jax→Ms (1982, F106)	F106+36~43	610 (354)
SWR/J	Jax→Ms (1984, F150)	F150+36~47	184 (14)

2) H-2 コンジェニック系

B10 系 (25 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
		F?+58~59	278 (278)
B10. A (4R)/Ola	Ola→Ms (1982, F3)	F3+40N1 (*1)	152
		F3+59~60	487 (487)
B10. A (5R)/SgSnJ	Jax→Ms (1982, F20)	F20+39~40N1 (*1)	126
		F20+53~54	322 (322)
B10. AKM/Ola	Ola→Ms (1983, F?)	F?+34~36N1 (*1)	145
B10. AQR/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F?+41~43N1 (*1)	126
		F?+55~57	394 (394)
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) F?+42~43	117 254 (254)
B10. GD	C. S. David→Ms (1984, F?)	F?+24~25N1 (*1)	96
B10. GD/Ms		F?+29+10~12	337 (337)
B10. HTG/2Cy	Jax→Ms (1982, N16F19)	N16F19+34~35N1 (*1) N16F19+49~51	111 231 (231)
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) F84+24~25	151 150 405 (405)
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) F?+35~36	111 234 (234)
B10. S (7R)/Ola	Ola→Ms (1985, 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	N20F3~10	510 (267)
C3H 系 (5 系統)			
C3H. JK/Sn	Jax→Ms (1982, F22)	F22+51~52	79
C3H. NB/Sn	Jsx→Ms (1982, F18)	F18+55~56, F?	157
C3H. OH/N	NIH→Ms (1981, F?)→ Jic→Ms (1985, F?)	F?+44~45	46
C3H. OL/Ne	NIH→Ms (1981, F?)	F?+25+17~29	385 (260)
C3H. SW/SnJ	Jax→Ms (1982, F22)	F22+43~52	292 (158)
3) 野生ハツカネズミの H-2 染色体を導入した B10 コンジェニック系 (17 系統)			
B10. BAC1	Ms	F?, N8F6N1F2~4, N8F6N1F2~4N1 (*1)	47 68
B10. CAS-QZNe	Ms	N12F30+9~11N1 (*1) N12F30+27	108 70 (70)
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,	62
		N12F26~28N1 (*1)	150
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	130
		(*1)	
		F1N10F15+60~62	542 (542)
B10. MOL-TEN1	Ms	N12F16+37N1 (*1)	106
		N12F16+56~58	358 (358)
B10. MOL-TEN2e	Ms	N10F36+13~15N1 (*1)	101
		N10F36+33	217 (217)
B10. MOL-YNG	Ms	N13F31N1F9,	13
		N13F 31N1F8~9N1 (*1)	263
B10. SHH2	Ms	N8F10~12,	66
		N8F9~11N1 (*1)	70
B10. SHH3	Ms	N8F11~14, F?,	43
		N8F1013N1 (*1)	86
B10. CAS3/Kfl	Kfl→Ms (1991, F?)	F?N1 (*1)	202
京都 D20+	Ms	F?, N2F7N1 (*1)	21

4) B10. MOL-H-2 コンジェニニック由来の H-2 染色体組換体 (42 系統)

B10. A (R201)	Ms	N4F47~48N1 (*1),	196
		N4F55~56	14
B10. A (R201)/Msf	Ms	F54+13~14 313	(313)
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 (R209)/Msf	Ms	F42+11~14	629 (629)
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)	121
		F+6 8	
B10. SH1 (R17)	Kfl→Ms (1985, F?)	F?+N7F14~15,	35
		F?+N7F13~14N1 (*1)	103
B10 (R231)	Ms	N3F32~36N1 (*1)	140
B10 (R233)	Ms	N4F32~33N1 (*1),	166
		N4F37	1
B10 (R233)/Msf	Ms	F36+12	180 (180)
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 ^{aw} 18/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 (20 系統)			
AXBG11/Msf	Ms	N2F25+6~11	548 (423)
B6-Ly-2 ^c , -3 ²	Ms	N12F13~14	95

BALB/c- <i>Aph-1^b</i>	Nga→Ms (1985, F?)	F?+7~8, F?+7N1 (*2)	16 11
BALB/c- <i>Aph-1^b</i> , <i>Aph-2^b</i>	Nga→Ms (1985, F?)	F?+8~9, F?+8~9N1 (*2)	42 93
BALB/c- <i>Aph-1^c</i>	Ms	F?+9~10, F?+8~9N1 (*2)	22 72
BALB/c- <i>Aph-2^b</i>	Ms	F?+5~6	82
BALB/c- <i>Aph-3</i>	Ms	F?+7~8, F?+5~7N1 (*2)	14 86
BALB/cMsf- <i>Hbb^p</i>	Ms	N5F2N1F2+8~12	161 (161)
BALB/c- <i>H.2</i>	Ms	F?+8~10, F?+8~9N1 (*2)	87 111
BALB/c- <i>H.3</i>	Ms	F?+7, F?+6~7N1 (*2)	25 117
BALB. B/Ola	Ola→Ms (1981, F?)→ Jic→Ms (1985, F?)	F?+39~45	529 (168)
BALB. K/Ola	Ola→Ms (1982, F?)	F?+45~51	425 (162)
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+6~10	535 (504)
6) 染色体変異を持つ系統 (7 系統)			
B10. SMY-Ydote	Ms	N10F1+N11~23 (*1)	115 (4)
B10. SMY-conte	MRC→Ms (1989, N10)	N10F1+N13~14 (*1)	124
C57BL/10Sn-Y ^{del}	Ms	N8~16 (*1)	107
Rb (9.15)/Ms	Ms	N13F21, F?	30
Rb (9.15)/Mse	Ms	N13F21+N1	19 (19)
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 (22 系統)			
B10. D2/nSn-Hx/+	Jax→Ms (1994, F58)	F58+7~9	112 (112)
B10. PL (73NS)/Sn-s/o	Jax→Ms (1982, F17)	F24+M+NE2F1N1 (*1)	166

B10- <i>ape</i>	Ms	F?NE6F8+1NE3~4F1N1	42
		(*1)	
B10. MOL-SGR-CMs2	Ms	F1N10F15+49+M6~8	49 (49)
B10- <i>Poe</i>	Ms	F55NE3F12+11~12N1	158
		(*1)	
C. OGS- <i>Ap</i>	Ms	N13F3N1F5N10 (*2)	38
C57BL/6J- <i>pe/pe</i>	Jax→Ms (1994, F?)	F?+3~6	280 (280)
C57BL/10- <i>rim2/rim2</i>	Ms	F20~26N1 (*1)	146
C57BL/10Snf- <i>rim2/rim2</i>	Ms	F24+N1F6~7	279 (279)
C57BL/10- <i>Rim3/+</i>	Ms	N15 (*1)	114
C57BL/10Snf- <i>Rim3/+</i>	Ms	N16+N9 (*1)	15 (15)
C57BL/10- <i>Rim4/+</i>	Ms	N7 (*1)	91
C57BL/10Snf- <i>Rim4/+</i>	Ms	N8+N5~7 (*1)	23 (23)
C57BL/10- <i>Rim5/+</i>	Ms	N8 (*1)	145 (44)
C. URM	Ms	N4+7~8N1 (*2)	85
HRS/J	Jax→Ms (1984, F75)	F75+29~38	617 (211)
WB/ReJ-W	Jax→Ms (1987, F?)	F?+27~29	145
C3H/HeN- <i>seal/+</i>	Jms→Ms	F?+3~4	61
C57BL/6J- <i>js/+</i>	Jax→Ms	F?+1~2, F?	123
TSJ/Le <i>b/b Ts/+</i>	Jax→Ms (1987, F?)	F90+3~6	231 (9)
B10. BR (R228) <i>spot</i>	Ms	F?	209

8) 野生ハツカネズミ類 (30 系統)

BFM/2Ms	Montpellier→Ms	F15+42~43	23
BFM/2Msf	Montpellier→Ms	F15+40+12~14	182 (182)
BLG2/Msf	Toshevo→Ms (ブルガリア)	F3+41+13~15	133 (133)
CASA/Rk	Jax→Ms (1989, F12)	F12+7~8	31
CAST/Ei	Jax→Ms (1989, F43)	F43+9~18	118 (61)
HMI/Msf	和美 (台湾)	F21+8~10	123 (123)
KJR/Msf	Kojuri 島 (韓国)	F31+13~15	233 (233)
MAL/Msf	マレーシア	F13+6~7	12 (12)
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)	F33	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)	F38~41	190
MSM/Msf	三島 (静岡県)	F46+8~11	351 (351)
MOM	瑞穂区 (愛知県名古屋市)	F29+2+11~13	120
NJL/Msf	Northern Jutland (デンマーク)	F41+3~6	263 (263)
SWN/Msf	水原 (韓国)	F22+7~9	198 (198)
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	F?+8~9 (*1)	40 106
Tg (17MMUCyp21)1Msf	Ms	F?+2+5~9	548 (444)
Tg (0MMUCyp21)2Ms	Ms	(*1)	109
Tg (0MMUCyp21)3Ms	Ms	G1F2	15
Tg (YHSPCyp21)5Ms	Ms	N12 (*1)	108
Tg (17MMUCyp21)6Ms	Ms	N1F3N2F3~13 N1F3N1 (*1)	17 14
Tg (0MMUCyp21)7Ms	Ms	(*1)	50
Tg (0MMUCyp21)8Ms	Ms	(*1)	1 77
Tg (0MMUCyp21)9Ms	Ms	(*1)	102

(*1) C57BL/10SnSlc または C57BL/10SnJ 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, λcI₈₅₇-S7, λTn5, λTn10, φX174wild, φX174am3, f1, MS2, Qβ, その他

その他

Bacillus subtilis (枯草菌): 200 株

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

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 370 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 80 種、遺伝子融合ベクター 39 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、薬剤耐性遺伝子カセット、塩基配列決定用ベ

ター、部位特異的変異誘発用ベクター等数種づつである。保存している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行っている。また、同じ内容のデータをインターネット上に公開しており (<http://shigen.lab.nig.ac.jp/cvector.html>)、データベースファイルとして取り出せるようになっている。郵便、ファックス、あるいは電子メールでの問い合わせには応じているが電話での問い合わせには応じていない。

連絡先：〒411 静岡県三島市谷田 1, 111 国立遺伝学研究所微生物遺伝研究部門
クローニングベクターコレクション (担当 安田成一)
FAX: 0559-81-6762
電子メール: cvector@lab.nig.ac.jp

II. 遺伝情報の収集保存及び提共

1996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 24	(1996年 1月)	637,508 件	431,771,652 塩基
リリース 25	(1996年 4月)	744,490 件	499,300,364 塩基
リリース 26	(1996年 7月)	835,552 件	551,932,448 塩基
リリース 27	(1996年 10月)	936,697 件	608,103,057 塩基

サブミッション件数: (件)

	通常	大量	合計
1月	405	122	527
2月	433	3,040	3,473
3月	369	0	369
4月	415	6,758	7,173
5月	1,103	4,785	5,888
6月	616	1,911	2,527
7月	529	3	532
8月	707	1,433	2,140
9月	619	1,797	2,416
10月	543	374	917
11月	887	0	887
12月	627	0	627

合計	7,253	20,223	27,476

登録形式: (件)

	SAKURA	Authorin	Sub. form	合計
1月	61	275	59	409
2月	75	260	112	433
3月	147	188	34	369
4月	154	234	22	410
5月	279	370	454	1,103

6月	320	241	55	616
7月	385	114	30	529
8月	324	332	51	707
9月	381	197	41	619
10月	407	62	74	543
11月	482	296	109	887
12月	336	186	105	627

合計	3,351	2,755	1,146	7,252
----	-------	-------	-------	-------

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	カートリッジ	8 mm	DAT	合計
リリース 24 (1996年 1月)	8	19	7	34
リリース 25 (1996年 4月)	10	16	12	38
リリース 26 (1996年 7月)	10	15	9	34
リリース 27 (1996年 10月)	8	14	10	32

合計	36	64	38	138
----	----	----	----	-----

EMBL データベース

EMBL リリース	カートリッジ	8 mm	DAT	合計
リリース 46 (1996年 3月)	4	9	5	18
リリース 47 (1996年 6月)	3	12	6	21
リリース 48 (1996年 9月)	2	13	6	21

合計	9	34	17	60
----	---	----	----	----

SWISS-PROT データベース

SWISS-PROT リリース	カートリッジ	8 mm	DAT	合計
リリース 33 (1996年 2月)	9	12	6	27
リリース 34 (1996年 10月)	8	12	7	27

合計	17	24	13	54
----	----	----	----	----

発行物:

DDBJ News Letter No. 16	1996年 2月発行
DDBJ オフラインニュース 第6号	1996年 11月発行
DDBJ 所内ニュース No. 45	1996年 1月発行
DDBJ 所内ニュース No. 46	1996年 3月発行
DDBJ 所内ニュース No. 47	1996年 5月発行
DDBJ 所内ニュース No. 48	1996年 7月発行

DDBJ 所内ニュース No. 49

1996年 9月発行

DDBJ 所内ニュース No. 50

1996年 11月発行

ゲノム解析ニュースレター Vol. 5, No. 3 News from DDBJ 17

1996年 3月発行

III. 系統情報の収集, 保存および提供

遺伝実験生物保存研究センター・遺伝資源研究室では, 主に文部省所轄の大学, 研究所などに保存されている様々な生物種の系統について, その所在情報および特性情報を収集し, インターネット (WWW および ftp) による情報提供をしている。

1996年度の公開情報

公開情報の種類	情報量
遺伝研のマウス系統	288 系統
全国のショウジョウバエ系統	2000 系統
全国のコムギ系統	13672 系統
全国のイネ系統	11030 系統
遺伝研のクローニングベクター	270 クローン

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13日(土)に行われた。4つのテーマに沿った研究発表の展示、学術講演、学術映画の上映等を行い、9時30分から16時30分までの間に過去最高の1万3千人を越える見学者が来所した。

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8年11月16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

古くて新しいマウス遺伝学—突然変異体から学ぶこと—

遺伝実験生物保存研究センター助教授

理学博士 城 石 俊 彦

【要旨】

数年前だったか某ウイスキー会社のテレビコマーシャルで“Old is New”というキャッチコピーが流れたことをご記憶の方もいるかと思う。現在のマウス遺伝学も、まさにこのコピーがピッタリと当てはまる状況にある。そもそも、遺伝学とは、あらゆる生命現象を遺伝子に還元して理解しようという学問方法である。その基本は、正常な機能あるいは形態が壊れた突然変異体を基にその遺伝子が果たす生命機能を解き明かそうというものである。従って、突然変異体はいわば反面教師的な使われ方をする。特定の生命現象が異常となった突然変異を調べることで本来の正常な働きをする遺伝子の存在に研究者ははじめて気づくのである。

マウスは、哺乳動物の中で最も遺伝学の研究材料として重用されてきた実験動物である。小型で飼育しやすいこと、二十日ネズミという名前が示すとうり妊娠期間も約20日と短いことなどがその理由である。また、長い研究の歴史から多数の突然変異体が得られ遺伝学の実験に使用されてきた。しかし、ここまでは“Old is New”の前半の“Old”の段階である。それでは、一体何が“New”なのか？それは突然変異体を使う遺伝解析の道具立てが新しくなったのである。遺伝学では、突然変異の原因遺伝子を単離することが研究の重要なステップの一つである。ひとたび遺伝子が単離されれば、その遺伝子を人工的に改変した遺伝子導入動物を作製することなどにより、その機能をより詳細に調べることが可能になる。最近になって、マウスの突然変異の原因遺伝子を単離するための方法が具体化してきた。この方法では突然変異遺伝子の機能やその遺伝子産物についての情報を必要としない。大切な点は、メンデル以来の古典的方法である連鎖解析によって問題とする遺伝子の染色体上での詳しい位置がわかれば良いということである。この部分が“Old is New”の後半部の“New”の骨子である。この講演では、最初にマウス突然変異を使った遺伝学の例として手足の形態形成のメカニズムの問題を取り上げる。まず、

マウス突然変異体がどのようなことを教えてくれるかを紹介し、次に手足の形を決定している遺伝子をマウス突然変異体を基に単離しようという試みについてお話ししたいと思います。

減数分裂期組換え—子が親に似るメカニズムとは—

細胞遺伝研究系教授

薬学博士 小川 智子

【要旨】

遺伝的組換え機構は子孫の安定な保持に携わっています。特に、組換えが高頻度で起こる減数分裂期は卵や精子などを作る過程であり、この過程で起こる組換えと染色体の分配により、両親由来の遺伝子は混ぜ合わされて子に伝えられます。

私達は、減数分裂期で起こる組換えが、どのように起こるかを、いろいろな方法を用いて調べてきました。先ず最初に、組換えを行う遺伝子を探し、その蛋白質の構造や反応について調べました。驚いたことに、組換えを行う蛋白質は、大腸菌のような細菌から私達人間や、トマトやユリの様な植物まで非常に似た構造と機能を持っていることがわかりました。これは、組換えを行う反応が、生物全般で共通であることを示しています。

減数分裂期の細胞では、両親から与えられた相同な染色体は、お互いを探しだして、対合し、組換えを起こして、再び分離して卵や精子に伝えられます。この過程は染色体の構造の顕著な変化として観察されていましたが、本当にこの過程のどの段階で組換えが起こっているかは、今まで証明されていませんでした。

私達は、組換えを行う Rad51 と Lim15 蛋白質を同定したので、これらの蛋白質の抗体を作り、目印をつけて、組換えがいつ起こるのか、また、組換えを行っている染色体はどのような構造をしているかを、マウスやユリの減数分裂期の染色体を用いて調べました。今回はこれらの結果について述べて見たいと思っています。

IX. 庶務

A. 沿革

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

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

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

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。

また、平成8年度には、遺伝情報研究センターが構造遺伝学研究センターに改組され、超分子機能研究室、構造制御研究室、超分子構造研究室及び遺伝子回路研究室の改組に加え、生体高分子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8年3月31日 法律第32号

国立学校設置法

第1章 総則

（設置及び所轄）

第1条 この法律により、国立学校を設置する。

2 国立学校は、文部大臣の所轄に属する。

（国立学校）

第2条 この法律で、「国立学校」とは、学校教育法（昭和22年法律第26号）第1条に定める学校で国が設置するものをいい、第3章の3から第3章の6までに定める機関を含むものとする。

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

第3章の3 大学共同利用機関

（大学共同利用機関）

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

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

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

第4章 職及び職員

（国立学校の職）

第10条 各国立学校に置かれる職の種類は、文部省令で定める。

（国立学校に置かれる職員の任免等）

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

第5章 雑則

（命令への委任）

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

○国立学校設置法施行令（抄）

（昭和59年6月28日政令第230号）最終改正 平成8年3月27日

国立学校設置法施行令

（大学共同利用機関）

第5条 法第9条の2第1項の政令で定める目的は、大学における学術情報の流通の促進、資料の公

開等一般公衆に対する教育活動の推進及び大学における教育の発展とする。

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

大学共同利用機関の名称	目的
高エネルギー物理学研究所	高エネルギー陽子加速器による素粒子に関する実験的研究及びこれに関連する研究
国文学研究資料館	国文学に関する文献その他の資料の調査研究、収集、整理及び保存
国立極地研究所	極地に関する科学の総合研究及び極地観測
宇宙科学研究所	宇宙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8年5月11日

国立学校設置法施行規則

第4章 大学共同利用機関

（位置）

第46条 大学共同利用機関の位置は、次の表に掲げるとおりとする。

大学共同利用機関の名称	位置	大学共同利用機関の名称	位置
高エネルギー物理学研究所	茨城県	国立天文台	東京都
国文学研究資料館	東京都	核融合科学研究所	愛知県
国立極地研究所	東京都	岡崎国立共同研究機構	愛知県
宇宙科学研究所	神奈川県	学術情報センター	東京都
国立遺伝学研究所	静岡県	国立民族学博物館	大阪府
統計数理研究所	東京都	国立歴史民俗博物館	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8年5月11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
館長
台長 |
| 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うちから、文部大臣が任命する。
 - 一 国立大学の教員
 - 二 公立又は私立の大学の教員
 - 三 前二号に掲げる者以外の者
- 4 運営協議員の任期は、2年とし、その欠員が生じた場合の補欠の運営協議員の任期は、前任者の残任期間とする。
- 5 運営協議員は、非常勤とする。
- 6 運営協議員会の運営に関し必要な事項は、別に文部大臣が定める。

（客員教授等）

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

- 2 前項の規定に関し必要な事項については、別に文部大臣が定める。

（名誉教授）

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

第5章 の2 国立遺伝学研究所

（企画調整主幹）

第25条の4 国立遺伝学研究所に企画調整主幹1人を置き、教授を以て充てる。

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

(内部組織)

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

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

- 2 前項に掲げるもののほか、国立遺伝学研究所に研究施設を置く。

(管理部)

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

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

(研究系及び研究部門)

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

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

(技術課)

第25条の7 技術課においては、技術に関する専門的業務を処理する。

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

(研究施設)

第25条の8 研究施設の名称は、別表第5の3に掲げるとおりとする。

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

別表第5の2(第25条の6関係)

国立遺伝学研究所の研究部門

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

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	
構造遺伝学研究センター	
生命情報研究センター	
放射線・アイソトープセンター	
実験農場	

○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 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 教授となることができる者は、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
(助教の選考基準)

第4 助教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しないで、その職を兼ね、又はその事業若しくは事務に従事することができる。

2 前項の場合においては、国家公務員たる教育公務員にあっては国家公務員法第101条第1項の規定に基く命令又は同法第104条の規定による承認又は許可を要せず、地方公務員たる教育公務員にあっては地方公務員法第38条第2項の規程により人事委員会が定める許可の基準によることを要しない。

(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8年12月31日現在)

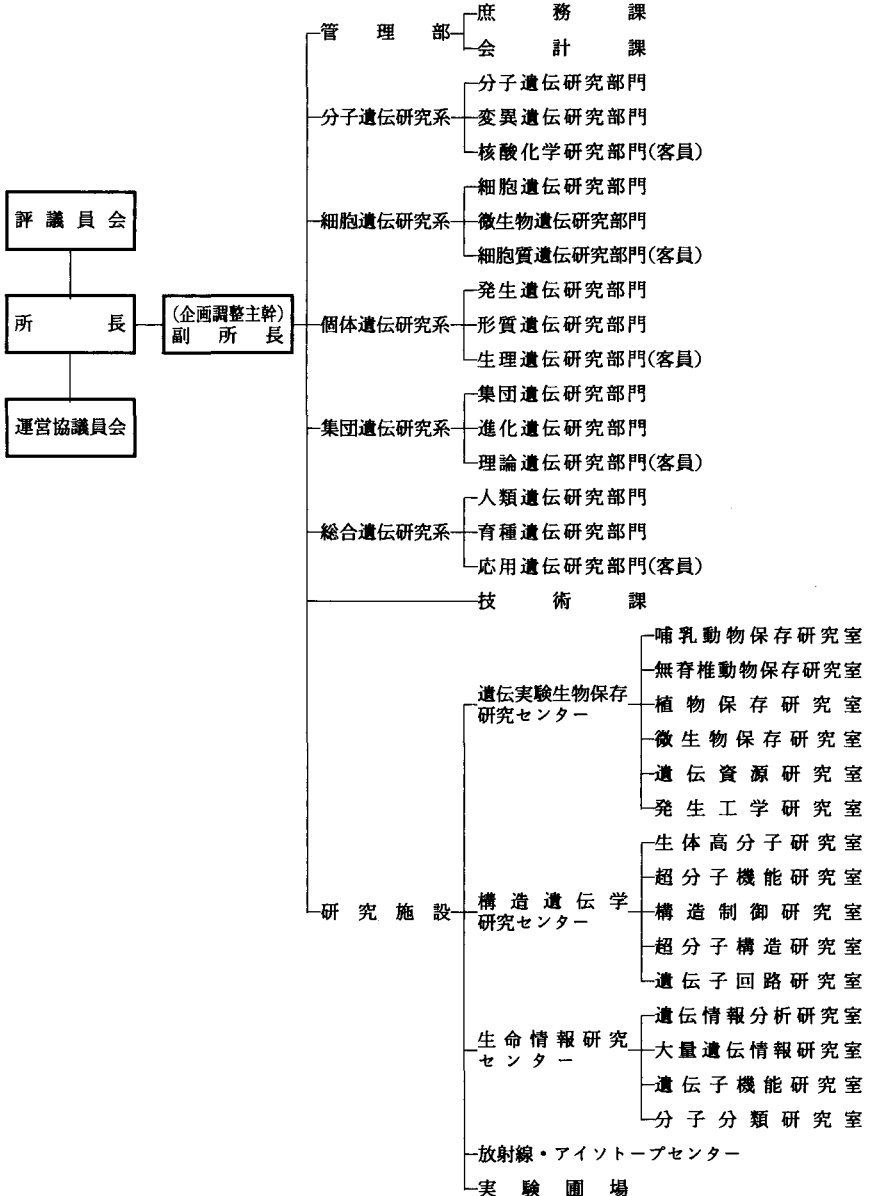
区 分	指定職	行政職 (一)	教育職 (一)	計
定 員	2	40	72	114
現 在 員	2	38 (1)	66 (2)	106 (3)

()は休職者外数

所 長

薬学博士 富澤純一

機構図 (平成 8 年 12 月 31 日現在)



国立遺伝学研究所評議員名簿

(50音順)

(平成8年12月31日現在)

現 職	氏 名	任命年月日	備 考
立教大学理学部教授	岩 槻 邦 男	平成8年6月28日	
日本学術振興会理事長	大 崎 仁	平成8年8月1日	
(株)生命誌研究館顧問	大 澤 省 三	平成8年6月28日	
名古屋大学長	加 藤 延 夫	〃	
大阪大学蛋白質研究所教授	京 極 好 正	〃	
(財)癌研究会癌研究所 名誉研究所長	菅 野 晴 夫	〃	
東 邦 大 学 長	杉 村 隆	〃	
(財)かずさDNA研究所長	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	
広島市立大学長	田 中 隆 莊	平成8年6月28日	
大阪府立成人病センター総長	豊 島 久真男	〃	
東京大学名誉教授	野 島 庄 七	〃	
お茶の水女子大学 ジェンダー研究センター教授	原 ひろ子	〃	
大阪府立大学長	平 紗 多賀男	〃	
総合研究大学院大学長	廣 田 榮 治	〃	
大阪大学 細胞生体工学センター教授	松 原 謙 一	〃	
学習院大学 生命分子科学研究所長	三 浦 謹一郎	〃	
日本女子大学長	宮 本 美沙子	〃	
岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研究所長	毛 利 秀 雄	〃	
(財)日本生物科学研究所 主任研究員	山 内 一 也	〃	

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8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8年6月20日	副会長
神戸大学教授（理学部）	磯野 克 己	”	
京都大学教授（ウイルス研究所）	伊藤 維 昭	”	
東京大学教授（医科学研究所）	勝木 元 也	”	
名古屋大学教授（大学院理学研究科）	郷 通 子	”	
福岡歯科大学教授（歯学部）	関口 睦 夫	”	
東京大学教授（大学院理学系研究科）	田嶋 文 生	”	
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	”	
東京大学教授（大学院理学系研究科）	堀田 凱 樹	”	

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（総合遺伝研究系）	沖野 啓 子 （森島）	平成7年4月1日	会 長
教授（分子遺伝研究系）	石 濱 明	平成8年6月20日	
教授（細胞遺伝研究系）	小川 智 子	”	
教授（細胞遺伝研究系）	堀内 賢 介	”	
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（遺伝実験生物保存研究センター）	中 辻 憲 夫	平成8年6月20日	
教授（構造遺伝学研究センター）	桂 勲	”	
教授（生命情報研究センター）	五條 堀 孝	”	

平成8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
光塩学園女子短期大学教授	木 下 俊 郎
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
国立衛生試験所安全性生物試験研究センター変異遺伝部第三室長	水 沢 博
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 邊 隆 夫

平成8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
(財) 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遺伝資源第二部 DNA 管理情報科長	鶴 川 義 弘
京都女子大学教授 (家政学部)	大 井 龍 夫
日本科学技術情報センター研究基盤情報部長	小 野 寺 夏 生
京都大学教授 (化学研究所)	金 久 實
名古屋大学教授 (大学院理学研究科)	郷 通 子
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情報研究部がん診療支援情報研究室長	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8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8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	文部教官 教 授	農学博士	冲 野 啓 子	(8. 4. 1)
企画調整主幹 (併)			(森 島)	

分子遺伝研究系 研究主幹(併) 石濱 明

分子遺伝研究部門	文部教官 教 授	理学博士	石 濱 明	59. 4. 12
	文部教官 助 手	理学博士	藤 田 信 之	59. 8. 1
	文部教官 助 手	理学博士	光 澤 浩	8. 2. 1
	文部教官 助 手	博士(理学)	木 村 誠	8. 4. 1
変異遺伝研究部門	文部教官 助教授	理学博士	山 尾 文 明	元. 9. 1
	文部教官 助 手	博士(工学)	岸 努	5. 4. 1
	文部教官 助 手	博士(理学)	清 野 浩 明	6. 7. 1
核酸化学客員研究部門	非 常 勤 講 師	理学博士	水 本 清 久	8. 4. 1
	非 常 勤 講 師	薬学博士	森 川 耿 右	6. 4. 1

細胞遺伝研究系 研究主幹(併) 堀内賢介

細胞遺伝研究部門	文部教官 教 授	薬学博士	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	博士(医学)	太 田 力	8. 4. 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	医学博士	山 村 研 一	7. 4. 1
	非 常 勤 講 師	理学博士	平 岡 泰	8. 4. 1

個体遺伝研究系 研究主幹(併) 廣瀬 進

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	理学博士	廣 海 健	8. 10. 1
	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	医学博士	半 田 宏	8. 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) 池村淑道

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)	齊 藤 成 也	3. 1. 16
	文部教官 助 手	農学博士	松 本 健 一	63. 4. 1
	文部教官 助 手	博士(農学)	天 前 豊 明	6. 4. 1
理論遺伝客員研究部門	文部教官 教授	理学博士	高 畑 尚 之	4. 4. 1
	文部教官 教授	理学博士	深 田 吉 孝	8. 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	實 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	才 宏 偉	8. 4. 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 助教授	農学博士	倉 田 の り	8.10. 1
	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(休)	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

構造遺伝学研究センター センター長(併) 桂 勲

生体高分子研究室				
超分子機能研究室	文部教官 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
構造制御研究室	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
超分子構造研究室	文部教官 助教授	理学博士	白木原 康 雄	7. 8. 15
	文部教官 助手	理学博士	秋 葉 俊 彦	8. 9. 16
遺伝子回路研究室	文部教官 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

部 門 別	官 職 名	学 位	氏 名	任用年月日
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
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
	文部教官 助手	博士(理学)	太 田 元 規	8. 8. 1
遺伝子機能研究室	文部教官 教授	Ph.D. 理学博士	館 野 義 男	63. 4. 1
	文部教官 助手	学術博士	小 林 薫 (深海)	8. 4. 1
分子分類研究室	文部教官 教授	工学博士	菅 原 秀 明	8. 2. 1
	文部教官 助手	理学修士	宮 崎 智	8. 8. 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

	文部教官 助手	博士(農学)	野々村 賢 一	8.10. 1
--	---------	--------	---------	---------

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
杉 山 勉	石巻専修大学理工学部教授	8. 4. 1
瀬 野 悞 二	元国立遺伝学研究所教授	8. 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
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	黒田 英雄	8. 4. 1
庶務課 長	當麻 均	8. 7. 1
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
研究協力係 長	山本 勉	45. 4. 1
共同研究係 長	村松 祐	8. 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
庶務主任	長澤 明子(休)	50. 3. 15
人事主任	八木 正行	8. 4. 1
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
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)	佐藤 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
植 物・微 生 物 班 長	妹 尾 治 子	38. 1. 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	石 井 百 合 子	39. 7. 1
植 物・微 生 物 班 第 二 技 術 係 長	杉 本 典 夫	37. 11. 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	原 登 美 雄	46. 9. 1
動 物 班 第 二 技 術 係 員	山 本 博	3. 4. 1
植 物・微 生 物 班 第 一 技 術 係 員	永 口 貢	63. 4. 1
植 物・微 生 物 班 第 一 技 術 係 員	宮 林 登 志 江	2. 4. 1
植 物・微 生 物 班 第 二 技 術 係 員	芦 川 祐 毅	35. 4. 1
機 器 班 第 一 技 術 係 員	芦 川 東 三 夫	36. 4. 16
機 器 班 第 二 技 術 係 員	境 雅 子	47. 12. 5
機 器 班 第 二 技 術 係 員	最 美 あ か ね	8. 11. 1

退職者 転出者等

職 名	氏 名	在 職 期 間	備 考
分 子 遺 伝 研 究 系 教 授	瀬 野 悞 二	昭63. 1. 1~ 平 8. 3. 31	停年退職
個 体 遺 伝 研 究 系 教 授	杉 山 勉	昭47. 9. 12~ 平 8. 3. 31	停年退職
庶 務 課 庶 務 主 任	山 本 す み 子	昭38. 9. 1~ 平 8. 3. 31	停年退職
機 器 班 第 二 技 術 係 長	井 出 正 美	昭32. 4. 1~ 平 8. 3. 31	辞職
管 理 部 長	河 野 憲 司	平 6. 4. 1~ 平 8. 3. 31	京都大学企画調整官へ
庶 務 課 共 同 研 究 係 長	秋 山 啓 剛	平 6. 4. 1~ 平 8. 3. 31	静岡大学理学部 庶務係長へ
庶 務 課 人 事 係 員	太 田 勝 広	平 5. 4. 1~ 平 8. 3. 31	静岡大学 電子工学研究所へ

職 名	氏 名	在 職 期 間	備 考
総合遺伝研究系助手	平野博之	昭63.12.1～ 平8.4.30	東京大学大学院農学 生命科学研究科助教へ
庶務課長	佐藤繁	平7.7.10～ 平8.5.3	死亡

平成8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
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	構造遺伝学 研究センター	平7.12.4～ 平8.11.30
Alexeev Andrei Alexeevich	ロシアセントピー タースブルグ核物 理学研究所研究員	減数分裂期組換えに 関与する蛋白質機能 の解析	細胞遺伝研究部門	平8.5.30～ 平9.5.29

大学院学生（特別研究学生）

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 大学院大学情報科学 研究科 (博士課程)	平7.10.1～ 平8.9.30
寺澤匡博	減数分裂期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 (博士課程)	平8.4.1～ 平8.9.30
大野みずき	ゲノムインプリンティングと染色体構築	九州大学大学院 分子生命科学研究科 (博士課程)	平8.4.1～ 平8.9.30
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9.6.30
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9.3.31
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8.4.1～ 平9.3.31
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8.4.1～ 平9.3.31

氏名	研究課題	所属	受入期間
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 (博士課程)	平.8. 4. 1~ 平.9. 3.31
上田佳宏	Sox 遺伝子ファミリーのマウス亜種間文化	福山大学大学院 工学研究科 (博士課程)	平.8. 4. 1~ 平.9. 3.31
鈴木善幸	病原ウイルスの分子進化	秋田大学大学院 医学研究科 (博士課程)	平.8. 4. 1~ 平.9. 3.31
清水邦彦	骨形成異常を示すマウス (Ts) のポジショナルクローニング	日本大学大学院 松戸歯学研究科 (博士課程)	平.8.10. 1~ 平.9. 3.31

受託研究員

氏名	所属会社名又は機関名	研究課題	受入れ研究部門等	研究期間
新井理	株式会社帝人システムテクノロジー	ウイルス遺伝子の進化的研究	生命情報研究センター	平.8. 4. 1~ 平.9. 3.31
太田俊也	静岡県沼津工業技術センター	微生物からの有用酵素遺伝子のクローニング	微生物遺伝研究部門	平.8. 7. 1~ 平.8.12.28
志甫理	武田薬品工業株式会社創業研究本部	神経系細胞株の樹立	遺伝実験生物保存研究センター	平.8. 7.15~ 平.9. 1.14
山崎正明	株式会社不二家バイオサイエンス研究所	高等生物ゲノムの遺伝情報解析法	生命情報研究センター	平.8. 8. 1~ 平.9. 1.31
澤田宏之	農業環境技術研究所	<i>Pseudomonas</i> 属細菌の病原性分化に関する分子進化的研究	進化遺伝研究部門	平.8. 9. 1~ 平.8.11.19
福田達也	中外製薬株式会社富士御殿場研究所	マウス個体を用いた突然変異検出系の開発	遺伝実験生物保存研究センター	平.8.10. 1~ 平.9. 3.31

研究生

氏名	受入研究部門	受入期間
廉勝植	発生遺伝研究部門	8. 4. 1~9. 3.31
寺社下美樹	分子遺伝研究部門	8. 4. 1~9. 3.31
野村扶	分子遺伝研究部門	8. 4. 1~9. 3.31
三戸部治郎	分子遺伝研究部門	8. 6. 1~9. 3.31
高橋良知	形質遺伝研究部門	8. 7. 1~9. 6.30

C. 土地及び建物

(平成8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)	12,190 m ²	
	(延べ面積)	24,569 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
構造遺伝学研究センター棟	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
電子計算機棟	鉄筋コンクリート造り3階建	347	1,064
計		12,190	24,569

D. 予 算 (平成8年度当初予算(項)研究所)

人	件	費	811,002 (単位: 千円)
物	件	費	2,192,952
合		計	3,003,954

E. 奨学寄附金・受託研究費

平成8年奨学寄附金受入

奨学寄附金 67,258.6千円

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
福島市松川町美郷四丁目1番地の1 株式会社 創薬技術研究所 代表取締役 森岡茂夫	1,000,000円	インフルエンザウイルス増殖機構の研究	
神奈川県鎌倉市梶原200番地 株式会社 エイジーン研究所 代表取締役社長 繁田寛昭	1,000,000円	藤澤敏孝助教教授に係る研究助成	
東京都江戸川区北葛西一丁目16番13号 第一製薬株式会社 創薬第一研究所長 早川勇夫	1,000,000円	インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼに関する研究の助成のため	
東京都豊島区高田3丁目25番3号 財団法人 上原記念生命科学財団 理事長 上原小枝	2,000,000円	研究助成	
静岡県三島市谷田桜ヶ丘1171-195 財団法人 遺伝学普及会 会長 近藤典生	500,000円	遺伝実験生物保存研究センター後藤助手及び変異遺伝研究部門清野助手への研究助成(海外渡航費)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	2,000,000円	哺乳動物遺伝学に対する研究助成	
静岡県三島市文教町1-4-60 文教住宅4-101 無脊椎動物保存研究室 林茂生	1,300,000円	ショウジョウバエ気管系をモデルとした細胞間認識の研究推進の為	
福島市松川町美郷四丁目1番地の1 株式会社 創薬技術研究所 代表取締役 森岡茂夫	1,000,000円	インフルエンザウイルス増殖機構の研究	
神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番 日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社 取締役社長 佐藤 孜	20,000,000円	遺伝情報分析に関する研究助成(遺伝情報分析に関する新たな分析アルゴリズムの開発を支援するため)	
大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 創薬研究本部 創薬研究本部長 目黒寛司	1,000,000円	発生工学研究室に対する研究助成	
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	「インターロイキン4のシグナル伝達機構の解明」に対する研究助成	
静岡県御殿場市駒門1-135 中外製薬株式会社 創薬開発研究所 所長 牛尾秀敏	1,000,000円	哺乳動物遺伝学の研究助成のため	

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)	奨学寄附金 納付額	寄附金の目的及び条件	備考
大阪市生野区巽西1丁目8番1号 財団法人 山田科学振興財団 理事長 山田安定	2,000,000円	マウス四肢形態形成の遺伝学的解析	
東京都港区芝2丁目3番3号 財団法人 日本情報処理開発協会 先端情報技術研究所 常務理事 市川隆	1,500,000円	工学研究のため	
静岡県三島市谷田桜ヶ丘1171-195 財団法人 遺伝学普及会 会長 森協和郎	250,000円	国立遺伝学研究所構造遺伝学研究センター非常勤研究員加畑博幸氏への研究助成(海外渡航費)	
東京都千代田区丸の内1-4-5 公益信託 成茂動物科学振興基金 受託者 三菱信託銀行株式会社 取締役本店営業部長 矢野豊	500,000円	ミドリイシサンゴの遺伝的多様性 服田昌之助手に対する研究助成	
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 常務取締役研究所長 志村令郎	700,000円	細胞周期調節系の分子遺伝学的解析研究に対する研究助成	
川崎市中原区上小田中4丁目1番1号 富士通株式会社 代表取締役社長 関澤義	25,000,000円	生命情報に関する研究の推進及び国際交流、国際シンポジウム等の研究活動助成のため	
横浜市青葉区鶴志田町1000番地 三菱化学株式会社 研究開発本部 横浜総合研究所 取締役所長 和田啓輔	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	
川崎市中原区上小田中4丁目1番1号 富士通株式会社 代表取締役社長 関澤義	708,600円	分子進化学におけるDNAデータ解析の並列処理に関する研究を推進するため	
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 常務取締役研究所長 志村令郎	500,000円	西川 建教授に対する研究助成	
東京都千代田区有楽町1-1-2 旭化成工業株式会社 専務取締役研究開発本部長 田畑晴郎	500,000円	発生效工学研究室におけるint-3に関する研究助成	
京都府相楽郡木津町州見台6-5-1-3 バイエル薬品株式会社 アレルギー研究所 所長 樽林陽一	1,500,000円	研究助成金	
京都府相楽郡精華町光台3丁目4番地 松下電器産業株式会社研究本部中央研究所 取締役所長 新田恒治	400,000円	タンパク質X線構造解析技術への助成	
合 計	67,258,600円		

平成 8 年受託研究受入

受託研究費 85,831.7 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)
遺伝的組換え機 構を基礎とした 遺伝操作技術の 確立	細胞遺伝研究部門 教授 小川 智子	自平成 8 年 4 月 1 日 至平成 9 年 3 月 31 日	新エネルギー・産業技 術総合開発 機構	9,655,000
DNA 塩基配列に 基づくタンパク 質の機能予測の方 法の総合的 研究開発	生命情報研究セン ター 教授 五條 堀 孝	自平成 8 年 4 月 1 日 至平成 9 年 3 月 31 日	新エネルギー・産業技 術総合開発 機構	6,756,000
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 濱 明	自平成 8 年 4 月 1 日 至平成 9 年 3 月 31 日	新エネルギー・産業技 術総合開発 機構	8,239,700
線虫全発生過程 の遺伝子発現プ ログラム	構造遺伝学研究セン ター 教授 小原 雄 治	自平成 8 年 9 月 13 日 至平成 9 年 3 月 31 日	新技術事業 団	17,789,000
初期胚細胞系列 に由来する幹細 胞の制御機構の 研究	遺伝実験生物保存研 究センター 教授 中 辻 憲 夫	自平成 8 年 9 月 20 日 至平成 9 年 3 月 31 日	理化学研究 所	5,518,000
発生におけるパ ターン形成機構	遺伝実験生物保存研 究センター 助教授 林 茂 生	自平成 8 年 10 月 1 日 至平成 9 年 3 月 31 日	日本学術振 興会	24,602,000
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	構造遺伝学研究セン ター 教授 嶋 本 伸 雄	自平成 8 年 10 月 28 日 至平成 9 年 3 月 19 日	農業生物資 源研究所	12,372,000
筋ジストロフィー 及び関連臨床 疾患の治療法に 関する研究	人類遺伝研究部門 助教授 寶 来 聰	自平成 8 年 11 月 1 日 至平成 9 年 3 月 31 日	国立精神・ 神経センタ ー	900,000
合 計				85,831,700

F. 日 誌

1月18日	第51回運営協議員会
3月5日	第52回運営協議員会
3月19日	第26回評議員会
4月13日	一般公開
4月30日	第53回運営協議員会
6月13日	第54回運営協議員会
6月26日	第27回評議員会
10月15日	第55回運営協議員会
11月16日	公開講演会

教授会 議

1月9日	第217回	1月30日	第218回
2月27日	第219回	3月12日	第220回
3月26日	第221回	4月9日	第222回
4月23日	第223回	5月21日	第224回
6月11日	第225回	6月25日	第226回
7月23日	第227回	9月10日	第228回
9月24日	第229回	10月22日	第230回
11月12日	第231回	12月10日	第232回
12月24日	第233回		

外国からの主な来訪者

平成6年 6月9日～	才宏伟, 北京農業大学, 中国
平成8年 3月31日	
平成8年 1月24日	Eric Dabbs, University of the Witwatersrand, South Africa
2月26日	Marek Jindra, University of Washington, U.S.A.
3月14日	Thomas C. G. Bosch, University of Munich, Germany
3月28日	Olga N. Ozoline, Institute of Cell Biophysics, Russia
4月4日	Richard L. Gourse, University of Wisconsin, U.S.A.
4月4日	J. Pittard, University of Melbourne, Australia
4月11日	Susan Garges, NCI, National Institutes of Health, U.S.A.
4月11日	Hermann Heumann, Max-Planck-Institute für Biochemie, Germany
5月13日	Joe Bryan, Baylor College of Medicine, U.S.A.
5月16日	Claire Stuart, Mayor of New Plymouth, New Zealand

- 5月22～23日 Marcy K. Uyenoyama, Duke University, U.S.A.
- 6月6日 Claude Meares, University of California at Davis, U.S.A.
- 6月7日 Authur Buchberg, Jefferson Medical College, U.S.A.
- 6月24日 Ian Humphery-Smith, University of Sydney, Australia
- 9月12日 Robert E. Glass, Nottingham University, U.K.
- 9月12日 Enrique Alberto Fugueroa, National Institute of Agriculture Technology, Argentina
- ” Adel Mohamed Abd El Razek Ghoneim, Rice Research and Training Center, Egypt
- ” Rapolu Mahender Kumar, Directorate of Rice Research, India
- ” Daniel Atula Masatia, National Irrigation Board, Ahero Irrigation Research Station, Kenya
- ” Zulkifli Bin Romli, Muda Agricultural Development Authority, MADA Headquarters, Malaysia
- ” Muhammad Imtiaz Ali Asad, Rice Research Institute, Pakistan
- ” Maria Chona E. Maleza, Bohol Agricultural Promotion Center, Department of Agriculture, Philippines
- ” Julmanee Pithuncharunlap, Rice and Field Crops Promotion Division, Department of Agricultural Extension, Thailand
- 9月19日 Rudolf Balling, Institut für Saugetiergenetik, Germany
- 10月1～31日 John H. Gillespie, University of California at Davis, U.S.A.
- 10月17日 Richard S. Hayward, University of Edinburgh, U.K.
- 10月17日 Andrew Gooley, Macquarie University, Australia
- 10月21日 Charles Auffray, CNRS Research Unit on Molecular Genetics and Developmental Biology, France
- 10月24日 Thomas W. Holstein, JW Goethe University, Germany
- 11月11日 Edward H. Egleman, University of Minnesota, U.S.A.
- 12月3日 Kiyoshi Mizuuchi, NIDDK, National Institutes of Health, U.S.A.
- 12月5日 Pavel Pevzner, University of Southern California, U.S.A.
- 12月9日 James A. Weston, University of Oregon, U.S.A.
- 12月20日 Noboru Sueoka, University of Colorado at Boulder, U.S.A.
- 12月25日 Marcy Uenoyama, Duke University, U.S.A.

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461回 1月12日
1. 出芽酵母 CDC34 による細胞周期調節 (岸 努)
 2. 遺伝子系統樹から何が言えるのか—ヒト・ウマ・マウスを例として (斎藤成也)
- 第462回 1月19日
1. Notch 相同遺伝子 int-3 のクローニングと発現 (白吉安昭)
 2. 動物形態形成のモデル生物としてのヒドラ (服田昌之)
- 第463回 1月26日
1. 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)
 2. 繊維状フェージのマイナス鎖 DNA 複製オリジンについて (堀内賢介)
- 第464回 3月1日 神経ペプチドの構造と活性に関する比較的考察 (宗岡洋二郎)
- 第465回 3月8日 私の研究の再点検 (瀬野悍二)
- 第466回 3月15日 ヒドラの発生過程を制御するペプチド性シグナル分子 (杉山 勉)
- 第467回 3月22日
1. 神経特異的蛍光マーカーを用いた *C. elegans* の神経機構の解析 (石原 健)
 2. 植物の一年生か多年生かを決める遺伝子はあるか? (森島啓子)
- 第468回 4月5日
1. 転写因子 Brachyury とホモロジーを持つ *C. elegans* 遺伝子の解析 (安達佳樹)
 2. 遺伝子の機能を探る—“Epoxidase”を例として (館野義男)
- 第469回 4月12日
1. 減数分裂期組換えに関与する蛋白質機能 (小川智子)
 2. ヒト染色体バンド構造の機能的意味 (池村淑道)
- 第470回 4月19日
1. タンパク質の DNA 上のスライディングの生物学的意味 (嶋本伸雄)
 2. 大腸菌の細胞壁生合成 / 細胞分裂遺伝子クラスター (原 弘志)
- 第471回 4月26日
1. 昆虫 (カイコ) の生長・老化の遺伝学的研究 (村上昭雄)
 2. マウス胎仔生殖細胞の発生分化機構 (中辻憲夫)
- 第472回 5月10日 Dauer 形成異常を指標とした神経系突然変異の分離 (鈴木教郎)
- 第473回 5月17日
1. RNA ポリメラーゼと転写因子相互作用の分子論的研究 (根岸智史)
 2. 繊維状フェージ複製開始蛋白の構造と機能 (浅野 敏)

- 第474回 5月31日 1. クロマチン構造を介した *fushi tarazu* 遺伝子の転写制御 (岡田聖裕)
2. 線虫の神経回路での情報処理機構～グリシンレセプターの発現様式と遺伝子破壊の解析から～ (藤原 学)
- 第475回 6月7日 1. RNA ポリメラーゼ α サブユニットC末端ドメインとCRP及びDNAエンハンサーエレメントとの相互作用の解析 (村上勝彦)
2. 細胞分裂欠損による増殖停止の分子機構 (鷓飼英樹)
- 第476回 6月14日 1. 大腸菌複製終結点結合蛋白質 (Tus) と TerDNA の複合体結晶構造解析 (鎌田勝彦)
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)
- 第477回 6月21日 1. FTZ-F1 の標的遺伝子 EDG84A の転写制御機構 (上田 均)
2. 主要組織適合抗原の遺伝的多様性に関する諸問題 (太田朋子)
- 第478回 6月28日 σ 因子はなぜ2ヶ所の配列を認識するのか (藤田信之)
- 第479回 7月5日 1. 選択的タンパク分解と細胞周期制御 (山尾文明)
2. 超らせん化因子の細胞内局在 (広瀬 進)
- 第480回 7月12日 1. ヒドラ細胞外マトリックスの消失, 再生パターンと頭部再生 (清水 裕)
2. 細胞外マトリックス・テネイシン X の機能解析 (松本健一)
- 第481回 7月19日 1. 細胞分裂期の開始および完了に必須なユビキチン転移酵素 (清野浩明)
2. Dpp (BMP-2/4) によるショウジョウバエ翅・肢の形成メカニズム (後藤 聡)
- 第482回 7月26日 1. 昆虫の完全変態機構の起源について (湊 清)
2. イネの初期胚発生で発現するホメオボックス遺伝子 (伊藤幸博)
- 第483回 9月6日 1. インターロイキン4のシグナル伝達機構 (出原賢治)
2. 新しい近交系マウスを用いた量的形質へのアプローチ (小出剛)
- 第484回 9月13日 1. ヒト MHC の DNA 複製タイミングの解析とその転換機構 (天前豊明)
2. 線虫 *C. elegans* ゲノムの発現パターンマップ構築 (小原雄治)
- 第485回 9月20日 1. 枯草菌孢子形成開始におけるシグナル伝達と転写制御 (藤田昌也)
2. 系統情報データベースの現状と今後について (山崎由紀子)

- 第486回 9月27日 1. 転写制御因子 PhoB 蛋白, CamR リプレッサ蛋白の結晶解析 (白木原康雄)
2. データベース解析によるタンパク質の立体構造予測 (西川建)
- 第487回 10月11日 1. ゲノム情報解析の現状と将来 (五條堀 孝)
2. 出芽酵母の減数分裂期組換え開始機構の *in vivo* での解析 (田中茂生)
- 第488回 10月18日 1. ゲノムリソース整備の現状と将来 (藤山秋佐夫)
2. 真核生物のゲノムサイズを一定に保つ機構 (林 茂生)
- 第489回 10月25日 松果体において概日時計の位相を調節する光シグナル変換系 (深田吉孝)
- 第490回 11月 1日 転写メディエータ MBF1 のクローニングと機能解析 (竹丸憲一)
- 第491回 11月 8日 1. ヒト染色体上の重複領域の探索 (今西 規)
2. 形態形成遺伝子の進化的保守性と“隠れた多様性” (城石俊彦)
- 第492回 11月15日 1. FTZ-F1 の MUltants について (山田正明)
2. DnaA 蛋白の諸機能と複製について (安田成一)
- 第493回 11月22日 1. ミトコンドリア DNA からみたアジア人集団の成り立ち (宝来聰)
2. σ 因子とプロモーター “-10 領域” の非鋳型鎖との相互作用: 繊維状ファージ複製開始機構から得られた知見 (東谷篤志)
- 第494回 11月29日 ヒドラペプチドプロジェクトの現状 (藤沢敏孝)
- 第495回 12月13日 1. 微生物ゲノム解析の実際 (定家義人)
2. 転写開始因子 σ とコア酵素・DNA との相互作用: or wrestling with gel electrophoresis (永井宏樹)
- 第496回 12月20日 哺乳類発生の遺伝学的解析 (山村研一)

Biological Symposium

- 第464回 1月24日 Cloning of Genes for Rifampicin Inactivation from Mycobacteria and other Organisms (Eric Dabbs)
- 第465回 2月26日 Cloning and Expression of the Ecdysone Receptor and Ultrastructure Homologs in *Manduca sexta* (Marek Jindra)
- 第466回 3月14日 Molecular analysis of pattern formation in *Hydra* (Thomas C. G. Bosch)
- 第467回 3月28日 Promoter Activation by *E. coli* RNA Polymerase: Alternative Programs (Olga N. Ozoline)
- 第468回 4月 4日 Regulation of rRNA Transcription (Richard L. Gourse)
- 第469回 4月 4日 The Role of Antisense RNA and a Pseudoknot in Controlling Replication of B Group Plasmids (J. Pittard)

- 第470回 4月11日 Transcription Activation by the Cyclic AMP Receptor Protein (Susan Garges)
- 第471回 4月11日 Structure and Function of E. coli RNA Polymerase: The Translocation Process (Hermann Heumann)
- 第472回 5月13日 ATP-sensitive K⁺ channels and Insulin Secretion (Joe Bryan)
- 第473回 6月7日 Of mice and Meisl: the identification of a novel homeobox gene and its role in myeloid leukemia (Arthur Buchberg)
- 第474回 6月6日 Mapping the Surface of RNA Polymerase with Metal Ions (Claude Meares)
- 第475回 6月24日 Proteome Research: Complementarity and limitations with respect to the DNA and RNA worlds (Ian Humphery-Smith)
- 第476回 9月12日 Genetic and Immunological Dissection of the Beta-Subunit of RNA Polymerase (Robert E. Glass)
- 第477回 9月19日 The Role of Pax Genes in Organogenesis (Rudolf Balling)
- 第478回 10月17日 Wrestling with E. coli Sigma: Results of Kon-Basho (Richard S. Hayward)
- 第479回 10月17日 Proteomics, towards a full description of the cell readout (Andrew Gooley)
- 第480回 10月21日 IMAGE: Integrated Molecular Analysis of the human Genome and its Expression (Charles Auffray)
- 第481回 10月24日 Function and Molecular Structure of Nematocytes. A one vesicle system of exocytosis (Thomas W. Holstein)
- 第482回 11月11日 Helical Filaments and Hexameric Rings in DNA Replication and Recombination: A Single Conserved Structure (Edward H. Egelman)
- 第483回 12月3日 Site-specific recombinases: enzymes or building blocks in morphogenesis? (Kiyoshi Mizuuchi)
- 第484回 12月9日 LINEAGE COMMITMENT AND FATE OF NEURAL CREST-DERIVED SUBPOPULATIONS (James A. Weston)
- 第485回 12月5日 TRANSFORMING MEN INTO MICE (Pavel Pevzner)
- 第486回 12月20日 Evolution of Genome Composition: Effect of Mutation Pressure and Selection (Noboru Sueoka)
- 第487回 12月25日 The Evolution of Self-incompatibility in Natural Populations of Flowering Plants (Marcy Uyenoyama)

三島遺伝談話会

- 第482回 1月18日 情報理論の遺伝子解析への適用 (宮崎 智)

- 第483回 2月22日 解糖系酵素アルドラーゼの分子進化: 脊椎動物アイソザイムの組織特異的機能はどのように獲得されたか (堀 勝治)
- 第484回 2月26日 レトロポソンの分子生物学とその応用 (岡田典弘)
- 第485回 2月23日 情報理論からみた分子進化学 (田中 博)
- 第486回 2月23日 アジアの野生イネの遺伝的多様性と分化 (才 宏偉)
- 第487回 3月18日 ショウジョウバエ複眼におけるニューロン多様性生成の分子機構 (広海 健)
- 第488回 3月21日 微小核形成と DM (double minute chromosome) 染色体の取り込み (清水典明)
- 第489回 4月 1日 線虫における非対称分裂の制御機構 Wnt とリセプター様分子の役割 (沢 斉)
- 第490回 4月18日 3D-1D 法による蛋白質のホモロジーサーチ (太田元規)
- 第491回 4月24日 Genetics of Atopy (白川太郎)
- 第492回 5月15日 “右と左” は、どのようにして決定されるのか? (横山尚彦)
- 第493回 5月29日 電子顕微鏡で得られたチトクローム bcl 複合体の構造 (秋葉俊彦)
- 第494回 6月20日 生体分子間相互作用のイメージング—分子間力顕微鏡の開発— (徳永万喜洋)
- 第495回 8月 1日 大腸菌の膜結合型 ATP 依存性メタロプロテアーゼ FtsH—AAA ファミリータンパク質の構造と機能 (小椋 光)
- 第496回 9月17日 マイクロ遺伝子の重合から遺伝子を創る試み (芝 清隆)
- 第497回 10月30日 eIF2 α キナーゼの基質認識機構 (小林-川岸万紀子)
- 第498回 12月 5日 タンパク質結晶学と構造生物学 (三木邦夫)
- 第499回 12月18日 蝶の翅の模様を決める機構—鱗粉の色の決定と発生の進行度との関係— (高山絵理子)
- 第500回 12月19日 線虫 *C. elegans* の神経ネットワーク形成に必要な unc-51, unc-14, 遺伝子の機能解析 (小倉頭一)

H. 栄 誉

構造遺伝学研究センター教授嶋本伸雄は、「DNA と蛋白質とのナノバイオロジー」により、平成 8 年 5 月 21 日、齊藤賞を受賞した。

I. 図書及び出版

図書委員会委員長 (1996 年度)	西 川 建
図書委員会委員 (1996 年度)	池 村 淑 道・城 石 俊 彦・藤 田 信 之 東 谷 篤 志・服 田 昌 之・上 田 均 出 原 賢 治・才 宏 偉・永 井 宏 樹

1) 蔵書数

和書	3,250 冊	製本雑誌を含む
洋書	16,392 冊	〃
計	19,642 冊	

2) 1996年図書増加冊数

和書	14 冊	製本雑誌を含む
洋書	115 冊	〃
計	129 冊	

3) 雑誌

	購入	寄増	計	備考
和文	17 種	1 種	18 種	
欧文	152 種	2 種	154 種	国内欧文誌含む
計	169 種	3 種	172 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 46 号	242	700 部	国内研究機関, 大学, 試験場ほか
Ann. Rep. Natl. Inst. Genet. No. 46	179	900 部	内外研究機関, 大学, 試験場ほか

5) 1996年購入外国雑誌リスト

1. Acta Crystallographica D: Biological Crystallograph
2. Agriculture, Ecosystems and Environment
3. Agronomy Journal
4. American Journal of Botany
5. American Journal of Human Genetics
6. American Naturalist
7. Analytical Biochemistry
8. Animal Behaviour
9. Annales de Genetique
10. Annals of Human Genetics
11. Archives of Virology
12. Behavior Genetics

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

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

87. Journal of Experimental Medicine
88. Journal of Experimental Zoology
89. Journal of General Virology
90. Journal of Genetics
91. Journal of Heredity
92. Journal of Immunology
93. Journal of Insect Physiology
94. Journal of Medical Genetics
95. Journal of Molecular Biology
96. Journal of Molecular Evolution
97. Journal of Virology
98. Korean Journal of Genetics
99. Lancet
100. Macromolecular Structures
101. Mammalian Genome
102. Mechanisms of Development
103. Microbiological Reviews
104. Microbiology
105. Molecular & General Genetics
106. Molecular Biology and Evolution
107. Molecular Biology of the Cell
108. Molecular Endocrinology
109. Molecular Microbiology
110. Molecular and Cellular Biology
111. Mutation Research
112. Nature
113. Nature Biotechnology
114. Nature Genetics
115. Nature Structural Biology
116. Neuron
117. New England Journal of Medicine
118. Nucleic Acids Research
119. Oncogene
120. Plant Breeding
121. Plant Breeding Abstracts
122. Plant Cell
123. Plant Journal

124. Plant Molecular Biology
125. Plant Physiology
126. Plant Science
127. Plasmid
128. Proceedings of the National Academy of Sciences of U.S.A.
129. Proceedings of the Royal Society: ser. B Biological Sciences
130. Protein Engineering
131. Protein Science
132. Proteins
133. Quarterly Review of Biology
134. Quarterly Reviews of Biophysics
135. RNA
136. Radiation Research
137. Research in Microbiology + Res. in Virology
138. Revista Brasileira de Genetica
139. Science
140. Scientific American
141. Sexual Plant Reproduction
142. Somatic Cell & Molecular Genetics
143. Structute
144. Theoretical & Applied Genetics
145. Theoretical Population Biology
146. Trends in Biochemical Sciences
147. Trends in Cell Biology
148. Trends in Genetics
149. Trends in MicroBIOLOGY
150. Trends in Neurosciences
151. Trends in Plant Science
152. Virology
153. Virus Research
154. Yeast

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	森脇和郎
常務理事	五條堀 孝, 中辻憲夫
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, 重藤學二
評 議 員	田島彌太郎, 大島長造, 斎藤日向, 松永 英, 吉野達治, 高垣善男, 瀬野惇二, 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す。特色ある 5 大講座を設置します。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、遺伝実験生物保存研究センター、構造遺伝学研究センター、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	集団の遺伝的構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. 年度別入学者数

(定員6)

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	平成 8年度
入学者数	9 (1)	5 (4)	8 (3)	11 (2)	13 (1)	8 (1)	9 (2)	9 (1)

() 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	平成 7年度
課程博士 (理学)	6	4	9	7	12
論文博士 (理学)	0	0	1	0	0

H. 正規生 27名

入学時期	氏 名	所属講座	所 内 所 属 研 究 部 門 等
5年4月	鈴木 教郎	個 体	構造遺伝学研究センター 構造制御研究室
6年4月	浅野 敏	細 胞	細胞遺伝研究系門 微生物遺伝研究部門
	鶴飼 英樹	細 胞	遺伝実験生物保存研究センター 微生物保存研究室
	大浪 修一	細 胞	構造遺伝学研究センター 遺伝子回路研究室
	岡田 聖裕	個 体	個体遺伝研究系門 形態質遺伝研究部門
	藤原 学	個 体	構造遺伝学研究センター 構造制御研究室
	村上 勝彦	分 子	分子遺伝研究系門 分子遺伝研究部門
6年10月	竹丸 憲一	個 体	個体遺伝研究系門 形態質遺伝研究部門
7年4月	石島 淳子	細 胞	遺伝実験生物保存研究センター 哺乳動物保存研究室
	武内 昌哉	個 体	構造遺伝学研究センター 構造制御研究室
	亦勝 実穂	個 体	遺伝実験生物保存研究センター 無脊椎動物研究室
	田村 勝	個 体	遺伝実験生物保存研究センター 発 生 工 学 研 究 室
	濱田 玲	集 団	集 団 遺 伝 研 究 系 門 進 化 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
	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
	刘 庆 信	個体	個体遺伝研究系門 形質遺伝研究部
8年4月	相田 紀子	個体	個体遺伝研究系門 形質遺伝研究部
	石 黒 亮	分子	分子遺伝研究系門 分子遺伝研究部
	磯 部 拓	細胞	遺伝実験生物保存研究センター 哺乳動物保存研究室
	北 野 誉	集団	集団遺伝研究系門 進化遺伝研究部
	中馬 新一郎	個体	遺伝実験生物保存研究センター 発 生 工 学 研 究 室
	角 山 和 久	集団	生命情報研究センター 遺伝情報分析研究室
	野 上 正 弘	集団	集団遺伝研究系門 進化遺伝研究部
	浜 太 郎	個体	遺伝実験生物保存研究センター 発 生 工 学 研 究 室
	渡 辺 光 一	細胞	細胞遺伝研究系門 細胞遺伝研究部
8年10月	杵 洩 隆	分子	構造遺伝学研究センター 超分子機能研究室

I. 研究生

氏名	受入研究部門	受入期間
DOLGORMAA SODGEREL	人類遺伝研究部門	8.10. 1~9. 3.31

国立遺伝学研究所年報 第47号

平成9年3月25日 印刷

平成9年3月31日 発行

発行者 富澤純一

国立遺伝学研究所内

編集者 小川智子・山崎由紀子

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

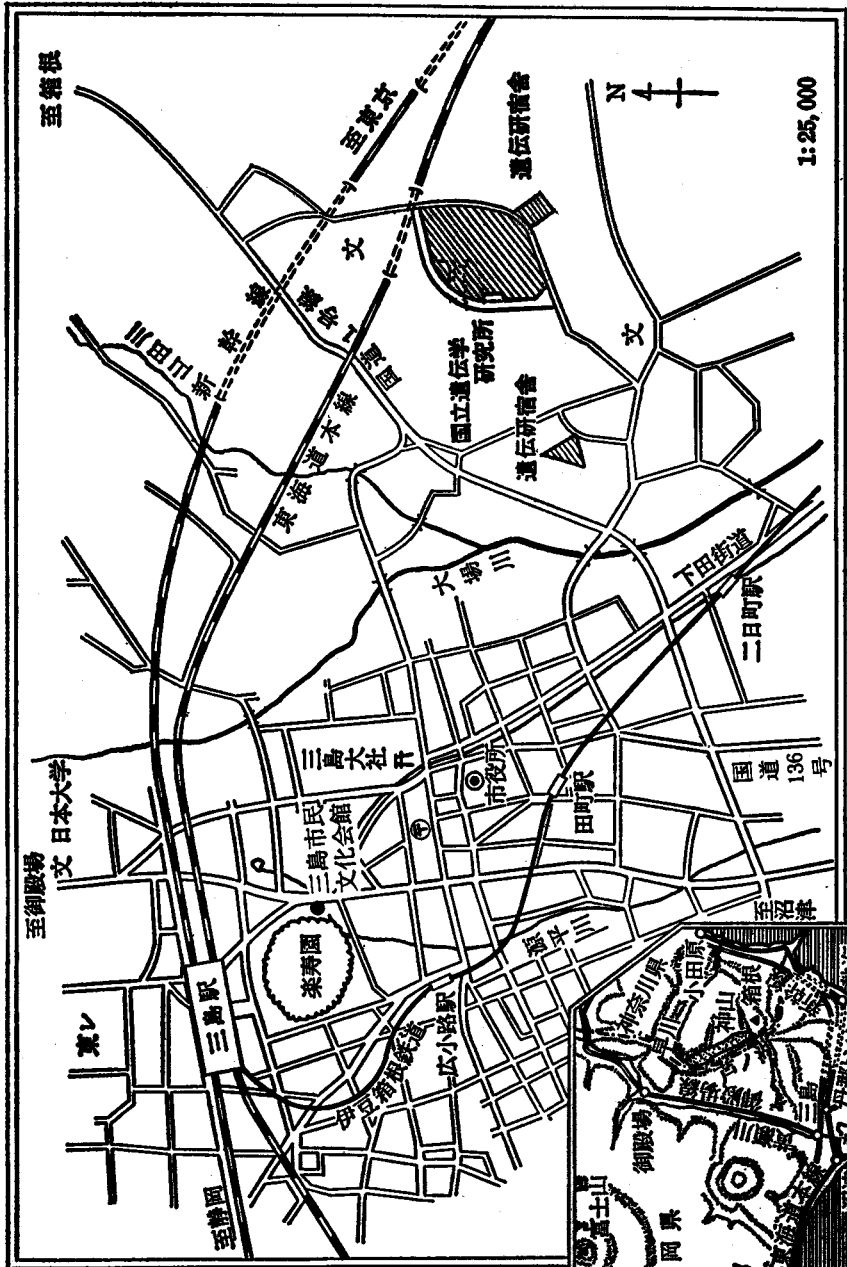
印刷所 株式会社 国際文献印刷社

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

